

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**ANTAGONISTAS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE
DE PODRIDÕES FÚNGICAS PÓS-COLHEITA DO MAMÃO**

JOÃO AUGUABERTO DE LIMA JÚNIOR

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

OUTUBRO - 2022

ANTAGONISTAS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE PODRIDÕES FÚNGICAS PÓS-COLHEITA DO MAMÃO

JOÃO AUGUABERTO DE LIMA JUNIOR

Agroecólogo

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2022

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientador: Dr. Sebastião de Oliveira e Silva

Coorientador: Prof. Dr. Carlos A. D. Bragança

Coorientador: Dr. Leandro de Souza Rocha

Coorientadora: Dr^a. Viviane Peixoto Borges

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

OUTUBRO – 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

L732a

Lima Júnior, João Aguaberto de.

Antagonistas e extratos vegetais no controle de podridões fúngicas pós-colheita do mamão / João Aguaberto de Lima Júnior. – Cruz das Almas, BA, 2022.
88f.; il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias.

Orientador: Dr. Sebastião de Oliveira e Silva.
Coorientador: Prof. Dr. Carlos A. D. Bragança.
Coorientador: Dr. Leandro de Souza Rocha.
Coorientadora: Dr^a. Viviane Peixoto Borges.

1.Mamão – Cultivo. 2.Mamão – Doenças e pragas – Controle. 3.Fitossanidade – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 634.1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**ANTAGONISTAS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE
PODRIDÕES FÚNGICAS PÓS-COLHEITA DO MAMÃO**

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
João Auguaberto de Lima Júnior

Realizada em 28 de Outubro de 2022

Dr. Sebastião de Oliveira e Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno (Orientador)



Prof. Drª. Ana Cristina Dantas
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Externo

Prof. Drª. Leilane Silveira Dávila
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Externo

Drª. Laurenice Araújo dos Santos
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Externo

Dr. Leonardo de Oliveira Barbosa
JCO Bioprodutos
Examinador Externo

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais João Auguaberto de Lima e Edna de Souza Lima por toda dedicação e apoio nos momentos difíceis, pela educação e conselhos ofertados, sempre com muito amor e atenção. A meus irmãos Mainê de Souza Lima e Diego Souza Lima pelo companheirismo e amizade de todas as horas. Aos meus familiares, que sempre demonstram carinho e atenção.

A Clínica Fitossanitária Prof. Edgar Santos Filho, pela enriquecedora experiência acadêmica e pessoal vivida em busca do desenvolvimento pessoal e coletivo. A toda equipe da Clínica Fitossanitária, técnicos, estagiários e professores/pesquisadores. Em especial a Caroline Yamamoto, Ílari Soraia Brandão, Thayná Barreto, Railda Santos e Julielton Santos da Silva pelo conhecimento passado, auxílio nos experimentos e amizade.

Agradeço aos meus orientadores Dr. Sebastião de oliveira e Silva, Prof. Dr. Carlos Bragança, Dr. Leandro de Souza Rocha e Dr^a. Viviane Peixoto Borges pelo conhecimento passado, paciência durante todo esse processo, confiança e incentivos para minha vida pessoal e profissional.

Aos meus amigos, eles que sempre se fazem presentes em diversos momentos da vida, em especial Daniel Invenção, Bruno Rodrigues, Alan Lennon, Aline Sales, Rodrigo França, Caroline Brandão, Jamili Vilas Boas, Larissa Bento, Marluce Santana, Walassy Rosa, Edelvan Barbosa, Fernando Machado e Luiz Carlos Fiuza. Vocês são muito especiais, e são parte importante nesse processo.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo aporte financeiro fundamental para o desenvolvimento do projeto.

À Universidade Federal do recôncavo da Bahia (UFRB) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias pelo espaço de ensino e pela possibilidade do aperfeiçoamento profissional.

Muito obrigado a todos!

Sumário

REFERENCIAL TEÓRICO.....	7
ARTIGO 1.....	28
UTILIZAÇÃO DE <i>Trichoderma</i> spp. E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DOS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS <i>Colletotrichum</i> spp. E <i>Lasiodiplodia theobromae</i>, ASSOCIADOS A DOENÇAS PÓS-COLHEITA DO MAMÃO.....	30
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS	33
RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
ARTIGO 2.....	54
MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS E EXTRATO DE ALAMANDA ROSA NO CONTROLE DA ANTRACNOSE DO MAMÃO	55
INTRODUÇÃO.....	57
MATERIAL E MÉTODOS	58
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
CONCLUSÕES.....	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ARTIGO 3.....	72
MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS E EXTRATO DE ALAMANDA NO CONTROLE DA INCIDÊNCIA NATURAL DA ANTRACNOSE E PODRIDÃO PEDUNCULAR DO MAMÃO	73
INTRODUÇÃO.....	75
MATERIAL E MÉTODOS	76
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
CONCLUSÕES.....	84
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
CONSIDERAÇÕES FINAIS	88

ANTAGONISTAS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE PODRIDÕES FÚNGICAS PÓS-COLHEITA DO MAMÃO

Autor: João Auguaberto de Lima Júnior
Orientador: Dr. Sebastião de Oliveira e Silva

RESUMO: A podridão peduncular e a antracnose são as doenças pós-colheita mais importantes em frutos de mamão, pois, suas lesões tornam os frutos impróprios para comercialização devido a depreciação do aspecto comercial e do apodrecimento da polpa. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho é avaliar a ação dos microrganismos antagonistas *Trichoderma* spp. e *Bacillus* sp. juntamente com extratos vegetais, no manejo da podridão peduncular e antracnose do mamão. Ensaio *In vitro* de confrontação direta para avaliar o antagonismo dos isolados de *Trichoderma* spp. e extratos vegetais de Aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius*), Alamanda rosa (*Allamanda blanchetti*) e erva-cidreira (*Lippia alba*) sobre os fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *Colletotrichum* sp., e ensaios *In vitro*, para avaliar a eficácia dos isolados *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8., extrato de Alamanda rosa a 10% e *Bacillus* sp. na inibição da ocorrência de lesões de antracnose e lesões naturais de podridão peduncular em frutos de mamão 'sunrise solo'. Foi verificado que todos os isolados de *Trichoderma* spp. e o extrato de Alamanda rosa inibiram significativamente o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae* *In vitro*. Os tratamentos *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp. e extrato de Alamanda rosa a 10% foram eficientes na redução da ocorrência de lesões de antracnose inoculadas ou naturais, com destaque para o extrato de Alamanda rosa a 10%, que inibiu o número de lesões de antracnose em 88,5%. Os tratamentos avaliados não demonstraram eficácia na redução do índice de podridão peduncular.

Palavras chave: Controle biológico, *Colletotrichum* sp., *Trichoderma* spp., *Bacillus* sp.

ANTAGONISTS AND PLANT EXTRACTS IN THE CONTROL OF POSTHARVEST PAPAYA FUNGAL ROTTS

Author: João Aguaberto de Lima Júnior

Adviser: Dr. Sebastião de Oliveira e Silva

ABSTRACT: Stem rot and anthracnose are the most important postharvest diseases in papaya fruits, since their lesions make the fruit unsuitable for commercialization due to the depreciation of the commercial aspect and the rotting of the pulp. In this context, the aim of this study is to evaluate the action of antagonistic microorganisms *Trichoderma* spp. and *Bacillus* sp. together with plant extracts, in the management of stalk rot and papaya anthracnose. In vitro direct confrontation assays to evaluate the antagonism of *Trichoderma* spp. and vegetable extracts of mastic red (*Schinus terebinthifolius*), pink allamanda (*Allamanda blanchetti*) and lemon balm (*Lippia alba*) on the fungi *Lasiodiplodia theobromae* and *Colletotrichum* sp., and In vitro assays, to evaluate the efficacy of the isolates *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8., Alamanda rose extract 10% and *Bacillus* sp. in inhibiting the occurrence of anthracnose lesions and natural lesions of stem rot in 'sunrise soil' papaya fruits. It was found that all *Trichoderma* spp. and pink allamanda extract significantly inhibited the mycelial growth of *Colletotrichum* sp. and *Lasiodiplodia theobromae* In vitro. *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp. and 10% Alamanda rosa extract were effective in reducing the occurrence of inoculated or natural anthracnose lesions, with emphasis on the 10% pink allamanda extract, which inhibited the number of anthracnose lesions by 88.5%. The evaluated treatments did not demonstrate effectiveness in reducing the stem rot index.

Keywords: Biological control, *Colletotrichum* sp., *Trichoderma* spp., *Bacillus* sp.
Trichoderma spp.

REFERENCIAL TEÓRICO

A cultura do mamoeiro

Com origem na América tropical, o mamoeiro (*Carica papaya* L.), é cultivado em mais de 40 países. O mamão, uma das frutas mais consumidas no mundo, teve uma produção mundial estimada em 13,8 milhões de toneladas em 2020 (FAO, 2022). O mamão ocupa 11º lugar na produção de frutíferas em escala mundial e 18º lugar em área colhida. A Ásia destaca-se com a maior produção, 56,2%, seguida pelas Américas em segundo lugar com 32%. A África é o terceiro maior produtor com 10,6% da produção mundial (FAO, 2022).

Entre os países, Índia, Brasil, Indonésia, República Dominicana e México aparecem como os principais produtores. O Brasil é responsável por 8,5% da produção mundial (1,1 milhões de toneladas), ficando em terceiro lugar entre os maiores produtores (FAO, 2022). Entre os estados, a Bahia e o Espírito Santo destacam-se, sendo responsáveis por 78% da produção Nacional (IBGE, 2021). A cultura do mamão está amplamente distribuída no mundo com áreas de produção localizadas na sua maioria em países tropicais e subtropicais. A exportação brasileira vem crescendo nos últimos anos, sendo impulsionada pela abertura do mercado americano, o que assegurou estabilidade e maior rentabilidade para a cultura (FARIA et al., 2009; BARBIERI et al., 2019).

Apesar da importância do mamão para a fruticultura brasileira, toda a produção nacional se concentra basicamente no cultivo de quatro cultivares, classificadas em dois grupos heteróticos, os grupos Solo e Formosa. As cultivares do grupo Solo, 'Golden' e 'Sunrise Solo', comercialmente conhecidas como mamão papaya ou Havaí, possuem frutos pequenos com peso médio de 0,5 kg, destinados ao mercado interno e, principalmente, ao mercado externo. Do grupo 'Formosa', os híbridos 'Tainung nº 01' (o mais cultivado no Brasil) e o 'Calimosa' são os mais plantados, sendo este grupo o que produz frutos de maior tamanho (>1,0 kg) e que são destinados, principalmente, ao mercado interno. O material do grupo Solo teve rápida aceitação pelos consumidores e, por apresentar características que se adaptam às exigências do mercado internacional, abriu novo e importante mercado externo para o Brasil, enquanto o do grupo Formosa (Tainung nº 1) por ser um híbrido comercial necessita da aquisição de sementes que são importadas (US\$ 3,5

mil a US\$ 4 mil por quilograma), o que eleva consideravelmente o custo de produção (DANTAS; OLIVEIRA, 2009; SERRANO: CATTANEO, 2010; LUZ et al., 2015).

Nutricionalmente, o mamão apresenta diversas características importantes, como uma boa fonte de cálcio e uma excelente fonte de betacaroteno, vitaminas A, C e do complexo B e fonte de sais minerais como potássio e magnésio. O mamoeiro também apresenta vários usos industriais, suas folhas e frutos são usados em indústrias farmacêuticas pois produzem diversas proteínas e alcalóides. Entretanto, uma enzima proteolítica chamada papaína, é particularmente importante (MARTINS, 2003).

A papaína é produzida no látex leitoso de frutos de mamão verde, essa substância pode ser associada com proteção contra ataque

es de predadores herbívoros, porém, comercialmente, a papaína apresenta diversos usos em indústrias de bebidas, alimentos e farmacêutica, e pode ser incluída na produção de gomas de mascar, amaciante de carnes, formulações de drogas para tratamento de inúmeras doenças digestivas e no tratamento de feridas gangrenosas. Outra utilização relatada para essa enzima é na indústria têxtil, sendo importante nos processos de gomagem e amolecimento de seda e lã e na indústria de cosméticos, em sabonetes e xampus (FARIA et al., 2009).

O mamão é um fruto climatérico, por isso, suas alterações resultantes do amadurecimento ocorrem rapidamente, logo após a colheita, desencadeadas pela produção do etileno e a elevação da taxa respiratória. Por esses fatores, o mamão é caracterizado como um fruto bastante perecível em pós-colheita. Devido a essa alta perecibilidade, o controle do amadurecimento é fundamental para aumentar o tempo de vida útil após a colheita, vislumbrando adequação ao mercado interno e exportação de frutas. Os principais fatores que depreciam a qualidade pós-colheita do mamão são o rápido amolecimento e a elevada incidência de podridões causadas por microrganismos (DANTAS et al., 2012).

Com relação aos problemas fitossanitários, muitas são as doenças que afetam a cultura, sendo consideradas as principais, as de origem virótica; o vírus da mancha anelar e o da meleira e as de origem fúngica; pinta preta ou varíola,

podridão-do-pé e antracnose. Segundo DANTAS et al. (2001), o melhoramento genético do mamoeiro realizado no Brasil tem como objeto desenvolver variedades e híbridos resistentes a doenças com características agronômicas desejáveis. No entanto, a utilização de manejos alternativos como o controle biológico e a utilização de extratos vegetais, pode ser uma estratégia viável para o controle de doenças do mamoeiro, principalmente as fúngicas.

Doenças de pós-colheita do mamão

Apesar da evidente importância da cultura do mamoeiro, as doenças ocasionadas por fungos tornam-se um dos principais fatores limitantes para expansão do cenário produtivo, afetando diretamente a planta e os frutos. Dentre elas, destacam-se a pinta preta ou varíola, mancha-de-corynespora, antracnose, mancha chocolate e podridão peduncular (KUHLCAMP et al., 2022). Hoje, as doenças fúngicas estão entre as que causam mais danos econômicos à cultura do mamão, pela depreciação do aspecto comercial da fruta e pelo aumento nos custos da produção, devido à exigência de muitas aplicações de fungicidas. O fruto manchado por doenças fúngicas não é comercializado no mercado externo ou no mercado interno mais exigente e, quando comercializado para o consumidor menos exigente, sofre grande desvalorização comercial (COSTA; PACOVA, 2003, KUHLCAMP et al., 2022).

O manuseio pós-colheita de frutos do mamão necessita de muitos cuidados além de extrema atenção aos detalhes, visto que, o mamão é suscetível a uma série de fatores que podem depreciá-lo comercialmente. Dentre esses, destacam-se flutuações de temperatura e umidade, pragas e doenças, e danos mecânicos. O controle das doenças pós-colheita deve ser iniciado ainda no campo, na fase de desenvolvimento dos frutos, para evitar a sua contaminação e posterior aparecimento de podridões. Na exportação do mamão brasileiro para fins quarentenários, o tratamento fitossanitário pós-colheita visa a limpeza dos frutos e o controle da antracnose e de outras doenças que ocorrem nesta fase. Esses procedimentos irão depender das exigências fitossanitárias impostas principalmente, pelos países importadores dessa fruta (BARBOSA, 2012).

Existe uma enorme importância na identificação precoce das doenças pós-colheita, pois são as principais causas de perdas da produção e qualidade dos

frutos.

As perdas pós-colheita, caracterizam uma situação que acompanha as frutas do campo até a mesa do consumidor, pois os processos biológicos vitais dos frutos continuam em funcionamento. A longevidade do fruto pós-colhido pode ser encurtada por patógenos e fatores abióticos que ocorrem na pré e pós-colheita, os quais dão início às perdas quantitativas e qualitativas (FOLEGATTI; MATSURA, 2002).

Devido a esses fatores, juntamente ao alto teor de água em sua composição química, as frutas se tornam altamente perecíveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Além dos fatores que reduzem a vida pós-colheita, o mamão apresenta padrão respiratório climatérico, sendo assim, sua maturação continua depois da colheita, o que proporciona uma pré-disposição a um grande número de doenças que se manifestam apenas na pós-colheita, apesar das infecções ocorrerem na pré-colheita (FONTES et al., 2008). Isso ocorre, pois após a colheita, os frutos passam por inúmeras transformações resultantes do seu metabolismo, que se refletem em diversas mudanças nas suas características, como, textura, cor, sabor e aroma, essas mudanças caracterizam o processo de amadurecimento e posterior senescência.

Ao longo desses processos, os frutos tornam-se mais suscetíveis a fitopatógenos, devido, principalmente, ao decréscimo de compostos fenólicos e ao aumento da predisposição às injúrias mecânicas, servindo como porta de entrada e disponibilizando substrato para o rápido desenvolvimento de microrganismos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Uma das principais doenças pós-colheita do mamão é a antracnose (*Colletotrichum* sp.). A antracnose, do grego “carvão” é uma doença limitante para os frutos de mamão, afetando a sua vida útil. A doença é causada principalmente por *Colletotrichum gloeosporioides*, porém é possível encontrar outras espécies de *Colletotrichum* que causam doenças nesse fruto. Por exemplo, em Yucatán, México, foram encontradas pelo menos duas espécies de *Colletotrichum*, o *C. gloeosporioides* e o *C. dematium* que causam antracnose no mamão (RAMOS, 2015).

O fungo *Colletotrichum* sp., agente causador da antracnose, é um dos patógenos mais importantes de frutos de mamão no período de pós-colheita, por causar perdas de até 90% de frutos em estações favoráveis à doença (TATAGIBA et

al, 2002). Sua infecção inicia-se ainda na floração, mas permanece latente até o amadurecimento e colheita do fruto, quando então coloniza os tecidos desenvolvendo os subseqüentes sintomas da doença, que geralmente aparecem durante o transporte e comercialização (SERRA et al., 2008). Vale ressaltar que as infecções no período pós-colheita se tornam mais fáceis devido à presença de inóculos do fungo no ambiente de armazenamento como também pela considerável quantidade de ferimentos provocados no fruto após a colheita (CAPDEVILLE et al., 2007).

O *Colletotrichum* sp. se caracteriza por ter estruturas reprodutivas ou esporos, também chamados conídios, dispostos em acérvulos, os quais participam no processo de infecção da planta. Durante a colonização, o fungo apresenta uma fase inicial biotrófica na qual se alimenta das células vivas e se estabelece na parte afetada da planta, e uma segunda fase, necrotrófica, na qual os recursos para a infecção são obtidos das células mortas da lesão e assim, são observados os primeiros sintomas da doença (RAMOS, 2015).

Outra doença pós-colheita de grande importância é a podridão peduncular, causada por um complexo de fungos, com destaque para *Lasiodiplodia theobromae*. Esse fungo, assim como o *Colletotrichum*, ocorre em quase todos os pomares de mamão no Brasil e pode provocar grandes perdas na pós-colheita (SILVA et al., 2007).

No campo, a penetração de *L. theobromae* nos frutos ocorre por meio do pedúnculo ou por ferimentos. Formam-se lesões escuras que são possíveis de serem observadas no pedúnculo, apresentando bordos bem definidos. Em seguida, os tecidos lesionados podem externar rachaduras, expondo a polpa da fruta. Quando os frutos se encontram em condições de temperatura e umidade elevadas, é possível observar na parte central das lesões, grande quantidade de minúsculas pontuações escuras, que são os conceptáculos esporíferos do fungo, os picnídios. Os mesmos sintomas podem ser observados em pós-colheita, em frutas armazenadas (CARDOSO et al., 2002).

As perdas ocasionadas pela podridão peduncular em pomares são, em primeiro lugar, a redução da produtividade dos mamoeiros e, em uma fase posterior, a diminuição da longevidade produtiva do pomar e ainda, por causar perdas expressivas de frutas na pós-colheita (JUNQUEIRA et al., 1996). O controle da doença é dificultado em razão da variada gama de hospedeiros do fungo. O controle

químico não tem demonstrado eficiência, sendo então indicada a utilização de uma série de medidas adicionais de controle (TAVARES, 1995, PEREIRA et al., 2006).

O manejo dessas doenças em pós-colheita começa no campo, onde a infecção nos frutos geralmente ocorre após a floração, como resultado da penetração do patógeno diretamente via epiderme, pela cutícula intacta, ou por aberturas naturais e injúrias ou ainda por danos mecânicos causados durante a colheita, transporte e armazenamento (ZAMBOLIM et al., 2002).

Estima-se que cerca de 20 a 25% das frutas colhidas são degradadas por patógenos durante a manipulação pós-colheita (EI-GHAOUTH et al., 2004; DROBY, 2006; ZHU, 2006; SINGH; SHARMA, 2007). Nos países em desenvolvimento, as perdas pós-colheita são mais graves, devido a instalações inadequadas de armazenamento e transporte. Os fungicidas sintéticos são largamente utilizados para o controle de doenças pós-colheita de frutas (EI-GHAOUTH et al., 2004; KORSTEN, 2006; ZHU, 2006; SINGH; SHARMA, 2007;). No entanto, cada vez mais os consumidores estão buscando alimentos livres de resíduos de agrotóxicos, o que leva a necessidade de se investigar alternativas mais seguras e ecológicas para diminuir as perdas pós-colheita, o que reduziria o uso de fungicidas na produção de frutas (MARI et al., 2007). Entre diferentes abordagens biológicas, o uso dos antagonistas microbianos como leveduras, fungos e bactérias são bastante promissoras e vem ganhando popularidade (ECKERT; OGAWA, 1988; DROBY et al., 1991; WILSON, 1992; WISNIEWSKI; DROBY, 2006; KORSTEN, 2006), assim como a utilização de extratos vegetais, que também vem sendo estudados (BASTOS et al., 2004, NASCIMENTO et al., 2008).

Controle biológico de doenças de plantas

Controle biológico pode ser definido como a redução da soma de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por meio de um ou mais organismos que não o homem. Enfatiza-se o controle biológico por meio de antagonistas, que são microrganismos não-patogênicos, que interferem na sobrevivência ou em atividades determinantes para ocorrer doenças (COOK; BAKER, 1983).

A utilização de agentes biocontroladores é uma realidade, e cada vez mais

desempenha um importante papel no cenário agrícola mundial, em vários casos, são utilizados como complemento ou até mesmo substitutos dos produtos químicos (TEMPLETON; HEINY, 1989; WHIPPS et al., 2001; RUFINO et al., 2018). Os agentes microbianos com potencial para biocontrole de doenças são organismos que estão presentes no ambiente e que, geralmente, são muito mais seletivos e específicos que os pesticidas químicos (MENEZES, 2010).

Grande parte das formulações para controle biológico comercializada no Brasil tem como ingrediente ativo as bactérias. A maior facilidade de produção massal, aspectos referentes ao modo de ação e a estabilidade de formulações bacterianas, são alguns pontos que despertaram tal interesse a partir da década de 1950, principalmente com relação às bactérias entomopatogênicas (SCHNEPF et al., 1998; GLARE; O'CALLAGHAN, 2000). MORAND; BETTIOL (2009) relatam que dentre os microrganismos com potencial para o desenvolvimento de bioprodutos para o controle biológico de doenças de plantas, a bactéria *Bacillus subtilis* e espécies do fungo *Trichoderma* são os mais utilizados. Como as bactérias crescem rapidamente, utilizam diversas fontes de nutrientes e sobrevivem em ampla faixa de temperatura, espera-se que sejam bons agentes de biocontrole em nível de campo (COOK; BAKER, 1983). LUMSDEN; LOCKE (1989), mencionam que o primeiro passo para alcançar o biocontrole eficaz é encontrar os potenciais agentes de biocontrole e para isso é necessário uma série de estudos.

5.5. *Bacillus* spp. no controle biológico de doenças de plantas

Diversas espécies de bactérias possuem habilidades para parasitar e degradar esporos e hifas de fungos patogênicos (WHIPPS, 2001). De modo geral, fungos filamentosos apresentam parede celular composta especialmente de quitina, agregada a proteínas e outros carboidratos (COHEN-KUPIEC; CHET, 1998). Por outro lado, os *Bacillus* spp produzem quitinases, que são importantes na digestão da quitina, para utilizá-la como fonte de carbono e energia (WANG; CHANG, 1997). Esse parasitismo induz a inibição do crescimento fúngico e pode compreender desde a simples aderência de células às hifas, até proporcionar uma completa quebra e degradação estrutural dos fungos (WHIPPS, 2001).

Espécies de bactérias do gênero *Bacillus* spp. se destacam como agentes de

biocontrole de doenças de plantas, por produzirem uma série de antibióticos e várias outras substâncias antimicrobianas (EDWARDS; SEDDON 2001). Isolados de *Bacillus* podem produzir variados metabólitos antifúngicos, dentre eles, podem ser encontrados lipopeptídeos da família das surfactinas, iturina e fengicina. (MAGET-DANA et al., 1992; ONGENA et al., 2005). Apesar de estruturalmente parecidas, surfactinas, iturinas e fengicinas apresentam diferenças em determinados características biológicas em relação à sua atividade. Iturinas e fengicinas exibem uma grande atividade antifúngica e são inibitórias do crescimento micelial de uma vasta gama de fitopatógenos fúngicos. Já as surfactinas, não são apenas fungitóxicas, mas quando associada com a iturina A exercem algum efeito sinérgico antifúngico (MAGET-DANA et al., 1992). Estudos revelam que *B. subtilis* além de produzir esses metabólitos, são capazes de produzir substâncias voláteis com atividade antifúngica (KAI et al., 2007).

Bacillus spp. destaca-se em relação a outros potenciais agentes de biocontrole devido a sua capacidade de formar esporos, os quais apresentam tolerância tanto a temperaturas mais elevadas, quanto a temperaturas mais baixas, bem como às condições extremas de pH, aos pesticidas e ao tempo de estocagem. Essas vantagens permitem a utilização desse microrganismo na formulação de produtos mais estáveis e viáveis (BACKMAN et al., 1997). Espécies do gênero *Bacillus* destacam-se também pelo rápido crescimento em meio líquido e ausência de patogenicidade para a maioria das espécies de mamíferos (SHODA, 2000). Atualmente, já é possível encontrar diversas linhagens comerciais de *Bacillus* para o biocontrole de fitopatógenos. Essas bactérias biocontroladoras podem ser aplicadas como produtos secos (granulados ou pó), suspensão de células (com ou sem microencapsulamento) ou tratamento de sementes. Como exemplo de produtos comercializados a base de espécies de *Bacillus* é possível citar: Kodiak® (*Bacillus subtilis*), YieldShield® (*Bacillus pumilus*), Subtilex® (*Bacillus subtilis* MBI 600) e Serenade® (*Bacillus subtilis* QST 713) (SCHISLER et al., 2004).

Espécies de *Bacillus* já foram usadas como agentes biocontroladores de diversos patógenos como *Hemileia vastatrix* (HADDAD et al., 2009), *Uromyces appendiculatus* (BAKER et al., 1983; MIZUBUTI et al., 1995), *Puccinia pelargonii-zonales* (RYTTER et al., 1989), *Cercospora soja* (TONELLI et al., 2014) *Gloeosporium gloeosporioides* (CHO et al., 2003), *Rhizoctonia solani* (YU et al., 2002), *Fusarium verticillioides* (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2016), *Fusarium*

oxysporum (SOTOYAMA et al., 2016). Em experimentos realizados por HADDAD et al. (2013) foram avaliados a utilização de extratos de metabólitos produzidos em meio de cultura e o caldo fermentado de *Bacillus thuringiensis* que reduziram a severidade da ferrugem do cafeeiro em praticamente 100%. SANHUEZA et al. (1992) obtiveram uma redução de até 80% de *Penicillium expansum* responsável pelas maiores perdas pós-colheita em maçãs quando armazenadas em câmara fria, com o uso de *B. subtilis* e *B. thuringiensis*, resultado esse superior ao controle químico.

5.6. *Trichoderma* spp.

O gênero *Trichoderma* (Teleomorfo *Hypocrea*) pertence ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Ascomycetes, Ordem Hypocreales, Família Hypocreaceae (INDEX FUNGORUM, 2017). São fungos de vida livre, com a maioria de suas estirpes sem fase sexual conhecida. Classificados como fungos imperfeitos (HARMAN et al., 2004), são facilmente reconhecidos por meio de suas características macroscópicas, que incluem crescimento rápido em meio de cultura, com micélio aéreo, hialino, volumoso e ramificado, e produção de conídios em tons esverdeados. Microscopicamente apresentam conidióforos com ramos emparelhados em forma de pirâmide, produzem conídios com tamanho de 5 µm de diâmetro, podendo apresentar forma globosa, subglobosa, elipsoidal ou oblonga (SAMUELS, 1996; CARRERAS-VILLASEÑOR et al., 2012). Espécies de *Trichoderma* conseguem sobreviver em distintas zonas climáticas, apresentam ainda grande capacidade de adaptar-se a diferentes condições de umidade e salinidade, que garante assim sua alta dispersão geográfica por todo o planeta. Esses fungos são largamente distribuídos na natureza, sendo encontrados em diferentes tipos de solo devido à sua grande capacidade metabólica e a sua natureza competitiva (OMANN; ZEILINGER, 2010; DRUZHININA et al., 2011).

Espécies do gênero *Trichoderma* apresentam grande capacidade como agentes de biocontrole de patógenos vegetais, sendo essa capacidade conhecida desde meados dos anos 1920. Até recentemente, os principais mecanismos de controle utilizados por espécies de *Trichoderma* relatados eram, principalmente, aqueles que agem diretamente sobre os patógenos, como micoparasitismo, antibiose e competição por recursos e espaço. Estudos posteriores demonstraram

que além dos efeitos diretos sobre os patógenos, *Trichoderma* também pode induzir resistência sistêmica ou localizada (HARMAN, 2006). A determinação desses efeitos depende de muitas interações que ocorrem entre *Trichoderma* spp., a planta e outros microrganismos (ASKEW; LAING, 1993; PORRAS et al., 2007). Esses vários mecanismos podem ser usados simultaneamente pelo antagonista para potencializar o combate contra determinado patógeno durante o biocontrole (BENÍTEZ et al., 2004; DRUZHININA et al. 2011). Além disso, foi demonstrado que cada espécie de *Trichoderma* possui o seu próprio modo de ação para interagir com fitopatógenos (ATANASOVA et al., 2013).

O micoparasitismo é a capacidade que algumas espécies de *Trichoderma* têm de parasitar e/ou matar outros fungos, característica esta que despertou em muitos pesquisadores o interesse por esse gênero fúngico (MUKHERJEE et al., 2012). A ação de expressão sequencial de enzimas degradadoras de parede celular, sendo as mais comuns quitinases, glucanases e proteases, são fundamentais para o sucesso do micoparasitismo de *Trichoderma* spp. a patógenos (HARMAN et al., 2004).

O padrão de indução ao micoparasitismo é diferente de acordo com o isolado de *Trichoderma* (BENÍTEZ et al., 2004). Mas, acredita-se que de forma geral, primeiramente o *Trichoderma* identifique sinais da presença do fungo hospedeiro, cresça em direção à hifa, enrola-se e forma estruturas denominadas apressórios, que penetram na parede celular do hospedeiro, favorecendo a entrada e posterior crescimento da hifa do *Trichoderma* (BENHAMOU, 1993). É assim, um processo sequencial, que envolve reconhecimento, contato, adesão, competição por nutrientes, expressão de genes específicos e secreção de metabólitos antifúngicos (BENÍTEZ et al., 2004). O micoparasitismo é considerado uma das principais características do gênero *Trichoderma*, no entanto, algumas espécies como *T. harzianum*, *T. virens*, *T. atroviride* e *T. asperellum* são as mais estudadas para este fim (ATANASOVA et al., 2013).

O sucesso de uma cepa de *Trichoderma* depende de certo número de propriedades, tais como, atividade micoparasítica, rápida taxa de crescimento, capacidade de utilizar diferentes substratos, produção de enzimas hidrolíticas extracelulares e metabólitos secundários de baixo peso molecular e antimicrobianos, que são capazes de inibir o crescimento do fitopatógeno alvo, podendo ser voláteis ou não voláteis (CARVALHO et al., 2014). Além disso, a capacidade de aumentar as

defesas da planta e a capacidade para melhorar os fatores de crescimento e produtividade são características importantes para a seleção de um isolado de microrganismo para uso agrícola. Para aperfeiçoar a exploração de novos isolados benéficos e reforçar a sua aplicação prática é imprescindível aumentar os conhecimentos sobre os mecanismos envolvidos na interação entre *Trichoderma*, planta hospedeira e fitopatógenos (MARTÍNEZ et al., 2014).

LUCON et al. (2009), reduziram a incidência de tombamentos em plântulas de pepino, provocado por *Rhizoctonia solani*, em 85%, com o uso do *T. harzianum*. CARVALHO et al. (2009), em ensaios de campo, observaram que a utilização de *T. harzianum* 1306, no plantio das sementes de feijão, provocou redução da incidência de *Fusarium solani* em 67% e de *R. solani* em 85%.

Diversos autores vêm relatando a eficiência da utilização de *Trichoderma* spp. no controle de doenças de pós-colheita. VALENZUELA et al. (2015), em testes utilizando diferentes espécies de *Trichoderma* no tratamento de mamões contra a antracnose, observaram uma redução significativa na severidade da doença. Já MORTUZA et al. (1999), reduziram em até 65% a podridão causada por *L. theobromae* em bananas tratadas com isolados de *Trichoderma* quatro horas antes da inoculação do fungo patogênico.

5.7. Extratos vegetais no controle de doenças de plantas

A busca por novos compostos antimicrobianos oriundos de plantas é intensa devido ao aumento da resistência dos microrganismos patogênicos aos produtos sintéticos. Estudos desenvolvidos com extratos brutos, obtidos a partir de plantas, vem demonstrando um grande potencial no controle de fitopatógenos (CUNICO et al., 2003). As plantas possuem compostos secundários, que geralmente não são vitais a si mesmas, mas possuem função de proteção contra insetos-pragas e doenças, além de atraírem polinizadores, esses compostos tanto podem ter ação fungitóxica, antimicrobiana direta, como eliciadora, ativando mecanismos de defesa nas plantas, ou seja, ação antimicrobiana indireta (STANGARLIN et al., 1999).

A utilização de extratos de plantas no controle de fungos fitopatogênicos vem obtendo sucesso, devido aos compostos antifúngicos apresentados pela maioria dos extratos de plantas (SILVA et al., 2008). Estudos desenvolvidos com extrato bruto obtidos de plantas da flora brasileira veem demonstrando potencial no controle de

fitopatógenos, por ação fungitóxica, que é quando o extrato inibe o crescimento micelial e a germinação de esporos (SCHWAN-ESTRADA, 2009).

Na literatura existem vários estudos com resultados positivos com utilização dos extratos vegetais. Dentre eles estão àqueles realizados por Rodrigues et al. (2007), que avaliou o controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em alface, utilizando extrato bruto aquoso de gengibre, por Kuhn et al. (2006), que estudou o efeito de *Curcuma longa* sobre *Xanthomonas* sp. em mandioca.

Neste sentido, o uso de extratos e óleos vegetais como manejo de doenças de plantas vem ganhando notoriedade (MELLO et al., 2019). No caso específico da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), os compostos obtidos a partir da extração são provenientes do metabolismo secundário da planta e os taninos encontrados neles estão envolvidos em processos de cicatrização por sua ação adstringente, podendo-se também mencionar efeitos antibacterianos e antifúngicos (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2013; MELLO et al., 2019).

Peixinho et al. (2017) avaliaram a eficiência da utilização de extratos de aroeira, angico, umburana e quebra-faca no controle de *L. theobromae* em uvas, cujos os resultados mostraram que os extratos nas concentrações de 30%, inibiram o crescimento micelial *In vitro* em até 61,66%. Já Lima Júnior et al. (2017), inibiram em 65% o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. utilizando extrato de sementes de aroeira vermelha 30 %.

A erva-cidreira (*Lippia alba*) é uma planta bem difundida na medicina popular, utilizada no tratamento de doenças pulmonares, febre, problemas digestivos, hepáticos e diarreias (PASCUAL et al., 2001). Porém, diferentes aplicações estão relacionadas à erva-cidreira, incluindo as atividades antiprotzoário e antimicrobiana, sendo promissora não apenas para as indústrias farmacêuticas, como também para indústria agrícola, devido aos avanços na utilização de plantas com propriedades antifúngicas, inseticidas e repelentes para fabricação de químicos naturais (YAMAMOTO et al., 2008).

Neste cenário, diversos estudos estão sendo realizados para explorar as características antifúngicas da erva-cidreira. Mota et al. (2002) obtiveram resultados significativos no controle de *Lasiodiplodia theobromae* utilizando extrato de erva-cidreira, o efeito inibidor do extrato aumentou à medida que se elevou a dose do produto, demonstrando a ação fungitóxica do extrato. Ferreira et al. (2014) inibiram significativamente o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*

utilizando extrato aquoso de erva-cidreira nas concentrações 4%, 6% e 8%.

A alamanda rosa (*Allamanda blanchetti*) é uma planta nativa do cerrado brasileiro, que tem sua distribuição, encontrada principalmente na caatinga e no cerrado (SANTOS et al., 2021). Em experimentos realizados por Demartelaere et al. (2015), o extrato de alamanda rosa foi responsável por reduzir a severidade da antracnose causada por *Colletotrichum* sp. em frutos de mamão. Barros et al. (2015), verificaram que o extrato de alamanda rosa induziu um aumento na atividade da peroxidase 24h após a aplicação do tratamento e promoveu a inibição da germinação de esporos de *Alternaria brassicicola*. Esses resultados sugerem o potencial de alamanda rosa no controle de doenças de plantas tanto pela ação direta quanto pela ativação de mecanismos de defesa.

A presente revisão evidencia o potencial antagonista de espécies de *Bacillus* e *Trichoderma* spp., além da ação fungitóxica e/ou fungistática de extratos vegetais, que podem ser utilizados isolados ou em conjunto, na tentativa de controlar doenças fúngicas do mamoeiro.

REFERÊNCIAS

ASKEW, D. J.; LAING, M. D. An adapted selective medium for the quantitative isolation of *Trichoderma* species. **Plant Pathology**, v. 42, n. 5, p. 686-690, 1993.

ATANASOVA, L. L. E.; CROM, S.; GRUBER, S.; COULPIER, F.; SEIDL-SEIBOTH, V.; KUBICEK, C. P. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. **BMC Genomics**, v. 14, p.121, 2013.

BACKMAN, P. A.; WILSON, M.; MURPHY, J. F. Bacteria for biological control of plant diseases. In: **Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control**, Boca Rota: CRC Press, p. 95-109, 1997.

BARBOSA, J. Q. **Conservação pós-colheita de mamão ‘Sunrise Solo’ com uso de quitosana**. 48f. Dissertação (Mestre em Agronomia) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco-AC. 2012.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia brasileira**, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.

BARBIERI, M. G., DE OLIVEIRA ADAMI, A. C., BOTEON, M., & DA SILVA MARCOMINI, L. R. Análise do desempenho das exportações brasileiras de mamão. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 8, p. 12010-12032, 2019.

BARROS, J. D. S. G., GOMES, E. C. D. S., CAVALCANTI, L. S. Efeito de extratos de *Allamanda blanchetti* no controle de *Alternaria brassicicola* em mudas de couve-manteiga. **Revista Caatinga**, v. 28, p. 36-46, 2015.

BAKER, C. J.; STAVELY, J. R.; THOMAS, C. A.; SASSER, M.; MACFALL, J. S. E. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean-leaves. **Phytopathology**. p. 1148-1152, 1983.

BENHAMOU, N.; CHET, I. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. **Phytopathology**, v. 83, n. 10, p. 1062-1071, 1993.

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

CAPDEVILLE, G.; SOUZA, M. T.; SANTOS, J. R. P.; MIRANDA, S., CAETANO, A. R.; TORRES, F. A. G. Selection and testing of epiphytic yeasts to control antracnose in post-harvest of papaya fruit. **Scientia horticultrae**, v.111, n.2, p.179-185, 2007.

CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O.; MELO, Q. M. S. Identificação e manejo das principais doenças. Caju-Fitossanidade. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 41-51, 2002.

CARRERAS-VILLASEÑOR, N.; SÁNCHEZ-ARREGUÍN, J. A.; HERRERA-ESTRELLA, A. H. *Trichoderma*: sensing the environment for survival and dispersal. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 3-16, 2012.

CARVALHO, D. D. C.; MARTINS, I.; LOBO JÚNIOR, M.; MELLO, S. C. M. Isolados de *Trichoderma* sp. promotores de crescimento do feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**. Suplemento, Brasília, v.34, 2009.

CHITARRA, M.; CHITARRA, A. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: Fisiologia e manuseio. Lavras: UFLA. 785 p. Área temática: Engenharia e Tecnologia de Alimentos EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, ISSN, 9207, 2005.

COHEN-KUPIEC, R.; CHET, I. The molecular biology of chitin digestion. **Current opinion in biotechnology**, v. 9, n. 3, p. 270-277, 1998.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. **American Phytopathological Society**, v.1 p.120-170, 1983.

COSTA, A. F. S.; PACOVA, B. E. V. Caracterização de cultivares, estratégias e perspectivas do melhoramento genético do mamoeiro. In: Martins, D. S., Costa, A. F. S. **A cultura do mamão: tecnologia e produção**. Vitória-ES: INCAPER, cap. 3, p. 59-102. 2003.

CUNICO, M.M. et al. Estudo da atividade antifúngica de *Ottonia martiana* Miq. Piperaceae: um teste *In vitro*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 77-82, 2003.

DANTAS, J. L. L.; LIMA, J. D. Seleção e recomendação de variedades de mamoeiro-avaliação de linhagens e híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.3, 617-621, 2001.

DANTAS, J. L. L.; OLIVEIRA, E. J. O melhoramento genético do mamoeiro: avanços, desafios e perspectivas. **I Simpósio Nordestino de Genética e Melhoramento de Plantas**, 151-180, 2009.

DANTAS, J. L. L.; SOUZA, J. S.; PINTO, R. M. S.; LIMA, J. F. Variabilidade genética e melhoramento do mamoeiro. In: **Recursos genéticos e Melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro**. 2012.

DEMARTELAERE, A. C. F. et al. Extratos vegetais no controle da antracnose e na conservação da qualidade em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. a00101s1, p. 1041-1048, 2015.

DROBY, S. Improving quality and safety of fresh fruit and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials. **Acta Horticulturae** v.709, p.45–51. 2006.

DROBY, S., CHALUTZ, E., WILSON, C.L. Antagonistic microorganisms as biocontrol agents of postharvest diseases of fruit and vegetables. **Postharvest News Information** v.2,p.169–173. 1991.

DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 749-759, 2011.

ECKERT, J.W., OGAWA, J.M. The chemical control of postharvest diseases: deciduous fruits, berries, vegetables and root/tuber crops. **Annual Review of Phytopathology** v.26, p,433–469. 1988.

EDWARDS, S. G.; SEDDON, B. Mode of antagonism of *Brevibacillus brevis* against *Botrytis cinerea* *In vitro*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 652-659, 2001.

EL-GHAOUTH, A.; WILSON, C.L.; WISNIEWSKI, M.E. Biologically based alternatives to synthetic fungicides for the postharvest diseases of fruit and vegetables. In: Naqvi, S.A.M.H. (Ed.), *Diseases of Fruit and Vegetables*, . **Kluwer Academic Publishers, the Netherlands**, v.2p. 511–535, 2004.

FAOSTAT. Papayas: U.S. **import-eligible countries; world production and exports**. 2022 Recuperado em 12 de Outubro de 2022, de <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> .

FARIA, A. R. N.; NORONHA, A. D. S.; OLIVEIRA, A. A.; OLIVEIRA, A. M. G.; CARDOSO, C. E. L.; RITZINGER, C. H. S. P.; DE OLIVEIRA, J. R. P. **A cultura do mamão**. Área de Informação da Sede-Colec Criar, Plantar, ABC, 500P/500R. 2009.

FERREIRA, E. F.; SÃO JOSÉ, A. R.; BOMFIM, M. P.; PORTO, J. S.; JESUS, J. S. D. Uso de extratos vegetais no controle *In vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides* penz. Coletado em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.???p. 346-352, 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, p.1039- 1042, 2011.

FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUURA, F. C. A. U. Mamão: pós-colheita. Cruz das Almas, BA, Embrapa Mandioca Fruticultura; Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**. 59p. 2002.

FONTES, R. V.; SANTOS, M. P.; FALQUETO, A. R.; SILVA, D. M. Atividade da pectinametilsterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise Solo e Tainung. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v. 30, n.1, 54-58, 2008.

FREIRE, F.; VIANA, F. M. P.; CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. A. Novos hospedeiros do fungo *Lasiodiplodia theobromae* no Estado do Ceará. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**. 2004.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis*. **Biology, Ecology and Safety**, p. 423, 2000.

HADDAD, F.; SARAIVA, R. M.; MIZUBUTI, E. S.; ROMEIRO, R. S.; MAFFIA, L. A. Antifungal compounds as a mechanism to control *Hemileia vastatrix* by antagonistic bacteria. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 5, p. 398-405, 2013.

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

IBGE. **Produção Agrícola Municipal**. (2021). Recuperado 14 de Outubro de 2022, de <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/calendario.php#1>.

INDEX FUNGORUM, 2016. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp>> Acesso em 20 de maio de 2017.

JUNQUEIRA, N. T. V.; CUNHA, M. M.; OLIVEIRA, M. A. S.; PINTO, A. C. Q. Graviola para exportação: Aspectos fitossanitários. Brasília. **EMBRAPA-SPI**, p.67, 1996.

KORSTEN, L. Advances in control of postharvest diseases in tropical fresh produce. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, v.1. n.1, p.48–61, 2006.

KAI, M.; EFFMERT, U.; BERG, G.; PIECHULLA, B. Volatiles of bacterial antagonists inhibit mycelial growth of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*. **Archives of Microbiology**, v.187, p.351–360, 2007.

KUHN, O.J.; PORTZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; DEL ÁGUILA, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. *Semana: Ciências Agrárias*, Londrina, v.27, n.1, p.13-20, 2006.

LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L. **Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro**. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. DO; MONTERIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Ed.). *Controle de doenças de plantas: fruteiras*. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, v.2, p.1023-1138, 2002.

LIMA JUNIOR, J. A.; RAMOS, J.; MARTINS, C.; CARMO, I.; BRAGANÇA, C. Uso de extratos vegetais no controle In vitro de *Colletotrichum* sp. associado à antracnose da mandioca. **Cadernos Macambira**, v. 2, p.53-59, 2017.

LUCON, C. M. M.; KOIKE, C. M.; ISHIKAWA, A. I.; PATRÍCIO, F. R. A.; HARAKAVA, R. Bioprospecção de isolados de *Trichoderma* spp. para o controle de *Rhizoctonia solani* na produção de mudas de pepino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p.225-232, 2009.

LUMSDEN, R. D.; LOCKE, J. C. Biological control of damping-off caused by *Phytophthora ultimum* and *Rhizoctonia solani* in soilless mix. **Phytopathology**, v.79, p.361-366, 1989.

MAGET-DANA, R.; THIMON, L.; PEYPOUX, F.; PTAK, M. Surfactin/Iturin A

interactions may explain the synergistic effect of surfactin on the biological properties of iturin A. **Biochimie**, v. 74, p.1047–1051, 1992.

MARI, M., NERI, F., BERTOLINI, P. Novel Approaches to Prevent and Control Postharvest Diseases of Fruit. *Stewart Postharvest Review*, 3(6): Article 4. **Stewart Postharvest Solutions Ltd.**, London, UK, 2007.

MARTINS, D. D. S.; COSTA, A. D. A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória: **Incaper**, 497, 2003.

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ALGUACIL, M. D. M.; PASCUAL, J. A.; VAN WEES, S. C. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. **Journal of chemical ecology**, v. 40, n. 7, p. 804-815, 2014.

MENEZES, J. P.; JUNGES, E.; BLUME, E.; PEREIRA, M. E. Toxicologia do biopreparado a base de *Trichoderma* sp. (isolado UFSM T17) administrado em mamífero. **Revista da FZVA**, v. 17, n. 1, p.??? 2010.

MENTEN, J. O. M.; MINUSSI, C. C.; CASTRO, C.; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. “*In vitro*”. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.

MELLO, A. P. O. A.; ZACHARIAS, M. B. Marina Barros. Efeito de extrato vegetal no crescimento de *Colletotrichum acutatum* do morangueiro. **Revista Ciência, Tecnologia & Ambiente**, v. 9, n. 1, p. 20-32, 2019.

SANTOS, D., COSTA, S. L., COSTA, F. C. P. New record of *Allamanda blanchetti* Kunth (Apocynaceae) for the Brazilian Atlantic Forest. **Acta Brasiliensis**, v. 5, n. 3, p. 112-115, 2021.

MIZUBUTI, E. S. G.; MAFFIA, L. A.; MUCHOVEJ, J. J.; ROMEIRO, R. S.; BATISTA, U. G. Selection of isolates of *Bacillus subtilis* with potential for the control of dry bean rust. **Fitopatologia Brasileira**, p. 540-544, 1995.

MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna-SP: **Embrapa Meio Ambiente**, p. 7-14, 2009.

MORTUZA, M. GOLAM, I. L. A. G.; LINA L. Potential for biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in banana fruits by *Trichoderma* species. **Biological Control**, v. 15, n. 3, p. 235-240, 1999.

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**, v. 30, n. 3, p. 313-319, 2008.

OMANN, M; ZEILINGER, S. How a Mycoparasite Employs G-Protein Signaling: Using the Example of *Trichoderma*. **Journal of Signal Transduction**, v. 2, n. 10, p. 135, 2010.

PEIXINHO, G. D. S., SANTOS, C. M. G., RIBEIRO, V. G., AMORIM, E. P. D. R., CARVALHO, V. N., BISPO, J. D. S. Extracts of Brazilian peppertree, angico, amburana and “quebra-faca” on *Lasiodiplodia theobromae* control in bunches of grape cv. Itália. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 2, p. 158-160, 2017.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.6, p.572-578, 2006.

PORRAS, M.; BARRAU, C.; ARROYO, F.T.; SANTOS, B.; BLANCO, C.; ROMERO, F. Reduction of *Phytophthora cactorum* in strawberry fields by *Trichoderma* spp. and soil solarization. **Plant Disease**, v. 91, p. 142-146, 2007.

RAMOS, I. A. Q. **A Antracnose, uma doença limitante para a produção de mamão** 2015. Disponível em: <http://www.croplifela.org/pt/protecao-de-cultivos/a-praga-do-mes-pt/antracnose-uma-doenca-limitante-para-a-producao-de-mamao.html>. Acessado em 15/06/2017.

RODRIGUES, E.; SCHWAN- ESTRADA, K.R.F.; FIORI- TUTIDA, A.C.G.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33n.2p.124-128, 2007.

RYTTER, J. L.; LUKEZIC, F. L.; CRAIG, R.; MOOMAN, G. W. Biological control of geranium rust by *Bacillus subtilis*. **Phytopathology**, v. 79, n. 3, p. 367-370, 1989.

RUFINO, C. P. B., DE ARAÚJO, C. S., & NOGUEIRA, S. R. Desafios na utilização do controle biológico de doenças de plantas na amazônia. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 5, n. 1, 2018.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. **Mycological research**, v. 100, n. 8, p. 923-935, 1996.

SANHUEZA, R. M. V., KRETZCHMAR, A. A. BORSÓI, M. Avaliação de organismos antagônicos a *Penicillium expansum* em maçãs cv. Fuji em pós colheita. **Fitopatologia brasileira** v.U7, n.4, p. 423- 429. Dezembro 1992.

SCHISLER, D. A.; SLININGER, P. J.; BEHLE, R. W.; JACKSON, M. A. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. **Phytopathology**, v. 94, n. 11, p. 1267-1271, 2004.

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.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; EIGLER, D. R.; DEAN, D. H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, p.775-806. 1998.

SERRA, I.M.R.S.; COELHO, R.S.B.; MENEZES, M. Caracterização fisiológica, patogênica e análise isoenzimática de isolados monospóricos e multispóricos de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Summa Phytopathology**, v. 34, p.113-120, 2008.

SERRANO, L. A. L.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.3, p.657-959, 2010.

SHODA, M. Bacterial control of plant diseases. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, n. 89, p. 515-521, 2000.

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

SILVA, A. C.; SALES, N. L. P.; ARAÚJO, A. V.; CALDEIRA JÚNIOR, C. Efeito *In vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Isolado do maracujazeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853 -1860, 2008.

SINGH, D., SHARMA, R.R. Postharvest diseases of fruit and vegetables and their management. In: Prasad, D. (Ed.), Sustainable Pest Management. **Daya Publishing House**, New Delhi, India. v.4, n. 2, p. 152-230, 2007.

SOTOYAMA, K.; AKUTSU, K.; NAKAJIMA, M. Biological control of *Fusarium* wilt by *Bacillus amyloliquefaciens* IUMC7 isolated from mushroom compost. **Journal of General Plant Pathology**, v. 82, n. 2, p. 105-109, 2016.

STANGARLIN, J. R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotechnol. Cienc Desenv.**, Brasília, v. 11, p. 16-21, 1999.

TATAGIBA, J. S.; LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; COSTA, H. É.

L. C. I. O. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, n.2, p.186-192, 2002.

TAVARES, S. C. C. H. Principais doenças da mangueira e alternativas de controle. Informações técnicas sobre a cultura da manga no Semi-Árido Brasileiro. DF. **EMBRAPA-CPATSA**. 1995.

TEMPLETON, G. E.; HEINY, D. K. Improvement of fungi to enhance mycoherbicide potential. **Biotechnology of fungi for improving plant growth**, p. 127-151, 1989.

TONELLI, M. L.; FABRA, A. The biocontrol agent *Bacillus* sp. CHEP5 primes the defense response against *Cercospora sojina*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 9, p. 2503-2509, 2014.

VALENZUELA, N. L.; ANGEL, D. N.; ORTIZ, D. T.; ROSAS, R. A.; GARCÍA, C. F. O.; SANTOS, M. O. Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. **Biological Control**, v. 91, p. 88-93, 2015.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. S. Manejo das doenças do mamoeiro. In: MARTINS, D. S.; COSTA, A. F. S. Cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória: **Incaper**, p. 229-308, 2003.

WANG, S.; CHANG, W. Purification and characterization of two bifunctional chitinases/lysozymes extracellularly produced by *Pseudomonas aeruginosa* K-187 in a shrimp and crab shell powder medium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 2, p. 380-386, 1997.

WHIPPS, J. M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of experimental Botany**, v. 52, p. 487-511, 2001.

KUHLKAMP, K. T.; SANTANA, E. N.; DE SOUZA OLIVEIRA, V.; GRAEBIN, A. AVALIAÇÃO DE DOENÇAS FUNGICAS NA PRÉ E PÓS COLHEITA DO MAMOEIRO, SUBMETIDAS A DIFERENTES FUNGICIDAS NO CONTROLE QUÍMICO. **Revista Ifes Ciência**, v. 8, n. 1, p. 01-09, 2022.

WISNIEWSKI, M.E., WILSON, C.L. Biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables: recent advances. **HortScience** v.27, p.94–98. 1992.

ZAMBOLIM, L.; CISTA, H.; VENTURA, J. A.; VALE, F. X. R. Controle de doenças em pós-colheita de frutas tropicais. Manejo integrado: fruteiras tropicais-doenças e pragas. Viçosa: **Universidade Federal de Viçosa**, p.443-512, 2002.

ZAMBOLIM, L.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ZAMBOLIM, E. M. **Manejo integrado de doenças de fruteiras**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, Cabo

Frio, R.J. Frutas do Brasil: saúde para o mundo. Cabo Frio: SBF/UENF/ UFRuralRJ, 2006. p. 19-35, 2006.

ZHU, S.J. Non-chemical approaches to decay control in postharvest fruit. In: Noureddine, B., Norio, S. (Eds.), Advances in Postharvest Technologies for Horticultural Crops. **Research Signpost**, pp. 297–313, 2006.

ARTIGO 1

UTILIZAÇÃO DE *Trichoderma* spp. E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DOS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS *Colletotrichum* sp. E *Lasiodiplodia theobromae*, ASSOCIADOS A DOENÇAS PÓS-COLHEITA DO MAMÃO

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Biological Control, em versão na língua inglesa.

UTILIZAÇÃO DE *Trichoderma* spp. E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DOS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS *Colletotrichum* spp. E *Lasiodiplodia theobromae*, ASSOCIADOS A DOENÇAS PÓS-COLHEITA DO MAMÃO

RESUMO: As doenças pós-colheita em frutos podem causar perdas superiores a 25%, o controle dessas doenças é iniciado ainda no campo com a utilização de fungicidas. *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae* são fungos muito comuns em frutos de mamão e que causam grandes perdas pós-colheita. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar diferentes isolados de *Trichoderma* spp. e extratos vegetais no controle *In vitro* dos fungos fitopatogênicos *Colletotrichum* sp. e *L. theobromae*. Para tanto, foram avaliados oito isolados de *Trichoderma* sp. (Tricho 1, Tricho 2, Tricho 3, Tricho 4, Tricho 5, Tricho 7, Tricho 8 e Tricho 9) em testes de confrontação direta, liberação de compostos voláteis e não-voláteis termoestáveis. Também foi realizada avaliação dos efeitos de extratos vegetais aquosos de erva-cidreira (*Lippia alba*), alamanda rosa (*Allamanda blanchetti*) e aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), nas concentrações 10 e 20%, sobre o efeito dos fungos *Colletotrichum* sp. e *L. theobromae*. Após avaliar os resultados, foi verificado que todos os isolados de *Trichoderma* spp. inibem o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. e *L. theobromae*, o que os tornam antagonistas promissores. Com destaque para os isolados Tricho 2, que apresentou 73% de inibição do crescimento micelial do *Colletotrichum* sp. em teste de confrontação direta, e o isolado Tricho 8, que apresentou 73% de inibição do crescimento micelial do *Colletotrichum* sp. em teste de compostos não-voláteis. O extrato aquoso de alamanda rosa a 20% mostrou-se eficiente no controle do crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Colletotrichum* sp. e *L. theobroma*.

Palavras chave: Controle alternativo; Antracnose; Podridão peduncular; Controle biológico.

**USE OF *Trichoderma* spp. AND PLANT EXTRACTS IN THE CONTROL OF
PHYTOPATHOGENIC FUNGI *Colletotrichum* spp. AND *Lasiodiplodia theobromae*,
ASSOCIATED WITH POSTHARVEST PAPAYA DISEASES**

ABSTRACT: Post-harvest diseases in fruits can cause losses of more than 25%, the control of these diseases begins in the field with the use of fungicides. *Colletotrichum* sp. and *Lasiodiplodia theobromae* are very common fungi in papaya fruits and cause great post-harvest losses. In this context, the objective of the present work was to evaluate different isolates of *Trichoderma* spp. and plant extracts in the *In vitro* control of phytopathogenic fungi *Colletotrichum* sp. and *L. theobromae*. For that, eight isolates of *Trichoderma* sp. (Tricho 1, Tricho 2, Tricho 3, Tricho 4, Tricho 5, Tricho 7, Tricho 8 and Tricho 9) in tests of direct confrontation, release of thermostable volatile and non-volatile compounds. An evaluation of the effects of aqueous plant extracts of lemon balm (*Lippia alba*), pink alamanda (*Allamanda blanchetti*) and red mastic (*Schinus terebinthifolius* Raddi) at 10 and 20% concentrations on the effect of *Colletotrichum* sp. and *L. theobromae*. After evaluating the results, it was verified that all *Trichoderma* spp. inhibit the mycelial growth of *Colletotrichum* sp. and *L. theobromae*, which make them promising antagonists. Highlighting the Tricho 2 isolates, which showed 73% inhibition of the mycelial growth of *Colletotrichum* sp. in a direct confrontation test, and the isolate Tricho 8, which showed 73% inhibition of the mycelial growth of *Colletotrichum* sp. in testing of non-volatile compounds. The aqueous extract of alamanda rosa at 20% proved to be efficient in controlling the mycelial growth of the phytopathogenic fungi *Colletotrichum* sp. and *L. theobroma*.

Keywords: Alternative control; Anthracnose; Peduncle rot; Biological control.

INTRODUÇÃO

O uso intensivo de agrotóxicos para o controle de doenças de plantas tem ocasionado diversos problemas ambientais, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água, dos animais e a intoxicação de agricultores, além de proporcionar em diversos casos, a resistência de patógenos aos fungicidas (MORANDI; BETTIOL, 2009).

O controle biológico se caracteriza como uma prática sustentável, economicamente viável e de fácil aplicação pelo produtor, sendo amplamente empregado dentro de um manejo ecológico de doenças de plantas (SOGLIO, 2004). Assim, o controle biológico se constitui em uma alternativa para a substituição ou a diminuição da utilização de agrotóxicos (MENEZES, 2002). Dentre os microrganismos com potencial para controle biológico de doenças, destacam-se as bactérias, principalmente do gênero *Bacillus* e o fungo do gênero *Trichoderma*, que são os mais utilizados e estudados (COOK; BAKER, 1983).

O sucesso de cepas de *Trichoderma* como agentes de controle biológico (ACBs) é devido a sua alta capacidade reprodutiva e de sobreviver em condições desfavoráveis, a sua eficiência na utilização dos nutrientes, forte agressividade contra fungos fitopatogênicos, eficiência na promoção de crescimento da planta e elicitação de mecanismos de defesa. Porém, o micoparasitismo e a produção de metabolitos voláteis e não voláteis são descritos como um dos mecanismos mais eficientes dos utilizados por isolados de *Trichoderma* (CARVALHO et al., 2014).

Outro método alternativo para o controle de fungos fitopatogênicos são os extratos de plantas, que veem obtendo sucesso devido aos compostos antifúngicos apresentados em suas composições (SILVA et al., 2008). Estudos desenvolvidos com extrato bruto obtidos de plantas da flora brasileira, veem demonstrando potencial no controle de fitopatógenos, por ação fungitóxica, que é quando o extrato inibe o crescimento micelial e a germinação de esporos (SCHWAN-ESTRADA, 2009).

O *Colletotrichum* sp. e o *L. theobromae* são dois fungos de ocorrência comum em frutos de mamão, que causam grandes perdas pós-colheita. As doenças pós-colheita em frutos podem causar perdas superiores a 25%, antes mesmo deles serem comercializados, e os que chegam até a mesa dos consumidores, nem

sempre apresentam uma qualidade desejada. Geralmente, os agentes causadores de podridões em pós-colheita são capazes de se estabelecerem no fruto imaturo e permanecerem em estado latente, sem o surgimento de sintomas, até que haja condições para que o processo de infecção ocorra.

Para aperfeiçoar a exploração de novos isolados benéficos e reforçar a sua aplicação prática, é imprescindível aumentar os conhecimentos sobre os mecanismos envolvidos na interação entre *Trichoderma*, planta hospedeira e fitopatógenos (MARTÍNEZ et al., 2014). Neste contexto, o presente trabalho teve como o objetivo avaliar espécies de *Trichoderma* spp. e extratos vegetais no controle *In vitro* dos fungos fitopatogênicos *Colletotrichum* spp. e *Lasiodiplodia theobromae*. Para tanto, foram avaliadas oito espécies de *Trichoderma* sp. (Tricho 1, Tricho 2, Tricho 3, Tricho 4, Tricho 5, Tricho 7, Tricho 8 e Tricho 9) e extratos vegetais de erva-cidreira (*Lippia alba*), alamanda rosa (*Allamanda blanchetti*) e aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), nas concentrações 10 e 20%.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), em Cruz das Almas-BA. Foram utilizados oito isolados de *Trichoderma* spp., um isolado de cada fungo patogênico *Colletotrichum* sp. e *L. theobromae* (Quadro 1), e três extratos vegetais, aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius*), alamanda rosa (*Allamanda blanchetti*) e erva-cidreira (*Lippia alba*) (Quadro 2).

Os isolados de *Lasiodiplodia theobromae* e de *Colletotrichum* sp. foram obtidos de fruto de mamão que apresentava sintomas e sinais da podridão peduncular e antracnose, posteriormente, os isolados foram inoculados em frutos de mamão sadios para comprovar sua patogenicidade.

Quadro 1. Isolados de *Trichoderma*, *Colletotrichum* sp. e *L. theobromae* utilizados nos experimentos com seus respectivos códigos, ano de obtenção, local de origem, hospedeiro ou cultura presente no solo de origem e substrato de onde foram isolados.

Código	Antagonista/ Patógenos	Isolamento			
		Ano	Local	Hospedeiro	Substrato
Tricho 1	<i>Trichoderma</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Tomate	Solo de cultivo
Tricho 2	<i>Trichoderma</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Pimentão	Solo de cultivo
Tricho 3	<i>Trichoderma</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Pimentão	Solo de cultivo
Tricho 4	<i>Trichoderma</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Pimentão	Solo de cultivo
Tricho 5	<i>Trichoderma</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Abobrinha	Solo de cultivo
Tricho 7	<i>Trichoderma</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Cravo	Filoplano/Caule
Tricho 8	<i>Trichoderma</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Mamão	Filoplano/Fruto
Tricho 9	<i>Trichoderma</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Pêssego	Filoplano/Caule
Coll 01	<i>Colletotrichum</i> sp.	2018	Cruz das Almas-BA	Mamão	Fruto
Lasio 01	<i>Lasiodiplodia</i> <i>theobromae</i>	2018	Cruz das Almas-BA	Mamão	Fruto

Quadro 2– Espécies vegetais e partes da planta que foram utilizadas no preparo dos extratos vegetais para o controle de *Colletotrichum* sp. E *Lasiodiplodia theobromae*.

Espécies	Nome Popular	Família Botânica	Parte da Planta
<i>Allamanda blanchetti</i>	Alamanda rosa	Euforbiáceas	Folhas
<i>Lippia alba</i>	Erva-cidreira	Lamiaceae	Folhas
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Aroeira vermelha	Anacardiácea	Folhas e Frutos
Fungicida			
Tebuconazol			

Antagonismo de *Trichoderma* sp. a *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae* em teste de confrontação direta.

Para avaliar o antagonismo de *Trichoderma* spp. a *Colletotrichum* sp. e *L. theobromae*, colocou-se em placas de Petri contendo meio de cultivo BDA um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio e conídios do fungo fitopatogênico (*Colletotrichum* sp. ou *L. theobromae*) a uma distância de 1 cm da borda da placa. Em seguida, foi colocado um disco de micélio e conídios de *Trichoderma* sp. em

posição oposta ao disco, também a 1 cm da borda. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento. Como controle, foi repicado apenas o patógeno na placa. As placas foram mantidas a 25°C com fotoperíodo de 12 horas.

O grau de antagonismo (GA) foi avaliado aos 3, 6 e 9 dias, atribuindo-se notas de acordo com escala proposta por Bell et al. (1982) que variam entre 1 e 5, descritas como se segue: 1- sobreposição de *Trichoderma* que colonizou a superfície total do meio, e reduziu a colônia do fitopatógeno; 2- sobreposição de *Trichoderma* que colonizou pelo menos 2/3 da superfície do meio; 3 - *Trichoderma* e fitopatógeno colonizaram mais que 1/3 e, menos que 2/3 da superfície do meio; 4 - fitopatógeno colonizou ao menos 2/3 da superfície do meio e resistiu a invasão por *Trichoderma* e 5- sobreposição de fitopatógeno, que colonizou toda a superfície do meio. No 12º dia, o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos foram medidos com o auxílio de uma régua milimétrica.

A partir dos dados foi determinada a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM) (MENTEN et al., 1976) pela fórmula:

$$\text{PICM} = \frac{\text{Diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento} \times 100}{\text{Diâmetro da testemunha}}$$

Efeito de compostos não-voláteis termoestáveis produzidos por *Trichoderma* sp. sobre *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae*.

Oito Isolados de *Trichoderma* sp. foram cultivados em 100 mL de meio BD (batata-dextrose), em Erlenmeyers de 250 mL. A incubação ocorreu em agitador orbital a 150 rpm, a 25 °C, em ausência de luz, durante dez dias. Após esse período, a biomassa fúngica foi descartada por filtração utilizando gaze esterilizada.

Posteriormente, o filtrado foi adicionado em meio BDA e ajustado para concentração final de 50%, em seguida, as amostras foram autoclavadas a 120 °C durante 20 min, sendo vertido nas placas de Petri depois da autoclavagem. Após a solidificação do meio, foram repicados separadamente um disco de 5 mm de diâmetro contendo micélio e conídios do fungo fitopatogênico aos sete dias de crescimento para o centro da placa. Como controles, foram utilizadas placas

contendo meio BDA sem a presença dos metabólitos. As placas foram mantidas a 25 °C por 9 dias em fotoperíodo de 12 horas. Foram utilizadas cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado. As avaliações consistiram em medições do crescimento micelial da colônia do fungo fitopatogênico em dois eixos (X e Y) a cada três dias, por meio de uma régua milimétrica. A partir dos dados, foi determinada a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM).

Efeito de compostos voláteis produzidos por *Trichoderma* sp. sobre *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae*.

Duas bases de placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de cultura BDA, receberam individualmente discos de 5 mm de diâmetro das culturas do fungo fitopatogênico e de *Trichoderma* spp.. As bases contendo *Trichoderma* spp. e o patógeno foram sobrepostas, com o *Trichoderma* spp. ficando na parte inferior para que assim, apenas os metabólitos voláteis liberados entrassem em contato com o fungo fitopatogênico. As placas foram unidas e vedadas com o auxílio de filme PVC. Como testemunha, foram sobrepostas duas bases contendo apenas fungo fitopatogênico.

As placas foram incubadas a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas por 9 dias. Cada tratamento foi composto por cinco repetições em delineamento inteiramente casualizado. As avaliações foram realizadas a cada três dias e consistiram em medições do crescimento micelial da colônia do fitopatógeno em dois eixos (X e Y) por meio de uma régua milimétrica. A partir dos dados, foi determinada a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM).

Efeito de extratos vegetais aquosos sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae*.

As amostras vegetais de aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius*), alamanda rosa (*Allamanda blanchetti*) e erva-cidreira (*Lippia alba*), foram maceradas com o auxílio de almofariz e pistilo. As amostras secas e frescas foram diluídas em água destilada, coadas, e adicionadas em meio de cultura BDA ajustando para 10% e 20% de extratos na concentração final do meio de cultura. O fungicida tebuconazol foi utilizado no volume 0,2 mL, obtendo a concentração final de 0,20 ppm de

tebuconazol no meio de cultura BDA.

Discos de oito milímetros de diâmetro de cultura do fungo fitopatogênico foram transferidos para o centro, em cada placa de Petri de 5 cm, previamente vertida com os extratos homogeneizados em suas devidas concentrações no BDA. Estas placas foram vedadas com papel filme e incubadas em condições ambiente a $(25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$ por 9 dias. As avaliações foram realizadas a cada três dias, e consistiram em medições do crescimento micelial da colônia do fitopatógeno em dois eixos (X e Y) por meio de uma régua milimétrica. A partir dos dados, foi determinada a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PICM).

Avaliações

Todos os dados dos experimentos que foram obtidos pela fórmula de PICM, foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 1% de significância, e para o caso de diferenças significativas entre os tratamentos, foi realizado teste de agrupamento de medias de Scott Knott a 5%, utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antagonismo de *Trichoderma* sp. a *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae* em teste de confrontação direta.

O tratamento controle apresentou um crescimento radial regular, no entanto, para os pareamentos entre *Trichoderma* e os isolados de *Colletotrichum* sp., diferentes graus de colonização do patógeno foram observados (Tabela 1).

O grau de antagonismo de Coll 01 (*Colletotrichum* sp.) variou de acordo com o isolado de *Trichoderma* sp., entretanto, não foi verificado antagonismo quatro e cinco, que consistem na colonização de ao menos 2/3 do total da placa pelos isolados patogênicos. Três dias após o pareamento, foram observados efeitos antagônicos proporcionados por 6 dos 8 isolados de *Trichoderma* avaliados.

Tabela 1. Grau de antagonismo (GA) em diferentes tempos de acordo com escala de Bel et al. (1982) e porcentagem de inibição da colonização micelial (PICM) de *Colletotrichum* sp., exercido por *Trichoderma* spp..

Tratamentos	<i>Colletotrichum</i> sp.			PICM
	GA 3º dia	GA 6º dia	GA 9º dia	
Tricho 1	2,6	1,2	1	61,6 c*
Tricho 2	2,3	1	1	73,9 a
Tricho 3	2,6	1	1	61,3 c
Tricho 4	2,7	1	1	61,0 c
Tricho 5	2,3	1	1	67,3 b
Tricho 7	2,6	1	1	62,7 c
Tricho 8	3	2	1,8	54,5 d
Tricho 9	3	1	1	58,0 d
Controle	3	3	3	0,0 e
CV%				8,14

*Médias seguidas por letras distintas na coluna pertencem a grupos diferentes, pelo teste de Scott knott, a 5% de probabilidade.

Na segunda avaliação, aos seis dias, todos os isolados de *Trichoderma*

apresentaram algum GA frente ao fungo patogênico, porém, apenas os isolados Tricho 2, 3, 4, 5, 7 e 9 apresentaram GA 1, sobreposição de *Trichoderma* que colonizou a superfície total do meio e reduziu a colônia do fitopatógeno. Na última avaliação, 12 dias após o pareamento, o antagonismo foi mais evidenciado, sendo observado GA 1 em todos os tratamentos, com exceção do Tricho 8 (Tabela 1).

Aos nove dias após a montagem do experimento, foi avaliada a porcentagem de inibição proporcionada pelos isolados de *Trichoderma* ao fungo fitopatogênico. O isolado Tricho 2 apresentou a maior porcentagem de inibição, 73%, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Ao observar as placas do pareamento entre Tricho 2 e Coll 01, foi possível verificar que o micélio do antagonista colonizou as estruturas do Coll 01, evidenciando que o principal mecanismo de ação utilizado pelo isolado Tricho 2 foi o micoparasitismo (Figura 1). Tal característica não foi observada em dois isolados avaliados, Tricho 8 (Figura 1C) e Tricho 9, que foram os isolados que apresentaram as menores porcentagens de inibição, 54 e 58 % respectivamente.



Figura 1- Controle Coll 01 após 6 dias de crescimento (A); Colônia do isolado de *Trichoderma* sp. Tricho 2 (à esquerda) sobrepondo a colônia de Coll 01 à direita) após 6 dias de crescimento (B); Colônia do isolado de *Trichoderma* sp. Tricho 8 (à esquerda) não apresentando sobreposição sobre a colônia de Coll 01 (à direita) após 6 dias de crescimento (C).

Os resultados observados no presente estudo foram superiores aos obtidos por Chacko e Gokulapalan (2015), que ao avaliarem o PICM de isolados de *Colletotrichum capsici* em teste de pareamento de culturas com *Trichoderma*, observaram apenas 55 % de inibição. Já Padder e Sharma (2011), observaram 59% de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* em cultivo pareado com *Trichoderma viride*.

Com relação ao pareamento *Trichoderma* x Lasio 01, o fungo fitopatogênico Lasio 01 (*L. theobromae*), apresentou maior resistência ao antagonismo. No primeiro

dia de avaliação, apenas o isolado Tricho 5 apresetou GA ao Lasio 01 (2,6), demonstrando uma sobreposição inicial. Após nove dias essa sobreposição progrediu até atingir GA 1, evidenciando o Tricho 5 como o isolado que apresentou maior GA ao Lasio 01(Tabela 2).

Tabela 2. Grau de antagonismo (GA) em diferentes tempos de acordo com escala de Bel et al. (1982) e porcentagem de inibição da colonização micelial (PICM) de *Lasiodiplodia theobromae* exercido por *Trichoderma* spp..

Tratamentos	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>			PICM
	GA 3º dia	GA 6º dia	GA 9º dia	
Tricho 1	3	2,2	2	53,7 d*
Tricho 2	3	2,4	2,4	53,7 d
Tricho 3	3	2,8	2,4	44,9 e
Tricho 4	3	3	1,8	63,9 b
Tricho 5	2,6	1,8	1	78,1 a
Tricho 7	3	3	1,4	61,3 c
Tricho 8	4	4,4	4,8	27,1 f
Tricho 9	3	3	3	45,1 e
Controle	3	3	3	0,0 g
CV%				3,36

*Médias seguidas por letras distintas na coluna pertencem a grupos diferentes, pelo teste de Scott knott, a 5% de probabilidade.

Nove dias após a montagem do experimento, foi avaliada o PICM proporcionada pelos isolados de *Trichoderma* ao Lasio 01. O isolado Tricho 5 apresentou a maior porcentagem de inibição 78%, formando um grupo diferente dos demais tratamentos. Os resultados obtidos no presente estudo são semelhantes aos obtidos por Bhadra et al., (2014), que ao avaliarem o antagonismo *In vitro* de *Trichoderma viride* sobre *Lasiodiplodia theobromae* em testes de confrontação direta, observaram uma inibição de 80% do crescimento do patógeno.

Assim como no experiemnto realizado com Coll 01, foi possível verificar que o principal mecanismo de ação utilizado pelo isolado Tricho 5 foi o micoparasitismo (Figura 2C). Já os isolados Tricho 8 (Figura 2B) e Tricho 9 que não apresentaram micoparasitismo, obtiveram PICM inferiores a 50%, com destaque para o tratamento

Tricho 8 que apresentou 27%. Esse mesmo tratamento apresentou nota 4 (o fitopatógeno colonizou ao menos 2/3 da superfície do meio e resistiu a invasão por *Trichoderma*) ou superior de GA (Figura 2B), demonstrando a correlação direta entre a eficiência no micoparasitismo e o antagonismo em confrontação direta.

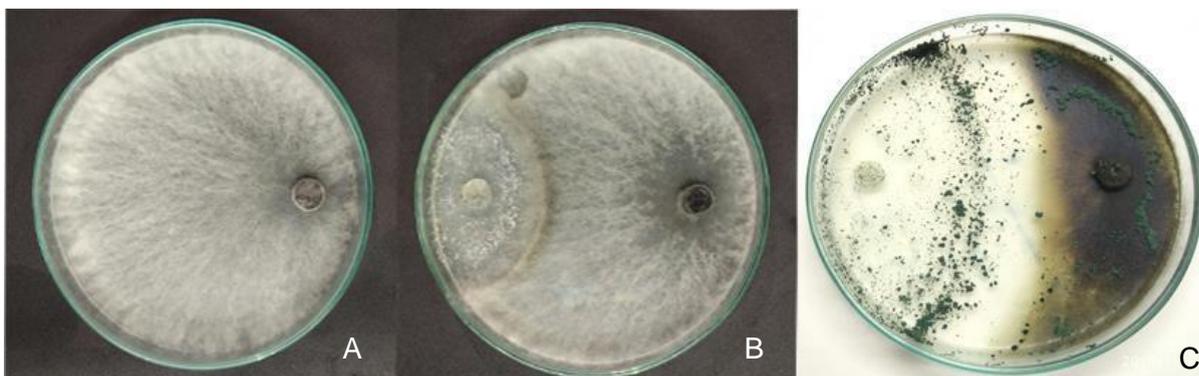


Figura 2- Controle Lasio 01 (*Lasiodiplodia theobromae*) após 6 dias de crescimento (A); Colônia do isolado de *Trichoderma* sp. Tricho 8 (à esquerda) não apresentando sobreposição sobre a colônia de Lasio 01 (à direita) após 6 dias de crescimento (B); Colônia do isolado de *Trichoderma* sp. Tricho 5 (à esquerda) sobrepondo a colônia de Lasio 01 (à direita) após 6 dias de crescimento (C).

Mortuza e Ilag (1999), em testes de pareamento de culturas entre *Trichoderma* sp. e *L. theobromae*, verificaram 67% de inibição do fungo fitopatogênico. Os mesmos autores relataram que o principal mecanismo de ação utilizado pelo isolado de *Trichoderma* sp. testado foi o micoparasitismo. Ou seja, a capacidade que algumas espécies de *Trichoderma* têm de parasitar e/ou matar outros fungos, característica esta que despertou em muitos pesquisadores o interesse por esse gênero fúngico (MUKHERJEE et al., 2012).

A ação de expressão sequencial de enzimas degradadoras de parede celular, sendo as mais comuns quitinases, glucanases e proteases, são fundamentais para o sucesso do micoparasitismo de *Trichoderma* spp. a patógenos (HARMAN et al., 2004). O padrão de indução ao micoparasitismo é diferente de acordo com o isolado de *Trichoderma* (BENÍTEZ et al., 2004). Mas, acredita-se que de forma geral, primeiramente, o *Trichoderma* identifique sinais da presença do fungo hospedeiro, cresça em direção à hifa hospedeira, enrole-se e forme estruturas denominadas apressórios, que penetram na parede celular do hospedeiro, favorecendo a entrada e posterior crescimento da hifa do *Trichoderma* (BENHAMOU, 1993). É assim um processo sequencial, que envolve reconhecimento, contato, adesão, competição por nutrientes, expressão de genes específicos e secreção de metabólitos antifúngicos

(BENÍTEZ et al., 2004).

Efeito de compostos não-voláteis termoestáveis produzidos por *Trichoderma* sp. sobre *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae*.

Os compostos não-voláteis termoestáveis produzidos pelos isolados de *Trichoderma* sp. apresentaram diferentes porcentagens de inibição no *Colletotrichum* sp., que variou de acordo com o tempo de crescimento (Tabela 3). Após três dias de incubação, o isolado Tricho 4 inibiu em 75% o Crescimento micelial de Coll 01, formando grupo diferente dos demais tratamentos. Com 6 dias, os tratamentos Tricho 8 e Tricho 4 foram os mais eficientes, inibindo o crescimento micelial de Coll 01 em 70 e 71% respectivamente. No último dia de avaliação, os mesmos tratamentos mantiveram-se como os mais eficientes, inibindo em 73% para Tricho 8, e 69% para Tricho 4.

Tabela 3. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. por ação dos compostos não-voláteis termoestáveis produzidos por isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	<i>Colletotrichum</i> sp.		
	3º Dia	6º Dia	9º Dia
Tricho 1	60,4 d	57,9 c	52,2 c
Tricho 2	64,7 c	56,3 c	51,1 c
Tricho 3	66,9 c	58,2 c	54,8 c
Tricho 4	75,4 a	70,8 a	69,7 a
Tricho 5	61,7 d	63,5 b	59,7 b
Tricho 7	37,8 e	33,2 d	38,2 d
Tricho 8	70,8 b	71,7 a	73,5 a
Tricho 9	30,5 f	28,9 d	31,3 e
Controle	0,0 g	0,0 e	0,0 f
CV%	5,8	7,6	8,9

*Médias seguidas por letras distintas na coluna pertenciam a grupo diferentes, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos no presente estudo foram inferiores aos observados por Padder et al., (2011), que em avaliações dos efeitos dos compostos não-voláteis produzidos por *Trichoderma* sp. na concentração de 50%, sobre o

crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal da antracnose do feijoeiro, relataram 100% de inibição do crescimento micelial do fungo fitopatogênico. Entretanto, esses valores foram superiores aos relatados por Joshi e Misra (2013), que constataram 51% de inibição no crescimento micelial de *Colletotrichum falcatum*. Já Adebesin et al., (2009), relataram 60% de inibição no crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

Analisando a Tabela 4, observa-se que compostos não-voláteis termoestáveis produzidos pelos isolados de *Trichoderma spp.* Tricho 1, Tricho 2, Tricho 3, Tricho 4 e Tricho 8, inibiram o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* aos três e seis dias de avaliações, já no nono dia, apenas os isolados Tricho 2, Tricho 3 e Tricho 8 inibiram o crescimento do patógeno. O tratamento controle, Tricho 5, Tricho 7 e Tricho 9, apresentaram 0% de inibição em todos os dias avaliados, formando o mesmo grupo. É possível observar que entre os isolados de *Trichoderma sp.*, diferentes porcentagens de antagonismo foram visualizadas, variando de acordo com o isolado, contudo, o isolado Tricho 8 destacou-se em todos os dias avaliados, inibindo em 100% o crescimento micelial do patógeno no terceiro dia, 98% no sexto e 86% no nono, diferindo estatisticamente dos outros tratamentos.

Tabela 4. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* por ação dos compostos não-voláteis termoestáveis produzidos por isolados de *Trichoderma spp.*

Tratamentos	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>		
	3º Dia	6º Dia	9º Dia
Tricho 1	25,1 c*	12,5 c	0,0 c
Tricho 2	77,1 b	55,7 b	34,2 b
Tricho 3	77,4 b	54,1 b	30,9 b
Tricho 4	14,9 d	7,4 d	0,0 c
Tricho 5	0,0 e	0,0 e	0,0 c
Tricho 7	0,0 e	0,0 e	0,0 c
Tricho 8	100 a	98,3 a	86,8 a
Tricho 9	0,0 e	0,0 e	0,0 c
Controle	0,0 e	0,0 e	0,0 c
CV%	9.78	9.87	17.97

*Médias seguidas por letras distintas pertencem a grupos diferentes pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

De acordo com Demirci et al. (2011), diversos fatores apresentados por um agente de controle biológico devem ser avaliados antes da escolha de um isolado para testes em campo. Sendo assim, os testes de produção de metabólitos não-voláteis termoestáveis demonstram a estabilidade dos metabólitos frente a altas temperaturas que um solo de regiões tropicais pode atingir.

Em trabalho avaliando a ação de metabólitos não-voláteis de quatro espécies diferentes de *Trichoderma* sobre *L. theobromae*, Bhadra et al., (2014) relataram que não ocorreu inibição do fungo patogênico. Resultados semelhantes foram obtidos por Adebessin et al., (2009), que ao verificarem a ausência de inibição do crescimento micelial do *L. theobromae* em avaliações com compostos não-voláteis de *Trichoderma*, informaram que na interação direta do fungo fitopatogênico com os isolados de *Trichoderma* foi observado até 60 % de inibição do crescimento micelial.

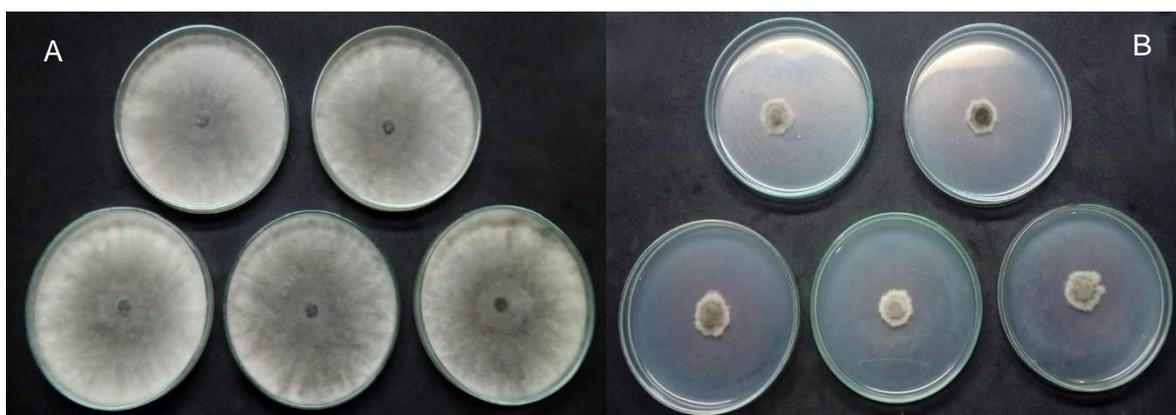


Figura 3- Controle Lasio 01 após 9 dias de crescimento (A); Colônia do Lasio 01 cultivado em meio de cultura BDA acrescido 50% de compostos não-voláteis termoestáveis do isolado de *Trichoderma* sp. Tricho 8 (B).

Segundo Benítez et al., (2004), diversos isolados de *Trichoderma* sp. só produzem compostos antimicrobianos eficientes quando ocorre contato com o agente fitopatogênico. Neste contexto, o isolado Tricho 8 mostra-se muito promissor, pois apresentou grande eficiência na produção de metabólitos antifúngicos na ausência do fungo fitopatogênico, que inibiram em 86% o crescimento micelial de um fungo fitopatogênico que apresenta grande resistência.

Efeito de compostos voláteis produzidos por *Trichoderma* sp. sobre *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobromae*.

Na tabela 5, é possível verificar que compostos voláteis liberados pelos isolados de *Trichoderma* sp. inibiram o crescimento micelial de Coll 01, enquanto o tratamento controle apresentou crescimento contínuo. Porém, foi possível observar que entre os isolados de *Trichoderma* sp., diferentes porcentagens de antagonismo foram apresentadas, com destaque para o isolado Tricho 9, que inibiu em 38% o crescimento micelial de Coll 01 no terceiro dia de avaliação. No sexto dia, os isolados Tricho 1, 3, 5 e 9 foram os mais eficientes, já no último dia de avaliações, os isolados Tricho 1, 2, 3, 5 e 9 foram os que apresentaram as maiores porcentagens de inibição.

Tabela 5. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. por ação dos compostos voláteis produzidos por isolados de *Trichoderma* spp.

Tratamentos	<i>Colletotrichum</i>		
	3º Dia	6º Dia	9º Dia
Tricho 1	30,6 b*	51,2 a	55,2 a
Tricho 2	31,3 b	50,0 a	54,6 a
Tricho 3	32,4 b	52,5 a	55,5 a
Tricho 4	26,7 c	44,0 b	47,5 b
Tricho 5	27,8 c	50,0 a	53,8 a
Tricho 7	26,9 c	45,4 b	44,2 b
Tricho 8	21,5 d	37,9 b	42,7 b
Tricho 9	38,2 a	54,5 a	56,9 a
Controle	0,0 e	0,0 c	0,0 c
CV%	12,2	10,2	10,5

*Médias seguidas por letras distintas pertencem a grupos diferentes, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Os resultados verificados na Tabela 5 foram superiores aos descritos por Almeida, (2009), que em avaliação dos efeitos dos compostos voláteis produzidos por *Trichoderma* sobre *Colletotricum* spp., relataram inibição máxima de 38% após 10 dias de incubação. Porém, foram semelhantes aos relatados por Lorenzetti et al., (2011), que observaram inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum*

acutatum em 54%.

No experimento com o fungo Lasio 01, foi possível a realização de apenas uma avaliação aos 3 dias (Tabela 6), devido a velocidade do crescimento micelial do fungo fitopatogênico. Nessa avaliação, foi verificado que o isolado Tricho 9 apresentou a maior porcentagem de inibição 46%, formando um grupo distinto dos outros tratamentos.

Tabela 6. Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* por ação dos compostos voláteis produzidos por isolados de *Trichoderma*.

Tratamentos	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	
	3º Dia	
Tricho 1	18,4 c	
Tricho 2	24,6 b	
Tricho 3	15,9 c	
Tricho 4	17,7 c	
Tricho 5	12,0 d	
Tricho 7	17,2 c	
Tricho 8	6,1 e	
Tricho 9	46,6 a	
Controle	0,0 f	
CV%	13,9	

*Médias seguidas por letras distintas pertencem a grupos diferentes, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Em trabalho em que foi avaliada a ação de metabólitos voláteis de quatro espécies diferentes de *Trichoderma* sobre *L. theobromae*, Bhadra et al., (2014) relataram 33% de inibição do fungo fitopatogênico. Já Silva et al., (2015), relataram 10% de inibição micelial ao testarem metabólitos voláteis de isolados comerciais de *Trichoderma* spp. sobre *L. theobromae*.

Os isolados de *Trichoderma* spp. mostram diversas habilidades como agentes de biocontrole, uma das características mais importantes é que o antagonista atue por meio de mais de um mecanismo, combinando produção de compostos antifúngicos voláteis e não-voláteis, micoparasitismo, competição e estímulo à defesa do hospedeiro (BETTIOL, 1991). Segundo Dennis e Webster (1971), espécies de *Trichoderma* são eficientes produtores de compostos voláteis em meio de cultura. Os mesmos autores descrevem que os antibióticos voláteis

são importantes no domínio do substrato pelo fungo, pois agem sobre fungos suscetíveis por meio da inibição do crescimento micelial.

Efeito de extratos vegetais aquosos sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum sp.* e *Lasiodiplodia theobromae*.

Na Tabela 7, pode-se observar que o extrato de alamanda rosa apresentou os melhores resultados de inibição micelial do fungo fitopatogênico *Colletotrichum sp.*. Na concentração 20%, a alamanda rosa inibiu 100% do crescimento micelial do fungo em todos os dias avaliados, não diferindo estatisticamente do tratamento com tebuconazol aos 3 e 6 dias de avaliação, que também inibiu em 100%, no entanto, no último dia de avaliação, apenas o tratamento alamanda 20% manteve os 100% de inibição micelial.

Já na concentração 10% do tratamento alamanda rosa, o tebuconazol apresentou o maior índice de inibição micelial do fungo 100% no dia 3, não diferindo do tratamento alamanda 20% e tebuconazol que apresentaram 100% de inibição, entretanto, nas avaliações dos dias 6 e 9, o tratamento alamanda 10% não manteve esse índice, que baixou para 87 e 74 % respectivamente.

Tabela 7. Efeito de extratos aquosos de alamanda rosa, aroeira e erva-cidreira em diferentes concentrações (10% e 20%) sobre a porcentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum sp.*

Tratamentos	<i>Colletotrichum sp.</i> *		
	3º dia	6º dia	9º dia
Alamanda 10%	100 a	87,8 b	74 c
Alamanda 20%	100 a	100 a	100 a
Aroeira 10%	22,2 b	7,4 e	15.5 e
Aroeira 20%	4,8 d	15.1 d	11.6 e
Erva-cidreira 10%	23,1 b	11.6 d	18.1 e
Erva-cidreira 20%	8,7 c	20.4 c	24 d
Tebuconazol	100 a	100 a	83,3 b
Controle	0,0 e	0,0 f	0,0 f
CV%	4,0	8,8	11,9

*Médias seguidas por letras distintas pertencem a grupos diferentes, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

No experimento com o fungo fitopatogênico *L. theobromae*, só foi possível realizar a avaliação até o terceiro dia de incubação. Por ser um fungo de crescimento rápido, o *L. theobromae* colozinou todas as placas até o quinto dia de avaliação.

Observando a Tabela 8, é possível verificar que entre os extratos vegetais, o extrato de alamanda 20% apresentou o maior índice de inibição do crescimento micelial do fungo após três dias de incubação 39,7%, porém diferiu estatisticamente do fungicida tebuconazol, que inibiu em 100% o crescimento micelial do fungo após 3 dias de incubação.

Tabela 8. Efeito de extratos aquosos de alamanda rosa, aroeira e erva-cidreira em diferentes concentrações (10% e 20%) sobre a porcentagem de inibição do crescimento de *L. theobromae*.

Tratamentos	<i>Lasiodiplodia theobromae</i> *	
	3º Dia	
Alamanda 10%	13,6 d	
Alamanda 20%	39,7 b	
Aroeira 10%	0,5 e	
Aroeira 20%	16,2 d	
Erva-cidreira 10%	9,7 d	
Erva-cidreira 20%	25,5 c	
Tebuconazol	100 a	
Controle	0 f	
CV%	9,8	

*Médias seguidas por letras distintas pertencem a grupos diferentes, pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

O potencial antimicrobiano do extrato da alamanda rosa foi descrito por Trentin et al., 2011, que em experimentos avaliando o potencial medicinal de plantas oriundas da caatinga, observaram a inibição de microrganismos quando submetidos aos compostos da alamanda rosa.

Sijam et al., 2011, avaliaram extratos de diferentes espécies de alamandas no controle do *Colletotrichum* sp. *In vitro*, observaram inibição de crescimento micelial de 85 a 100%, quando cultivado em meio de cultura contendo extrato de alamanda rosa. Os resultados obtidos foram semelhantes aos encontrados no presente estudo, porém vale ressaltar que os solventes utilizados no experimento desses autores foram o clorofórmio, éter e metanol.

Já Farah et al., 2013 observaram por meio de microscópio eletrônico de varredura que o extrato ativo de alamanda degradou as hifas do *Colletotrichum* gloeosporioides, prejudicando assim seu crescimento. No mesmo experimento os autores detectaram por meio de cromatografia gasosa-espectrometria de massa, a presença das substâncias químicas, plumericina sitosterol, estigmasterol, esqualeno e γ -tocoferol como componentes da alamanda e que são substâncias com potencial antifúngico já relatado em literatura (NEERMAN, 2003.; YENJIT et al., 2010).

As avaliações In vitro servem como uma seleção preliminar para avaliar a capacidade antagonista de agentes biocontroladores promissores, indicando o comportamento do antagonista, o que facilita uma melhor seleção entre os isolados, de modo a se observar os mais promissores para futuras avaliações em casa de vegetação ou campo.

Os resultados dos experimentos realizados neste trabalho indicam que os isolados de *Trichoderma* sp. Tricho 1, Tricho 2, Tricho 3, Tricho 4, Tricho 5, Tricho 7, Tricho 8 e Tricho 9 podem ser utilizados em experimentos em casa de vegetação ou em campo, devido à suas propriedades como agentes de controle biológico aqui constadas, principalmente contra os fungos patogênicos do gênero *Lasiodiplodia* e *Colletotrichum*. Entretanto, a seleção do isolado de *Trichoderma* deve ser realizada levando em consideração os mecanismos de ação apresentados por cada isolado, pois ao observar os resultados aqui relatados em conjunto, é possível verificar que os isolados que apresentaram maior eficiência no teste de confrontação direta em cultura pareada, como os isolados Tricho 2 para Coll 01 e Tricho 5 para Lasio 01, não foram os mais eficientes nos testes de compostos voláteis e não-voláteis. Já os isolados Tricho 8 e Tricho 9, que apresentaram maior eficiência nos testes de compostos voláteis e não-voláteis, não apresentaram micoparasitismo no teste de confrontação direta.

Com relação aos extratos vegetais, o extrato de alamanda rosa aquoso mostrou-se tão eficiente, quanto o fungicida tebuconazol para o controle do crescimento micelial do patógeno *Colletotrichum* sp.. Para o fungo *Lasiodiplodia theobroma*, o extrato de alamanda rosa também foi o mais eficiente, entretanto, apenas até o terceiro dia de avaliações. Se faz necessários estudos mais aprofundados com extratos de alamanda rosa, para verificar precisamente quais as

partes vegetais e quais solventes são mais adequados para produção de extratos, que possuam maiores efeitos sobre fungos fitopatógenos.

CONCLUSÕES

Todos os isolados de *Trichoderma* spp. avaliados inibem o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. e *Lasiodiplodia theobroma*, o que os tornam antagonistas promissores.

O extrato aquoso de alamanda rosa a 20% mostrou-se eficiente no controle do crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Colletotrichum* sp. em todos os dias avaliados e *Lasiodiplodia theobroma* até o terceiro dia de avaliação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEBESIN, A.; ODEBODE, C.; AYODELE, A. Control of postharvest rots of banana fruits by conidia and culture filtrates of *Trichoderma asperellum*. **Journal of plant protection research**, v. 49, n. 3, p. 302-308, 2009.

ALMEIDA, W. K. D. S. Antagonismo de *Trichoderma viride* Sobre Fungos Fitopatogênicos, *Colletotrichum* spp., *Cercospora musae* e *Asperisporium caricae* em Fruteiras Tropicais. **Rev. Bras. de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 1374, 2009.

BENHAMOU, N.; CHET, I. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. **Phytopathology**, v. 83, n. 10, p. 1062-1071, 1993.

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

BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. In: **Controle biológico de doenças de plantas**. BETTIOL, W. (Org.) Jaguariúna: Embrapa-Cnpda, 1991. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15), p.338.

BHADRA, M.; KHAIR, A.; HOSSAIN, M. A.; SIKDER, M. M. Efficacy of *Trichoderma* spp. and fungicides against *Lasiodiplodia theobromae*. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 49, n. 2, p. 125-130, 2014.

CHACKO, S. T.; GOKULAPALAN, C. *In vitro* study of fungicides and biocontrol agents against *Colletotrichum capsici* causing anthracnose of chilli (*Capsicum annumm* L.). **International Journal of Applied And Pure Science and Agriculture**, v. 1, n. 5, p. 93-98, 2015.

DA SILVA TRENTIN, D., GIORDANI, R. B.; ZIMMER, K. R., DA SILVA, A. G., DA SILVA, M. V., DOS SANTOS CORREIA, M. T.; MACEDO, A. J. (2011). Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 327-335, 2011.

DEMIRCI, E.; DANE, E.; EKEN, C. *In vitro* antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. **Turkish Journal of Biology**, Ankara, v. 35, p. 457-462, 2011.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* - Production of volatile metabolites. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v. 57, n 1, p. 25-39, 1971.

FARAH, F. H., KAMARUZAMAN, S., DZOLKHIFLI, O., MAWARDI, R. Chemical composition and screening for antifungal activity of *Allamanda* spp.(Apocynaceae) crude extracts against *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of anthracnose in papaya. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 7, n. 1, p. 88-96, 2013.

GUIRADO, N. et al. Controle de doenças em sistemas agroecológico. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.1, p.153-156, 2004.

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

JOSHI, D.; MISRA, S. C. Characterization of *Trichoderma* isolates from sugarcane agro-ecosystem and their efficacy against *Colletotrichum falcatum* causing red rot of sugarcane. **Sugar Tech**, v. 15, n. 2, p. 192-196, 2013.

JUSTO, O. R.; MORAES, Â. M.; BARRETO, G. P. D. M.; MERCADANTE, A. Z.; ROSA, P. D. T. V. Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Sociedade Brasileira de Química**, v. 31, n. 7, p. 1699-1705, 2008.

LORENZETTI, E. R.; ARONE, L. R. L.; SCALICE, H. K.; DE SOUZA, P. E.; DE SOUZA, R. J.; DE MEDEIROS, F. H. V. Avaliação de *Trichoderma* spp. no controle de antracnose e mofo cinzento do morangueiro. **Horticultura brasileira**, v. 29, n. 2, 2011.

MARTÍNEZ-MEDINA, A.; ALGUACIL, M. D. M.; PASCUAL, J. A.; VAN WEES, S. C. Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. **Journal of chemical ecology**, v. 40, n. 7, p. 804-815, 2014.

MORTUZA, M. G.; ILAG, L. L. Lina L. Potential for biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in banana fruits by *Trichoderma* species. **Biological Control**, v. 15, n. 3, p. 235-240, 1999.

MUKHERJEE M.; MUKHERJEE P. K.; HORWITZ B. A.; ZACHOW C.; BERG G.; ZEILINGER S. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions: advances in genetics of biological control. **Indian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 522, 2012.

NEERMAN, M. F. Sesquiterpene lactones: a diverse class of compounds found in essential oils possessing antibacterial and antifungal properties. **International Journal of Aromatherapy**, v. 13, n. 2-3, p. 114-120, 2003.

PADDER, B. A.; SHARMA, P. N. *In vitro* and *In vitro* antagonism of biocontrol agents against *Colletotrichum lindemuthianum* causing bean anthracnose. **Archives of phytopathology and plant protection**, v. 44, n. 10, p. 961-969, 2011.

RIBEIRO, T. S. **O fungo *Trichoderma* spp. no controle de fitopatógenos: dificuldades e perspectivas** 35f. Monografia (Pós-Graduação Tecnologias Inovadoras no Manejo Integrado de Pragas e Doenças de Plantas) Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2009.

SANTOS, C. C.; OLIVEIRA, F. A.; SANTOS, M. S.; TALAMINI, V.; FERREIRA, J. M. S.; SANTOS, F. J. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. **Scientia Plena**, v. 8, n. 4 (b), 2012.

SILVA, J. A., MATOS, D. L., DAVID, G. Q., RAMALHO, A. B., & PERES, W. M.

PRODUÇÃO DE METABÓLITOS VOLÁTEIS POR ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *Lasiodiplodia theobromae*. **Cáceres**, v. 2, n. 1, 2015.

SIJAM, K.; HARON, F. F.; OMAR, D.; RAHMANI, M. Screening extracts of various plants from genus *Allamanda* for activity Against *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of anthracnose of papaya. In: **Leveraging on microbial diversity for a sustainable future: proceedings of the International Congress of the Malaysian Society for Microbiology 2011**. Malaysian Society for Microbiology, 2011.

YENJIT, P.; ISSARAKRAISILA, M.; INTANA, W.; CHANTRAPROMMA, K. Fungicidal activity of compounds extracted from the pericarp of *Areca catechu* against *Colletotrichum gloeosporioides* In vitro and in mango fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, n. 2, p. 129-132, 2010.

ARTIGO 2

MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS E EXTRATO DE ALAMANDA ROSA (*Allamanda blanchetti*) NO CONTROLE DA ANTRACNOSE DO MAMÃO

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Biological Control, em versão na língua inglesa.

MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS E EXTRATO DE ALAMANDA ROSA (*Allamanda blanchetti*) NO CONTROLE DA ANTRACNOSE DO MAMÃO

RESUMO: Com origem na América tropical, o mamão (*Carica papaya* L.) é uma das frutas mais consumidas no mundo, porém doenças de origem fúngicas limitam sua produção. A antracnose é uma doença que causa podridões pós-colheita, diminuindo a durabilidade do fruto. Neste contexto, a proposta do presente trabalho foi avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp., um isolado de *Bacillus* sp. e extrato de Alamanda rosa (*Allamanda blanchetti*) no controle da antracnose em frutos de mamão 'Sunrise Solo'. Para tanto, frutos de mamão foram mergulhados por cinco minutos nos seguintes tratamentos: Trat 1 – *Trichoderma* 2; Trat 2 – *Trichoderma* 8; Trat 3 – *Bacillus* sp.; Trat 4 – Extrato de Alamanda rosa a 10%; Trat 5 – Fungicida Mancozeb (Mancozeb Nortox 800 WP®); 6 – Testemunha com inoculação de *Colletotrichum* sp.; 7 - Testemunha só com espalhante adesivo. Após 24 horas da imersão dos frutos nos tratamentos, o fungo *Colletotrichum* sp. foi inoculado nos frutos com e sem ferimentos, por meio de suspensão de esporos e disco de BDA contendo estruturas do fungo. Após seis dias de inoculação, foram avaliados a eficiência dos tratamentos na inibição do crescimento das lesões, a esporulação e germinação de esporos de *Colletotrichum* sp., pH, °brix e perda de massa fresca dos frutos. Os tratamentos *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de Alamanda rosa e Mancozeb. são eficientes no controle de *Colletotrichum* sp. em frutos de mamão em pós-colheita. O isolado *Trichoderma* 2 foi o mais eficiente no controle do *Colletotrichum* sp., quando a inoculação foi realizada com ferimentos, reduzindo as lesões em 73,3%. Este isolado inibe a esporulação e a germinação de esporos do fungo *Colletotrichum* sp., produzindo enzimas degradadoras de parede celular. Os tratamentos não alteraram as características químicas e morfológicas dos frutos.

Palavras chaves: Controle biológico, *Colletotrichum* sp., *Trichoderma* spp., *Bacillus* sp..

**ANTAGONIST MICROORGANISMS AND ALAMANDA ROSA
(*Allamanda blanchetti*) EXTRACT IN THE CONTROL OF PAMMY
ANTHRACNOSIS**

ABSTRACT: Originating in tropical America, papaya (*Carica papaya* L.) is one of the most consumed fruits in the world, it is grown in more than 40 countries around the world, but fungal diseases limit its production. Anthracnose is a disease that causes post-harvest rot, reducing fruit durability. In this context, the purpose of the present work was to evaluate the potential of *Trichoderma* spp. isolates, an isolate of *Bacillus* sp. and extract of *Allamanda rosa* (*Allamanda blanchetti*) in the control of anthracnose in 'Sunrise Solo' papaya fruits. For that, papaya fruits were immersed for five minutes in the following treatments: Treat 1 – *Trichoderma* 2; Treat 2 – *Trichoderma* 8; Treat 3 - Bac 1; Treatment 4 – Extract of *Allamanda Rosa* at 10%; Treatment 5 – Mancozeb Fungicide (Mancozeb Nortox 800 WP®); 6 – Control with *Colletotrichum* sp. inoculation; 7 - Witness only with adhesive spreader. After 24 hours, the fungus *Colletotrichum* sp. was inoculated with and without wounds, by means of spore suspension and PDA disc containing fungal structures. After six days of inoculation, the efficiency of treatments in inhibiting the growth of lesions, sporulation and germination of *Colletotrichum* sp. spores, pH, obrix and loss of fresh fruit mass were evaluated. The treatments *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., *Allamanda rosa* extract and Mancozeb. are efficient in controlling *Colletotrichum* sp. in post-harvest papaya fruits. The fungus *Trichoderma* 2 was the most efficient in controlling *Colletotrichum* sp., when inoculation was performed with wounds, reducing injuries by 73.3%. The *Trichoderma* 2 isolate inhibits sporulation and spore germination of the fungus *Colletotrichum* sp., producing cell wall degrading enzymes. The treatments did not change the chemical and morphological characteristics of the fruits.

Keywords: Biological control, *Colletotrichum* sp., *Trichoderma* spp., *Bacillus* sp..

INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya* L.) é uma fruta de grande importância comercial e econômica amplamente cultivada e consumida nas regiões tropicais e subtropicais (GAO et al., 2020). O Brasil destaca-se sendo o terceiro maior produtor mundial, produzindo 1,1 milhões de toneladas, ficando atrás apenas da Índia com 6 milhões e da Indonésia com 1,2 milhões de toneladas da fruta (FAO, 2022). No Brasil, os maiores produtores são os Estados da Bahia e Espírito Santo, responsáveis por 78% da produção Nacional (IBGE, 2021).

O mamão é um fruto climatérico, por isso, suas alterações resultantes do amadurecimento ocorrem rapidamente, logo após a colheita, desencadeadas pela produção do etileno e a elevação da taxa respiratória (DANTAS et al., 2012). O amadurecimento dos frutos é acompanhado de rápida perda de firmeza, deterioração da qualidade e desenvolvimento de doenças, que reduzem drasticamente a vida útil do fruto (PAULL et al., 1997). As causas de perda pós-colheita são o amadurecimento excessivo, frutos moles e danos por contusões. No entanto, há um consenso geral de que as doenças pós-colheita causadas por fungos são o problema mais importante durante o manuseio e armazenamento (SINGH, 2010; KOLHAR et al., 2022).

As principais infecções fúngicas pós-colheita associadas ao mamão são *Colletotrichum* spp. (antracnose), *Fusarium* spp. (podridão de *Fusarium*), *Alternaria solani* (mancha de *Alternaria*), *Rhizopus stolonifer* (podridão mole de *Rhizopus*), *Penicillium digitatum* (podridão de *Penicillium*), *Guignardia* spp. (mancha de *Guignardia*), *Cercospora papayae* (mancha preta de *Cercospora*) e peduncular causada por um complexo de fungos (HEWAJULIGE e WILSON WIJERATNAM, 2010; KOLHAR et al., 2022).

Uma das principais doenças pós-colheita do mamão é a antracnose (*Colletotrichum* sp.). A antracnose, do grego “carvão” é uma doença limitante para os frutos de mamão, afetando a sua vida útil, podendo causar perdas de até 90% de frutos em estações favoráveis à doença (TATAGIBA et al, 2002). A antracnose do mamoeiro, apesar de ocorrer nos frutos em qualquer estágio de desenvolvimento, é

mais frequente nos frutos maduros. Seus danos a economia são grandes, pois os frutos infectados apresentam manchas decorrentes da doença, aparência de estragados e odor desagradável, fazendo assim com que os frutos percam valor comercial e fiquem impróprios para o consumo humano (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2013; LIU et al., 2017). A infecção dos frutos ocorre ainda no campo, durante o seu desenvolvimento e permanece quiescente até o amadurecimento (FISCHER et al., 2017).

O desenvolvimento de tecnologias alternativas no manejo da antracnose pode minimizar os prejuízos causados pela doença. Neste cenário, a utilização do controle biológico, utilizando espécies de microrganismos com comprovada eficiência no controle de doenças de plantas, como *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp., juntamente com extratos de espécies vegetais, que possuam propriedades fungitóxicas e/ou fungistáticas como a alamanda rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi), pode ser uma alternativa de controle ecologicamente correta e economicamente viável. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp., um isolado de *Bacillus* sp. e extrato de alamanda rosa (*Schinus terebinthifolius*) no controle da antracnose em frutos de mamão 'Sunrise Solo'.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) Cruz das Almas - BA. Foram utilizados os isolados de *Trichoderma* spp., Tricho 2 e Tricho 8, sendo o Tricho 2 selecionado pela eficiência no micoparasitismo e o Tricho 8 pela produção de compostos antifúngicos. Os isolados BAC 1 de *Bacillus* sp. e *Colletotrichum* sp. foram adquiridos na coleção da Clínica Fitossanitária. Foi utilizado um extrato vegetal aquoso de folhas e ramos de alamanda rosa (*Allamanda blanchetii*).

Eficácia de *Trichoderma* spp., extrato vegetal e *Bacillus* sp. contra lesões de *Colletotrichum* sp. em frutos de mamão em pós-colheita.

Frutos de mamão da variedade Sunrise Solo saudáveis sem danos físicos, sinais ou sintomas aparentes de doenças com tamanho e Estágio 3 (frutos com até 50% da superfície amarela) de maturação foram adquiridos diretamente do CEASA do município Feira de Santana – BA. Cada fruto foi desinfestado com hipoclorito de

sódio a 2% durante 5 min, esfregando a superfície suavemente para evitar danos a epiderme, depois os frutos foram lavados com água destilada estéril e deixados para secar à temperatura ambiente por 20 min em papel absorvente.

Os tratamentos utilizados foram: Trat 1 – Tricho 2 na concentração 1×10^8 esporos mL⁻¹; Trat 2 – Tricho 8 na concentração 1×10^8 esporos mL⁻¹; Trat 3 – Bac 1 na concentração 1×10^{10} UFC mL⁻¹; Trat 4 – Extrato de alamanda rosa a 10%; Trat 5 – Fungicida Mancozeb (Mancozeb Nortox 800 WP®) 1 g L⁻¹; 6 – Testemunha com inoculação de *Colletotrichum* sp.; 7 - Testemunha só com espalhante adesivo. Foi acrescentado 0,1 mL L⁻¹ de espalhante adesivo Adesil® para auxiliar na aderência dos tratamentos nos frutos.

A eficácia dos diferentes métodos de controle para suprimir o desenvolvimento de lesões, foi testada adicionando os tratamentos 24 horas antes da inoculação do patógeno no fruto. Para a aplicação dos antagonistas e extrato vegetal, uma suspensão aquosa de cada um dos isolados de *Trichoderma* spp. e de *Bacillus* sp. e um extrato bruto a 10% de *Allamanda blanchetii* foram preparados e adicionados em baldes plásticos de 5 litros, contendo 3 litros de água destilada estéril, ajustando a quantidade para a concentração final desejada.

Os frutos foram mergulhados na solução por 5 minutos. Após esse período, foram acomodados sobre papel absorvente para secarem em ventilação natural por alguns minutos e, em seguida, colocados em sacolas plásticas por 24 horas. Após esse período, retirou-se os sacos e foram feitos ferimentos nos frutos com um “carimbo” feito com uma borracha e alfinetes, com 0,5 cm de diâmetro e 2 mm de profundidade, em dois locais equidistantes. Sobre a superfície de uma das áreas feridas, foi depositado disco de micélio de *Colletotrichum* sp. cultivados em meio BDA por 7 dias, na outra área ferida, foi aplicado vinte microlitros de suspensão de esporos de *Colletotrichum* sp. na concentração 1×10^6 esporos mL⁻¹. No mesmo fruto, em posições equidistantes, foi depositado um disco de BDA contendo micélio de *Colletotrichum* sp. e na outra extremidade, foi aplicado vinte microlitros do patógeno na concentração 1×10^6 esporos mL⁻¹, porém sem a presença de lesões no fruto.

Em seguida, os frutos foram colocados em sacos plásticos com um algodão umedecido, por 24 horas, com o objetivo de criar uma câmara úmida para estabelecimento do patógeno. Depois desse período, retirou-se a câmara úmida, e

os frutos foram mantidos sobre a bancada em temperatura ambiente ± 25 °C, onde foi avaliado o crescimento micelial das colônias do *Colletotrichum* com o auxílio de um paquímetro digital em intervalos de 24 horas, até o sexto dia. A partir dos dados do sexto dia de avaliação, foi determinada a porcentagem de inibição do crescimento da lesão (PICL) (MENTEN et al., 1976) pela fórmula:

$$\text{PICM} = \frac{\text{Diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento} \times 100}{\text{Diâmetro da testemunha}}$$

Após a finalização das avaliações, foi realizado teste de germinação de esporos de *Colletotrichum* sp.. A esporulação do *Colletotrichum* sp. foi avaliada em cada tratamento, selecionando cinco frutos com lesões que apresentavam sinais do patógeno dentro das repetições, após seis dias da inoculação, por meio do preparo de uma suspensão de esporos, obtida pela adição de 10 mL de água destilada nas lesões, raspagem desta com o auxílio de uma escova de dentes esterilizada e filtração em gaze estéril. Posteriormente, uma alíquota de 10 μ L da suspensão foi pipetada na câmara de Neubauer, na qual foi realizada a contagem de esporos totais encontrados nos 4 quadrantes A.

Com os dados da contagem de esporos também foi calculado a porcentagem de inibição da esporulação (PIE) de acordo com as fórmulas apresentadas a seguir: $\text{PIE} = (\text{Etc} - \text{C} / \text{Etc}) \times 100$, onde PIE: porcentagem de inibição da esporulação; Etc: número de esporos do tratamento controle; C: número de esporos do patógeno sobre influência dos isolados dos tratamentos. Em seguida, a suspensão de esporos foi mantida em temperatura ambiente por 24 horas para avaliação de germinação de esporos. Ao término deste período, sob microscópio ótico, realizou-se a contagem de 100 esporos de cada tratamento em cinco repetições, separando os esporos germinados e não germinados. Como esporo germinado, foi considerado o esporo que apresentou tubo germinativo de qualquer tamanho ou largura. Os dados foram transformados em porcentagem de germinação pela mesma fórmula de PIE, substituindo os esporos, por esporos germinados.

Os resultados foram previamente submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Como os dados atenderam às pressuposições de normalidade, foram

submetidos à análise de variância. Para a comparação das médias, foi realizado teste de agrupamentos de medias Scott Knott a 5%, utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.3 Build 77 (FERREIRA, 2011).

Análises pós-colheita dos frutos

No último dia de avaliação, foram realizadas as análises de pH, °Brix e perda de massa fresca dos frutos. A perda de massa fresca foi determinada pela diferença obtida entre a pesagem inicial dos frutos e a pesagem final, sendo os valores expressos em porcentagem.

Os teores de Sólidos solúveis (SS) foram determinados por leitura direta por meio de um refratômetro manual, sendo os resultados expressos em °Brix.

O pH das amostras foi determinado a partir da amostra de 10 g da polpa do mamão triturada e diluída em 40 mL de água destilada. A avaliação foi realizada com o auxílio do peagâmetro digital.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e quatro repetições. Cada unidade experimental foi composta por três frutos com quatro inoculações em cada fruto.

Os resultados foram previamente submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Como os dados atenderam às pressuposições de normalidade, foram submetidos à análise de variância. Para a comparação das médias, foi realizado teste de agrupamentos de medias Scott Knott a 5%, utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.3 Build 77 (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, é possível observar que o tratamento Tricho 8 foi o mais eficiente na redução da lesão causada pelo fungo *Colletotrichum* sp. nos frutos de mamão, quando a inoculação do fitopatógeno foi realizada com suspensão de esporos e sem ferimentos no fruto, apresentado a maior porcentagem de inibição, 97%, formando grupo separado dos demais tratamentos. Os tratamentos Tricho 2, Bac1, alamanda e Mancozeb não diferiram estatisticamente entre si. Com relação ao uso da suspensão no ferimento, os tratamentos Tricho 2 e Alamanda obtiveram os maiores índices de inibição 77,3% e 55,2%, não diferindo estatisticamente. Os

tratamentos Tricho 8, Bac1, e Mancozeb pertenceram ao mesmo grupo, inibindo o crescimento da lesão em 35,2%, 22,8% e 44,4% respectivamente.

Dentre os tratamentos inoculados com discos de BDA sem ferimentos no fruto, Bac 1 com 67,8% e alamanda com 73,3% foram os mais promissores na inibição das lesões causadas por *Colletotrichum* sp.. Na inoculação com disco de BDA em fermento, o tratamento Tricho 2 apresentou a maior porcentagem de inibição, 72,3%, formando grupo isolado dos demais tratamentos.

Tabela 1. Média do diâmetro (cm) e porcentagem de inibição das lesões de *Colletotrichum* sp. em frutos de mamão 'Sunrise Solo', com duas formas de inoculação (suspensão e disco de BDA, com fermento (CF) e sem fermento (SF)), imersos em diferentes tratamentos: *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa e Mancozeb.

Tratamentos	Suspensão				Disco BDA			
	SF	SF%	CF	CF%	SF	SF%	CF	CF%
Tricho 2	0,30 b*	72,7	0,23 a	77,3	0,56 b	48,6	0,58 a	72,3
Tricho 8	0,03 a	97,2	0,65 b	35,2	0,68 b	37,6	1,2 b	42,8
Bac 1	0,45 b	59	0,78 b	22,8	0,35 a	67,8	1,0 b	52,3
Alamanda	0,30 b	72,7	0,45 a	55,2	0,29 a	73,3	1,3 b	38
Mancozeb	0,38 b	65,4	0,56 b	44,4	0,53 b	51,3	0,96 b	54,2
Testemunha	1,1 c	0	1,00 c	0	1,09 c	0	2,10 c	0
CV%	5,48		12,14		8,5		8,4	

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

Dentre os tratamentos, o Tricho 2 apresentou os melhores resultados quando foram realizados ferimentos nos frutos (Figura 1).

Os resultados obtidos no presente trabalho foram superiores aos encontrados por Mendes et al., (2020), ao avaliarem espécies de *Trichoderma* no controle da antracnose do mamoeiro In vitro, inoculando os frutos com disco de BDA e ferimentos, obtiveram 33,32 e 32,6 % de inibição das lesões. Já Oliveira et al., (2016) encontraram resultados semelhantes a este trabalho, ao estudar o controle da podridão pós-colheita causada por *Colletotrichum* sp. em bananeira. Entre os antagonistas utilizados, o fungo *Trichoderma* sp. foi o mais eficaz, com percentual de inibição de 56%.

Com relação à inoculação sem ferimentos, quando realizada com suspensão de esporos, o tratamento Tricho 8 foi o mais eficiente, inibindo 97,2% das lesões. Este isolado foi escolhido na coleção de microrganismos devido à sua alta produção de metabólitos antifúngicos, que foram observados em experimentos In vitro.

Esses resultados estão de acordo com as características de ação do *Trichoderma* sp., O sucesso de uma cepa de *Trichoderma* depende de suas propriedades, tais como, atividade micoparasitica, rápida taxa de crescimento, capacidade de utilizar diferentes substratos, produção de enzimas hidrolíticas extracelulares e metabólitos secundários de baixo peso molecular e antimicrobianos, que são capazes de inibir o crescimento do fitopatógeno alvo, podendo ser voláteis ou não (CARVALHO et al., 2014).



Figura 1: Frutos de mamão 'Sunrise Solo' inoculados com *Colletotrichum* sp., submetidos a diferentes. Figura A, testemunha só inoculada com patógeno. Figura B, *Trichoderma* 2. Figura C, tratamento *Trichoderma* 8. Figura D, tratamento Bac 1. Figura E, tratamento extrato de Alamanda rosa. Figura F, tratamento Mancozeb.

O tratamento Bac 1 foi o mais promissor juntamente com o extrato de alamanda, quando os frutos foram inoculados com suspensão de esporos, com ferimento. Esses resultados com o Bac 1 divergem dos encontrados por Mendes et al., (2020), que em experimento utilizando isolados de *Bacillus* spp., obtiveram 31,1% de índice de inibição da lesão, entretanto vale ressaltar que neste experimento os autores inocularam os frutos com ferimentos.

Com relação ao extrato de alamanda, os resultados corroboram com os encontrados por Demartelaere et al., 2015, que ao avaliar o efeito sobre a ocorrência natural da antracnose em frutos de mamão 'Sunrise Solo', observaram que a alamanda reduziu a severidade da doença.

Já Farah et al., 2013, observaram por meio de microscópio eletrônico de varredura que o extrato ativo de alamanda degradou as hifas do *Colletotrichum gloeosporioides*, prejudicando assim seu crescimento. No mesmo experimento os autores detectaram por meio de cromatografia gasosa-espectrometria de massa, a presença das substâncias químicas, plumericina sitosterol, estigmasterol, esqualeno e γ -tocoferol como componentes da alamanda, que são substâncias com potencial antifúngico já relatado em literatura (NEERMAN, 2003.; YENJIT et al., 2010), provavelmente, a presença destes compostos foi responsável pelos resultados obtidos no experimento.

Apesar de ter sido inserido no experimento apenas como comparativo, o fungicida Mancozeb apresentou os menores índices de porcentagem de inibição da lesão. Esse resultado diferiu dos encontrados por Franco et al. (2012), que ao avaliarem extratos vegetais e fungicidas no controle da antracnose em frutos de mamão, o fungicida Mancozeb apresentou os maiores índices de inibição.

Existem atualmente dez ingredientes ativos registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento liberados para o manejo de doenças em mamoeiro, mas nenhum desses é autorizado para ser empregado na fase de pós-colheita (AGROFIT, 2022). Porém, esta prática não é incomum, com alguns produtores aplicando os fungicidas que são autorizados para a utilização durante a fase de produção, na fase de pós-colheita.

Ao avaliar a porcentagem de inibição de esporulação (PIE) (Tabela 2), o tratamento Tricho 2 apresentou as maiores porcentagens de inibição 62,9%. O mesmo tratamento foi o mais promissor na inibição da porcentagem de germinação, obtendo 67,5% de inibição.

Tabela 2. Porcentagem de inibição da esporulação (PIE) e Porcentagem de inibição da germinação (PIG) de esporos de *Colletotrichum* sp. em frutos de mamão 'Sunrise Solo', imersos em diferentes tratamentos: *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa e Mancozeb.

Tratamentos	PIE %	PIG %
Trichoderma 2	62,9 a*	67,5 a
Trichoderma 8	53,2 b	22,9 b
Bac 3	25,8 c	12,8 b
Alamanda	0,0 d	13,0 b
Mancozeb	23,3 c	28,8 b
Testemunha	0,0 d	0,0 c
CV%	23,2	48,2

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste Scott Knott a 5% de probabilidade.

Ao avaliar os esporos de *Colletotrichum* sp., retirados de uma lesão que estava sendo colonizada pelo isolado de *Trichoderma* sp. Tricho 2 em microscópio óptico, foi possível observar que a parede celular dos esporos do patógeno estavam degradadas, indicando a ação de enzimas degradadoras da parede celular do fungo (Figura 2).



Figura 2: Esporos de *Colletotrichum* sp. apresentando degradação na parede celular devido aos efeitos de compostos liberados pelo isolado de *Trichoderma* sp. Tricho 2.

Harman et al., 2004, descrevem que espécies de *Trichoderma* produzem enzimas degradadoras de parede celular, sendo as mais comuns quitinases, glucanases e proteases, que são fundamentais para o sucesso do micoparasitismo de patógenos.

Análises pós-colheita dos frutos

Na Tabela 3, em todas as análises avaliadas os tratamentos não diferiram da testemunha 2, em que foi aplicado apenas água destilada nos frutos. Para Chitarra e Chitarra (2005), o máximo aceitável para perda de massa em frutos e hortaliças de forma a não comprometer a aparência é 10%. De acordo com os dados obtidos no presente trabalho, todos os tratamentos estão em consenso com a afirmação dos autores.

Tabela 3. Avaliação da perda de massa de frutos (g), porcentagem de perda de massa, sólidos solúveis (SS%) e pH em frutos de mamão ‘Sunrise Solo’, imersos em diferentes tratamentos: *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa e Mancozeb.

Tratamentos	Perda de Massa (g)	Perda de Massa (%)	SS (%)	pH
Trichoderma 2	32,5 a	5,7	10,1 a	5,5 a
Trichoderma 8	34,5 a	6,4	9,9 a	5,4 a
Bac 3	35,4 a	5,9	9,6 a	5,5 a
Alamanda	32,7 a	4,7	10,3 a	5,5 a
Mancozebe	35,8 a	5,6	10,3 a	5,5 a
Testemunha 1	36,3 a	5,8	9,6 a	5,5 a
Testemunha 2	36,6 a	6	10,3 a	5,5 a

CV%	24,2	9,06	2,11
-----	------	------	------

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste Scott knott a 5% de probabilidade.

Para os teores de sólidos solúveis dos frutos, não ocorreu diferença estatística entre os tratamentos avaliados, evidenciando que os teores de açúcares dos frutos não foram alterados com os tratamentos. Alves et al., 2020, encontraram resultados semelhantes, em seus experimentos, em que foi relatado não haver diferença significativa quanto ao teor de sólidos solúveis de frutos de mamão 'Sunrise Solo', tratados com suspensão de *Trichoderma*, *Bacillus* sp. e fungicida.

Segundo Oliveira & Fernandes 2010, o pH expressa a intensidade da condição ácida ou básica de um meio qualquer, cuja determinação é feita com a utilização de um potenciômetro e eletrodos. O pH é importante para as determinações de deterioração do alimento com o crescimento de microrganismos, atividade das enzimas, retenção de sabor e odor de frutas. Figueiredo Neto et al., 2013, relata que o pH ideal do mamão está entre 4,5 e 6,0. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, todos os tratamentos estão nesta faixa.

Os resultados obtidos no presente estudo, evidenciaram que fungos do gênero *Trichoderma* spp., bactérias do gênero *Bacillus* spp e extrato aquoso de alamanda rosa a 10%, apresentaram capacidade de controlar *Colletotrichum* sp.. Diante desses resultados pode-se afirmar que tais controles alternativos apresentam potencial para serem utilizados isolados ou de forma integrada em futuros experimentos em condições de campo.

CONCLUSÕES

Os tratamentos *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de Alamanda rosa e Mancozeb. são eficientes no controle de *Colletotrichum* sp. em frutos de mamão em pós-colheita.

O isolado *Trichoderma* 2, inibe a esporulação e a germinação de esporos do fungo *Colletotrichum* sp., produzindo enzimas degradadoras de parede celular.

Os tratamentos *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de Alamanda rosa e Mancozeb, não alteram a perda de massa, sólidos solúveis e o pH

dos frutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Consulta de ingrediente ativo. 2022.** Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/ap_ing_ativo_detalhe_cons?p_id_ingrediente_ativo=20 Acesso em: 11 de Outubro de 2022.

ALVES, H. T., SÃO JOSÉ, A. R., DOS ANJOS, D. N., BOMFIM, M. P., DE NOVAIS, Q. S., JESUS NOLASCO, D. S. Controle alternativo da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) em frutos de mamão 'Sunrise solo'. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 30331-30346, 2020.

BAUTISTA-BANÕS, S.; SIVAKUMAR, D.; BELLO-PÉREZ, A.; VILLANUEVAARCE, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. A review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. **Postharvest Biology and Technology**, v. 4, p. 8-20. 2013.

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

CHITARRA, M.; CHITARRA, A. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA. Área temática: Engenharia e Tecnologia de Alimentos EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, ISSN, 9207, p. 785. 2005.

DANTAS, J. L. L.; SOUZA, J. S.; PINTO, R. M. S.; LIMA, J. F. Variabilidade genética e melhoramento do mamoeiro. In: **Recursos genéticos e Melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro**. p. 23, 2012.

DEMARTELAERE, A. C. F. et al. Extratos vegetais no controle da antracnose e na conservação da qualidade em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. a00101s1, p. 1041-1048, 2015.

FAOSTAT. Papayas: U.S. **import-eligible countries; world production and exports**. 2022 Recuperado em 12 de Outubro de 2022, de <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> .

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, p.1039- 1042, 2011.

FIGUEIREDO NETO, A.; OLIVIER, N.C.; ROJAS, A.B.G.; SILVA, J.C.; PADILHA, C. Avaliação pós-colheita de mamão variedade 'Formosa' submetido a danos mecânicos e ensaios de compressão durante o armazenamento. **Revista Ciências Técnicas Agropecuárias**, v.22, n.2, p. 5-10. 2013.

FISCHER, I.H.; MORAES, M.F.; Palharini, M.C.A.; Cruz, J.C.S.; Firmino, A.C. Ocorrência de antracnose em abacate, agressividade e sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n.2, p. 130-137, 2017.

FRANCO, A. A., LUNES LAPERA, C. A., PERES, A. R., ROSA, M. E., PINOTTI, C. R., & DE SOUZA, P. A. Controle de antracnose na fruta do mamão utilizando própolis e extratos vegetais de alho e sangra d'água. **Revista Cultura Agrônômica**, v. 21, n. 2, p. 117-122, 2012.

GAO, Q.; TAN, Q.; SONG, Z.; CHEN, W.; LI, X.; ZHU, X. Calcium chloride postharvest treatment delays the ripening and softening of papaya fruit. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 8, p. e14604, 2020.

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

HEWAJULIGE, I. G.; WIJERATNAM, S. W. Alternative postharvest treatments to control anthracnose disease in papaya during storage. **Fresh Produce**, v. 1, n. 1, p. 15-20, 2010.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal**. (2021). Recuperado 14 de Outubro de 2022, de <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/calendario.php#1>.

KOLHAR, A. H.; RUDRESH, D. L.; JHALEGAR, M. J. Effect of postharvest application of biocontrol agents on quality attributes and shelf-life of papaya (*Carica papaya* L.). **The Pharma Innovation Journal**, v. 1, p. 2712-2717, 2022.

LIU, J.; SUI, Y.; WISNIEWSKI, M.; XIE, Z.; LIU, Y.; YOU, Y.; ZHANG, X.; SUN, Z.; LI, W.; LI, Y.; WANG, Q The impact of the postharvest environment on the viability and virulence of decay fungi. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 58, n. 10, p. 1681-1687, 2018.

OLIVEIRA, E.S.; VIANA, F.M.P.; MARTINS, M.V.V. Alternativas a Fungicidas Sintéticos no Controle da Antracnose da Banana. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.4, p.340-350, 2016.

OLIVEIRA, R.; FERNANDES, C. **Estudo e determinação do “pH”**. 2016 Disponível em < <http://www.dec.ufcg.edu.br/saneamento/PH.html>>. Acesso em: 12 de outubro de 2022.

PAULL, R. E.; NISHIJIMA, W.; REYES, M.; CVALETTTO, C. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest biology and technology**, v. 11, n. 3, p. 165-179, 1997.

TATAGIBA, J. S.; LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; COSTA, H. É. L. C. I. O. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, n.2, p.186-192, 2002.

ARTIGO 3**MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS E EXTRATO DE ALAMANDA NO
CONTROLE DA INCIDÊNCIA NATURAL DE ANTRACNOSE E PODRIDÃO
PEDUNCULAR DO MAMÃO**

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Biological Control, em versão na língua inglesa.

MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS E EXTRATO DE ALAMANDA NO CONTROLE DA INCIDÊNCIA NATURAL DA ANTRACNOSE E PODRIDÃO PEDUNCULAR DO MAMÃO

RESUMO: O mamão (*Carica papaya* L.) é um fruto altamente perecível e suscetível a doenças pós-colheita. Entre as principais doenças, a antracnose e a podridão peduncular destacam-se por limitar a vida útil dos frutos. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp., um isolado de *Bacillus* sp. e extrato aquoso de alamanda rosa (*Schinus terebinthifolius*) no controle da ocorrência natural da antracnose e podridão peduncular em frutos de mamão 'Sunrise Solo'. Para tanto, foram realizados ensaios de porcentagem de inibição do número de lesões naturais de antracnose e redução do índice de podridão peduncular em frutos de mamão. Nos ensaios, os frutos foram imersos por

5 minutos em baldes contendo os tratamentos: *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa 10%, Mancozeb e testemunha (apenas água). Após as avaliações foi constatado que os tratamentos *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa e Mancozeb são eficientes na redução da ocorrência natural de lesões da antracnose em frutos de mamão em pós-colheita.

Os tratamentos *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa e Mancozeb, apresentaram pouca ou nenhuma eficiência na redução do índice da ocorrência natural da podridão peduncular do mamão.

Palavras chaves: Controle biológico, *Trichoderma* spp., *Bacillus* sp., Controle alternativo, Fitossanidade, Doenças pós-colheita.

ANTAGONIST MICROORGANISMS AND ALAMANDA EXTRACT IN THE CONTROL OF THE NATURAL INCIDENCE OF ANTHRACNOSIS AND STEM ROT OF PAPAYA.

ABSTRACT: Papaya (*Carica papaya* L.) is a highly perishable fruit and is susceptible to post-harvest diseases. Among the main diseases that affect the fruits, anthracnose and peduncular rot stand out for limiting the shelf life of the fruits. Thus, the present work aimed to evaluate the potential of *Trichoderma* spp. isolates, an isolate of *Bacillus* sp. and aqueous extract of *Alamanda rosa* (*Schinus terebinthifolius*) in the control of the natural occurrence of anthracnose and stem rot in 'Sunrise Solo' papaya fruits. For that, assays of percentage of inhibition of the number of natural lesions of anthracnose and reduction of the index of stem rot in papaya fruits were carried out. In the tests, the fruits were immersed for 5 minutes in buckets containing the treatments: *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., *Alamanda rosa* extract 10%, Mancozeb and control (water only). After the evaluations, it was found that the treatments *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., *Alamanda rosa* extract and Mancozeb are efficient in reducing the natural occurrence of anthracnose lesions in papaya fruits in post-harvest. The treatments *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., *Alamanda rosa* extract and Mancozeb, showed little or no efficiency in reducing the rate of natural occurrence of papaya stem rot.

Keywords: Biological control, *Trichoderma* spp., *Bacillus* sp., Alternative control; Plant health, Postharvest diseases.

INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya* L.) é um fruto altamente perecível e suscetível a doenças pós-colheita. Entre as principais doenças que acometem os frutos, a antracnose e a podridão peduncular destacam-se por limitar a vida útil dos frutos. O fruto manchado por doenças fúngicas não é comercializado no mercado externo ou no mercado interno mais exigente e, quando comercializado para o consumidor menos exigente, sofre grande desvalorização comercial (COSTA; PACOVA, 2003, KUHLCAMP et al., 2022).

A podridão peduncular é uma das doenças que mais causam prejuízos na pós-colheita do mamão e tem como agente causal, um complexo de fungos. Neste complexo de patógenos estão envolvidos fungos como *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp., *Phoma caricae-papayae* (Tarr.), *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maulb., *Phomopsis caricae-papayae* Petr. & Cif., *Rhizopus* sp. (Ehrenb., Fr.) Vuill. e *Phytophthora palmivora*, estas doenças ocorrem quando o fungo penetra o pedúnculo com ferimentos ou em aberturas entre o pedúnculo e o fruto (NERY-SILVA, 2007; TERAO et al., 2019).

As perdas ocasionadas pela podridão peduncular podem ocorrer ainda nos pomares, ocasionando a redução da produtividade dos mamoeiros e, em uma fase posterior, a diminuição da longevidade produtiva do pomar (JUNQUEIRA et al., 1996). O controle da doença é dificultado em razão da variada gama de hospedeiros do fungo. O controle químico não tem demonstrado eficiência, sendo então indicada a utilização de uma série de medidas alternativas de controle como a termoterapia e o controle biológico (TAVARES, 1995, PEREIRA et al., 2006; MANGOLIN et al., 2019).

Dentre as principais doenças que atacam os frutos de mamão, destaca-se a antracnose por limitar a vida útil dos frutos. Mesmo sem apresentar sintomas ou sinais quando colhidos, a doença se manifesta na fase de pós-colheita, durante o armazenamento e o transporte, o que torna os frutos impróprios para o comércio, causando significativo percentual de perdas. De forma geral, esta doença é associada ao fungo *Colletotrichum gloesporioides* como agente causal. Entretanto, este gênero apresenta um complexo de espécies associadas à antracnose, que são

morfologicamente semelhantes, mas geneticamente diferentes, porém, causam o mesmo quadro sintomatológico (LIMA et al., 2012).

Neste cenário, a utilização do controle biológico utilizando espécies de microrganismos com comprovada eficiência no controle de doenças de plantas, como *Bacillus* spp. e *Trichoderma* spp., juntamente com extratos de espécies vegetais, que possuam propriedades fungitóxicas e/ou fungistáticas como a alamanda rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi), pode ser uma alternativa de controle ecologicamente correta e economicamente viável. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de isolados de *Trichoderma* spp., um isolado de *Bacillus* sp. e extrato aquoso de alamanda rosa (*Schinus terebinthifolius*) no controle da ocorrência natural da antracnose e podridão peduncular em frutos de mamão 'Sunrise Solo'.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Clínica Fitossanitária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), em Cruz das Almas - BA. Foram utilizados os isolados de *Trichoderma* spp., Trichoderma 2 e Trichoderma 8, sendo o Trichoderma 2 selecionado pela eficiência no micoparasitismo e o Trichoderma 8 pela produção de compostos antifúngicos. O isolado Bac1 de *Bacillus* sp. foi adquirido na coleção da Clínica Fitossanitária. Foi utilizado um extrato vegetal aquoso de folhas e ramos de alamanda rosa (*Allamanda blanchetii*) a 10%.

Eficácia de *Trichoderma* spp., extrato vegetal e *Bacillus* sp. na inibição da ocorrência natural de lesões de antracnose em frutos de mamão 'Sunrise Solo' em pós-colheita.

Frutos de mamão da cultivar 'Sunrise Solo' saudáveis sem danos físicos, sem sinais ou sintomas aparentes de doenças com aproximadamente 500 g e Estágio 2 (frutos com até 25% da superfície amarelada) de maturação foram adquiridos diretamente do CEASA do município de Feira de Santana – BA. Cada fruto foi desinfetado com hipoclorito de sódio a 2% durante 5 min, esfregando a superfície suavemente para evitar danos a epiderme. Em seguida os frutos foram lavados com água destilada estéril e deixados para secar à temperatura ambiente por 20 min em

papel absorvente.

Os tratamentos utilizados foram: Trat 1 – *Trichoderma* 2 na concentração 1×10^8 esporos mL⁻¹; Trat 2 – *Trichoderma* 8 na concentração 1×10^8 esporos mL⁻¹; Trat 3 – Bac 1 na concentração 1×10^{10} UFC mL⁻¹; Trat 4 – Extrato de alamanda rosa a 10%; Trat 5 – Fungicida Mancozeb (Mancozeb Nortox 800 WP®) 1 gL⁻¹; 6 – Testemunha só com espalhante adesivo. Foi acrescentado 0,1 mL L⁻¹ de espalhante adesivo Adesil® para auxiliar na aderência dos tratamentos dos frutos.

Para a aplicação dos antagonistas e extrato vegetal, uma suspensão aquosa de cada um dos isolados de *Trichoderma* spp. e de *Bacillus* sp. e um extrato bruto de *Allamanda blanchetii* foram preparados e adicionados em baldes plásticos de 5 litros, contendo 3 litros de água destilada estéril, ajustando a quantidade para a concentração final desejada. Os frutos foram mergulhados na solução por 5 minutos (Figura 1). Após esse período, os frutos foram acomodados sobre papel absorvente para secarem em ventilação natural por alguns minutos e, em seguida, foram mantidos sobre a bancada em temperatura ambiente ± 25 °C.



Figura 1: Imersão dos mamões no tratamento extrato de alamanda rosa 10%.

As avaliações foram realizadas aos 3, 5 e 7 dias após a aplicação dos

tratamentos e consistiram na contagem de lesões características de antracnose que surgiram naturalmente por fruto. Foram nove repetições sendo cada repetição de um fruto. A partir dos dados, foi determinada a porcentagem de inibição do número de lesões (PINL) (MENTEN et al., 1976) pela fórmula:

$$\text{PICM} = \frac{\text{Diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento} \times 100}{\text{Diâmetro da testemunha}}$$

Os resultados foram previamente submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk). Como atenderam às pressuposições de normalidade, foram submetidos à análise de variância. Para a comparação das médias, foi realizado teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.3 Build 77 (FERREIRA, 2011).

No sétimo dia, foi realizada a avaliação de podridão peduncular, onde os frutos foram cortados longitudinalmente com o auxílio de uma faca, posteriormente foram atribuídas notas aos sintomas, de acordo com a escala de notas de severidade da doença proposta por Nery-Silva et al., 2007 (Figura 2).

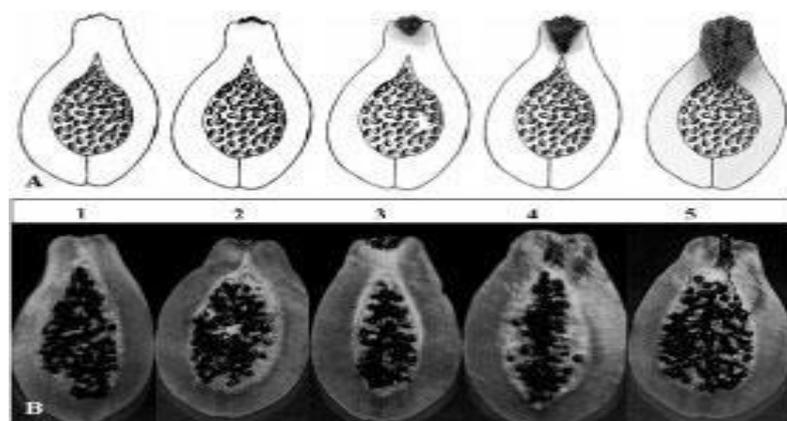


Figura 2. Escala de notas para avaliação de sintomas de podridão peduncular no mamão (NERY-SILVA et al., 2007).

A escala de severidade da doença é representada por: 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, e 5- Lesões semelhantes às descritas para a nota 4, abrangendo maior extensão na polpa do fruto, podendo chegar até a cavidade das sementes, com excessivo amaciamento dessa região.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com nove repetições por tratamento, sendo cada fruto uma repetição, entretanto, o tratamento controle foi avaliado primeiro para a verificação de quantos frutos estavam apresentando sintomas internos de podridão peduncular. A partir das notas, os dados foram transformados para serem calculados os índices da doença (ID), utilizando a formula de McKinney (MCKINNEY, 1923), onde $ID = \frac{\sum (\text{grau da escala} \times \text{frequência}) \times 100}{(N^{\circ} \text{ total de unidades} \times \text{grau máximo da escala})}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao observar a Tabela 1, foi possível verificar que no terceiro dia de avaliação todos os tratamentos inibiram significativamente o número de lesões de antracnose nos frutos de mamoeiro, com destaque para o tratamento alamanda rosa que inibiu em 88,7% a porcentagem do número de lesões (PINL), porém, não diferindo estatisticamente dos outros tratamentos. No quinto dia de avaliação, novamente, todos os tratamentos avaliados inibiram o crescimento de lesões, com a alamanda rosa destacando-se, por apresentar 75,7 % de PINL. Já no sétimo dia, os tratamentos *Trichoderma 2*, *Trichoderma 8*, *Bacillus sp.* e alamanda rosa obtiveram os melhores resultados de PINL, não diferindo estatisticamente, do tratamento alamanda rosa que inibiu as lesões em 88,5% (Figura 3).

Tabela 1. Porcentagem de inibição do número de lesões de antracnose em frutos de mamão ‘Sunrise Solo’, imersos em diferentes tratamentos: *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa, Mancozeb e testemunha.

Tratamentos	3 Dias	5 Dias	7 Dias
Trichoderma 2	77,5 a*	68,2 a	66,2 ab
Trichoderma 8	65,0 a	74,3 a	65,5 ab
Bac 1	79,3 a	71,5 a	70,1 ab
Alamanda	88,7 a	75,7 a	88,5 a
Mancozeb	63,4 a	55,8 a	52,3 b
Testemunha	0,0 b	0,0 b	0,0 c
CV%	33,2	39,06	39,6

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados observados no presente trabalho diferem dos encontrados por Demartelaere et al., 2015, onde, ao avaliarem a ocorrência natural de antracnose em mamões da variedade ‘Sunrise Solo’, relataram que o óleo essencial de alamanda rosa não apresentou eficiência na redução do número de lesões de antracnose. Entretanto, vale salientar que os autores utilizaram óleo essencial, uma forma diferente de extração dos metabólitos secundários que são responsáveis pela ação antifúngica. Os mesmos autores avaliaram produtos alternativos na redução da severidade das lesões de antracnose e constataram que o óleo de alamanda rosa foi o produto mais eficiente na redução da severidade da doença.



Figura 3: Frutos de mamão ‘Sunrise Solo’ submetidos a diferentes tratamentos. (A), testemunha. (B), tratamento *Trichoderma* 2. (C), tratamento *Trichoderma* 8. (D), tratamento Bac 1. (E), tratamento extrato de alamanda rosa. (F), tratamento Mancozeb.

Já Farah et al. (2013), reduziram a severidade da antracnose em frutos de mamão ‘Sunrise Solo’ em 75% utilizando extrato etanólico de alamanda rosa. No mesmo experimento os autores investigaram os compostos presentes na alamanda rosa que poderiam ter ação contra o *Colletotrichum* sp., foram eles a plumericina sitosterol, o estigmasterol, o esqualeno e o γ -tocoferol, os quais são substâncias com potencial antifúngico já relatado em literatura (NEERMAN, 2003.; YENJIT et al., 2010), provavelmente estes compostos foram os responsáveis pelos resultados obtidos também no presente experimento.

Hasan et al., 2012, avaliaram isolados de *Bacillus* sp. no controle da antracnose, os resultados mostraram que o *Bacillus* sp. foi responsável por inibir em 62% a severidade da doença, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo com o isolado de *Bacillus* sp, Bac 1. A inibição dos fungos por metabólitos produzidos por isolados de *Bacillus*, está ligada diretamente a presença de antibióticos. Esses compostos incluem predominantemente peptídeos (KATZ; DEMAIN, 1977), que são sintetizados ribossomicamente ou não-

ribossomicamente (STEIN, 2005). Os antibióticos peptídicos ribossômicos são sintetizados durante o crescimento ativo da bactéria, enquanto os não-ribossômicos são sintetizados após o crescimento das bactérias ter cessado (SHIFA et al., 2015). Os tipos e quantidades de antibióticos produzidos variam de acordo com o meio de crescimento (AKPA et al., 2001). Então o sucesso de um isolado de *Bacillus* na redução da antracnose depende diretamente da capacidade da bactéria de colonizar e se manter ativa no fruto.

É possível observar na Figura 4, que o índice de doença (ID) da podridão peduncular nos frutos de mamão foi reduzido em diferentes porcentagens. Entretanto, a diferença dos tratamentos para o controle foi baixa (Figura 5), podendo ser destacado o tratamento Trichoderma 8, que apresentou 12% a menos de ID do que a testemunha. O tratamento Trichoderma 2 apresentou o mesmo índice de doença da testemunha, 62%.

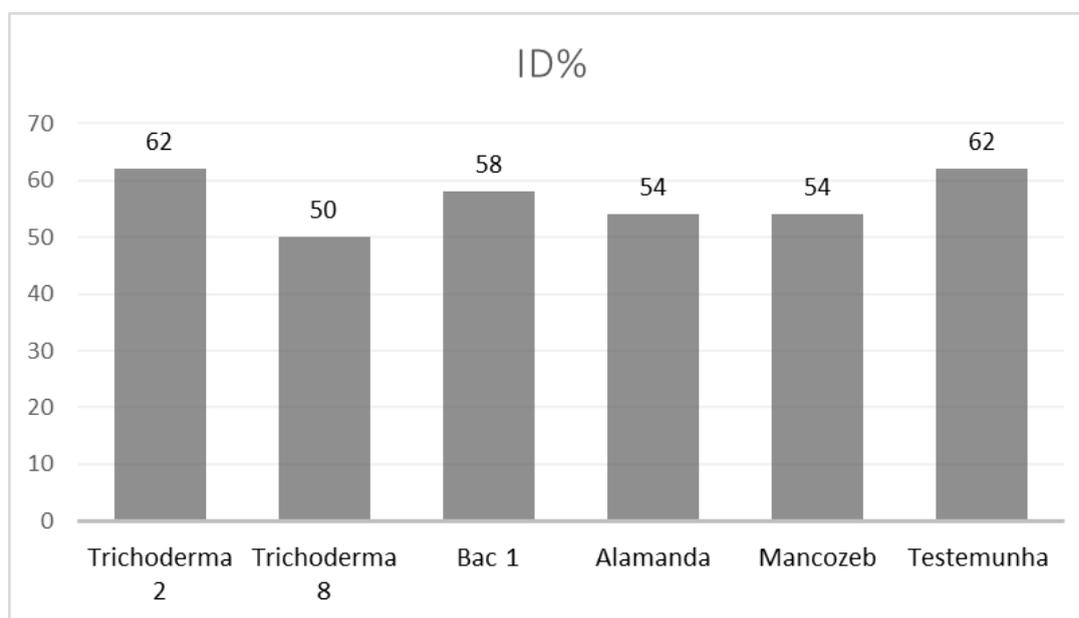


Figura 4: Índice de doença (ID) apresentado por cada tratamento, calculados a partir dos sintomas internos de podridão peduncular.

Bedine et al., 2022, em experimentos avaliando isolados de *Trichoderma* spp. na redução da podridão peduncular do mamoeiro, encontraram resultados distintos dos observados no presente estudo. Os isolados de *Trichoderma* inibiram em até 75% a incidência da doença, valores muito superiores aos observados na Figura 4. Os mesmos autores relatam que a eficiência da inibição do fungo antagonista foi diferente para cada isolado, indicando que cada espécie apresenta mecanismos de ação diferentes, que estão diretamente relacionados com a

eficácia no controle do fitopatógeno.

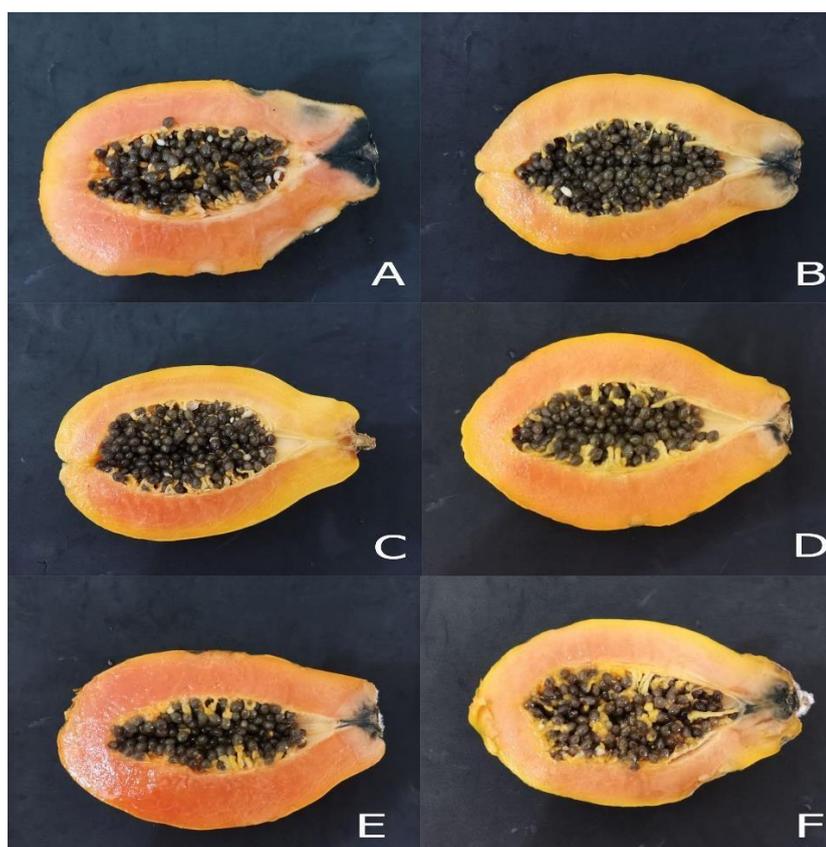


Figura 5: Frutos de mamão ‘Sunrise Solo’ submetidos a diferentes tratamentos contra a ocorrência natural de podridão peduncular. (A), testemunha. (B), *Trichoderma* 2. (C), tratamento *Trichoderma* 8. (D), tratamento Bac 1. (E), tratamento extrato de alamanda rosa. (F), tratamento Mancozeb.

Zhan et al. (2022), em experimento utilizando isolados de *Trichoderma* spp. no controle da podridão peduncular de manga, obteve 50% de redução das lesões. Ao avaliarem em microscopia de varredura, observaram que os isolados de *Trichoderma* produziram enzimas que degradaram as hifas do fungo causador da podridão, os autores também relataram que os compostos produzidos pelos isolados incluíam 13-docosenamida, ácido hexanodióico, 2-etilhexil e octadecanamida, que são substâncias com comprovada ação antifúngica.

Demoz & Korsten (2006), ao avaliarem isolados de *Bacillus* sp. na redução da incidência de podridão peduncular em abacate, obtiveram resultados promissores, o que difere do estudo aqui apresentado, uma vez que o isolado de *Bacillus* sp. Bac 1 não foi promissor no controle da podridão peduncular.

Os resultados obtidos no presente estudo, evidenciam que fungos do gênero *Trichoderma* spp., bactérias do gênero *Bacillus* spp e extrato aquoso de alamanda

rosa a 10%, apresentam capacidade de controlar a incidência e o número de lesões da antracnose em ocorrência natural. Diante desses resultados, pode-se afirmar que tais controles alternativos apresentam potencial para serem utilizados isolados ou de forma integrada em futuros experimentos em condições de campo. Com relação a podridão peduncular, outros estudos em laboratório fazem-se necessários para a avaliação do comportamento dos antagonistas e do extrato vegetal, frente aos diferentes patógenos relacionados a podridão peduncular do mamão.

CONCLUSÕES

Os tratamentos *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa e Mancozeb. são eficientes na redução da ocorrência natural de lesões da antracnose em frutos de mamão em pós-colheita.

Os tratamentos *Trichoderma* 2, *Trichoderma* 8, *Bacillus* sp., extrato de alamanda rosa e Mancozeb, apresentam pouca ou nenhuma eficiência na redução do índice da ocorrência natural da podridão peduncular do mamão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DANTAS, J. L. L.; SOUZA, J. S.; PINTO, R. M. S.; LIMA, J. F. Variabilidade genética e melhoramento do mamoeiro. In: **Recursos genéticos e Melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro**. 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, p.1039- 1042, 2011.

FONTES, R. V.; SANTOS, M. P.; FALQUETO, A. R.; SILVA, D. M. Atividade da pectinametilesterase e sua relação com a perda de firmeza da polpa de mamão cv. Sunrise Solo e Tainung. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal**, v.30, n.1, p.54-58, 2008.

JUNQUEIRA, N. T. V.; CUNHA, M. M.; OLIVEIRA, M. A. S.; PINTO, A. C. Q. Graviola para exportação: Aspectos fitossanitários. Brasília. **EMBRAPA-SPI**, p.67, 1996.

McKINNEY, H. H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 26, p.195-217, 1923.

TERAO, D.; DE LIMA NECHET, K.; FRIGHETTO, R. T. S.; SASAKI, F. F. C. Ozonated water combined with heat treatment to control the stem-end rot of papaya. **Scientia Horticulturae**, v. 257, p. 108-722, 2019.

LIMA, J. R.; VIANA, F. M. P.; LIMA, F. A.; LIMA, J. S.; PIENIZ, V.; GONÇALVES, L. R. B. Biocontrole da antracnose pós-colheita do mamão com levedura killer. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 59 / Embrapa Agroindústria Tropical**, Fortaleza-CE. P. 20, 2012.

BEDINE, M. A. B., TAÏEB, N., AGRIOPOULOU, S., MICHÉ, L., MOUSSANGO, D., SAMEZA, M. L., FEKAM BOYOM, F. Identification of native soil-derived *Trichoderma* spp. isolates and analysis of their antagonist traits against *Lasiodiplodia theobromae*

causing stem-end rot in papaya. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, p. 1-29, 2022.

ZHAN, X.; KHAN, R. A. A.; ZHANG, J.; CHEN, J.; YIN, Y.; TANG, Z. Biocontrol Efficacy of *Trichoderma Pinnatum* Ls029-3 Against *Botryodiplodia Theobromae* Causing Postharvest of Stem-End Rot Disease on Mango. **SSRN**, p. 1-20, 2022.

DEMOZ, B. T.; KORSTEN, L. *Bacillus subtilis* attachment, colonization, and survival on avocado flowers and its mode of action on stem-end rot pathogens. **Biological Control**, v. 37, n. 1, p. 68-74, 2006.

HASAN, M. F., MAHMUD, T. M. M., DING, P., & KADIR, J. Control of postharvest anthracnose disease and quality of papaya using *Bacillus subtilis* strain B34 enhanced with sodium bicarbonate and Aloe vera gel. In: **VII International Postharvest Symposium 1012**. 2012. p. 653-660.

KATZ, E.; DEMAINE, A. L. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. **Bacteriological reviews**, v. 41, n. 2, p. 449, 1977.

STEIN, T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. **Molecular microbiology**, v. 56, n. 4, p. 845-857, 2005.

SHIFA, H.; GOPALAKRISHNAN, C.; VELAZHAHAN, R. Characterization of antifungal antibiotics produced by *Bacillus subtilis* G1 antagonistic to *Sclerotium rolfsii*. **Biochemical and Cellular Archives**, v. 15, p. 99-104, 2015.

AKPA, E.; JACQUES, P.; WATHELET, B.; PAQUOT, M.; FUCHS, R.; BUDZIKIEWICZ, H.; THONART, P. Influence of culture conditions on lipopeptide production by *Bacillus subtilis*. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 91, n. 1, p. 551-561, 2001.

MANGOLIN, G. S., KONDA, É. T., BAPTISTA, R. Z., SANTOS NASCIMENTO, R., TERAPO, D. Tratamento hidrotérmico no controle de podridão penduncular em mamão papaya. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 5, p. 1615-1623, 2019.

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

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.31n.6, p.572-578, 2006.

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

TAVARES, S. C. C. H. Principais doenças da mangueira e alternativas de controle. Informações técnicas sobre a cultura da manga no Semi-Árido Brasileiro. DF. **EMBRAPA-CPATSA**. 1995.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ensaios realizados neste trabalho visaram a redução da incidência da antracnose e da podridão peduncular no mamão em pós-colheita, utilizando microrganismos antagonistas e extrato vegetal para o controle. Essa prática está em harmonia com a exigência crescente da população mundial por alimentos mais saudáveis e sem resíduos de agrotóxicos. Estes resultados abrem novos caminhos para pesquisas em controle biológico, no sentido de elucidar a possibilidade da utilização de agentes biocontroladores em conjunto, com intuito de um melhor entendimento das relações entre os microrganismos antagonistas, o patógeno e a planta ou fruto hospedeiro, para que haja, no futuro, a possibilidade de desenvolvimento de manejos integrados, utilizando diferentes técnicas em conjunto visando à redução da incidência da antracnose e podridão peduncular em condições de campo.