

Fischer, I.H.; Fileti, M.S.; Almeida, A.M.; Cruz, J.C.S; Firmino, A.C.; Palharini, M.C.A. Detecção de *Colletotrichum gloeosporioides* em abacates imaturos e severidade de antracnose. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

1 **Detecção de *Colletotrichum gloeosporioides* em abacates imaturos e**
2 **severidade de antracnose. Ivan H. Fischer¹; Mirian S. Fileti¹; Aparecida M.**
3 **Almeida¹; Juliana C. S. Cruz¹; Ana C. Firmino²; Maria C. A. Palharini¹**

4
5 ¹APTA Polo Centro Oeste, Av. Rodrigues Alves, 40-40, 17030-000 – Bauru – SP.
6 ihfische@apta.sp.gov.br, miriansf@apta.sp.gov.br, almeida@apta.sp.gov.br, cruzjcs@apta.sp.gov.br,
7 mcarruda@apta.sp.gov.br;

8 ²UNESP/FCA, C.P. 237, 18603-970 – Botucatu - SP. anacarfir@gmail.com

9
10 **RESUMO**

11 As doenças pós-colheita são responsáveis por importantes perdas na cultura do abacate.
12 Objetivou-se avaliar metodologias para detectar infecções latentes de *Colletotrichum*
13 *gloeosporioides*, agente causal da antracnose, em frutos imaturos de abacate e
14 caracterizar a patogenicidade de 50 isolados de *C. gloeosporioides*. Frutos imaturos de
15 abacate ‘Hass’, desinfestados por imersão em NaOCl (0,5%), foram imersos por 1
16 minuto em ethrel (0,1 g.L⁻¹), paraquat (3 g.L⁻¹) ou água. Em seguida, foram incubados
17 sob luz, a 25°C, sendo mantidos em câmara úmida nas primeiras 24 horas. Avaliou-se a
18 incidência do patógeno aos cinco, dez e quinze dias de incubação dos frutos. Na
19 caracterização patogênica, frutos comerciais de abacate ‘Margarida’ foram
20 desinfestados e inoculados com disco de BDA contendo estruturas do isolado e após
21 quatro dias mensuraram-se os diâmetros das lesões. Maior detecção de *C.*
22 *gloeosporioides* em frutos imaturos foi obtida com paraquat, aos cinco (53%) e dez dias
23 (58%), possibilitando uma detecção rápida e precisa das infecções latentes do patógeno.
24 Todos os isolados de *C. gloeosporioides* foram patogênicos em abacates ‘Margarida’,
25 causando lesões entre 1,70 a 2,85 cm, evidenciando uma baixa variabilidade na
26 agressividade.

27 **PALAVRAS-CHAVE:** *Persea americana*, doença pós-colheita.

28 **ABSTRACT**

29 **Detection of *Colletotrichum gloeosporioides* in unripe avocados and severity of**
30 **anthracnose**

31 Postharvest diseases account for major losses in avocado crop. This study aimed to
32 evaluate methodologies to detect latent infections of *Colletotrichum gloeosporioides*,

33 the causal agent of anthracnose, in immature fruits of avocado and characterize the
34 pathogenicity of 50 isolates of *C. gloeosporioides*. Immature fruit of avocado 'Hass'
35 after disinfected by immersion in NaOCl (0.5%), were immersed for 1 minute in ethrel
36 (0.1 g.L⁻¹) paraquat (3 g.L⁻¹) or water. They were then incubated under light at 25°C and
37 kept in a moist chamber in the first 24 hours. Pathogen incidence was assessed at five,
38 ten and fifteen days of fruit incubation. In pathogenic characterization of isolates,
39 commercial avocado fruit 'Margarida' were disinfected and inoculated with PDA disc
40 containing isolated structures, and the diameters of the lesions were measured after four
41 days. Greater detection of *C. gloeosporioides* in unripe fruit was obtained by paraquat,
42 at five (53%) and ten days (58%), enabling a quick and accurate detection of latent
43 infection of the pathogen. All isolates of *C. gloeosporioides* were pathogenic in
44 avocados 'Margarida', causing lesions between 1.70 to 2.85 cm, showing a low
45 variability in aggressiveness.

46 **Keywords:** *Persea americana*, postharvest disease.

47

48 INTRODUÇÃO

49 O abacateiro (*Persea americana* Mill.) é afetado por diversas doenças que ocorrem ou
50 manifestam-se tanto em pré como em pós-colheita. A doença fúngica antracnose,
51 causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, foi a principal doença pós-colheita em
52 abacates 'Hass' amostrados em *packinghouse* paulista, com incidência média de 68,7%
53 após 15 dias de armazenamento a 25°C (FISCHER et al., 2011).

54 A antracnose afeta principalmente frutos, iniciando-se por pequenas pontuações de
55 coloração escura e formato circular. As lesões tendem a evoluir atingindo parte do fruto
56 ou necrosando-o completamente. A infecção ocorre no campo durante o
57 desenvolvimento do fruto e permanece quiescente até o amadurecimento por condições
58 fisiológicas impostas pelo hospedeiro, de modo que os frutos são colhidos
59 aparentemente sadios e manifestam os sintomas da doença apenas durante o
60 armazenamento e comercialização. Já existe metodologia para detecção da infecção
61 quiescente de *Colletotrichum* spp. em manga com paraquat (PARAMASIVAN et al.,
62 2009) e em banana (LAPEYRE DE BELLAIRE et al., 2008) com ethrel, substância
63 precursora do hormônio etileno. A atividade do herbicida paraquat, mediada pela luz,
64 gera radicais livres, os quais induzem a peroxidação de lipídeos e perda da integridade

65 da membrana após a sua aplicação (DODGE, 1971). Dessa forma, os frutos tratados são
66 induzidos à senescência e os patógenos passam a expressar seus sintomas. Já o etileno
67 promove o amadurecimento dos frutos, levando a mudanças bioquímicas e fisiológicas
68 necessárias para que o fungo suplante o estágio de quiescência e expresse de forma
69 rápida os sintomas de antracnose (PRUSKY et al., 1996). A detecção de infecções
70 quiescentes é importante em estudos epidemiológicos porque os tratamentos efetuados
71 no campo podem ser avaliados e efetuados de modo mais eficiente.

72 Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivos avaliar metodologias para
73 detectar infecções latentes de *C. gloeosporioides* em frutos imaturos de abacate e
74 caracterizar a patogenicidade de 50 isolados de *C. gloeosporioides*.

75

76 MATERIAL E MÉTODOS

77 Trezentos frutos imaturos de abacate ‘Hass’, com tamanho médio de 0,8cm de
78 comprimento, foram coletados de 50 plantas de um pomar comercial localizado em
79 Bauru, SP, com histórico de antracnose, sendo seis frutos por planta. Os frutos foram
80 desinfestados por imersão com NaOCl (0,5%) por 5 minutos e lavados em água corrente
81 para retirada do excesso do produto. Em seguida, 100 frutos foram imersos por 1 minuto
82 em ethrel (0,1 g.L⁻¹), paraquat (3 g.L⁻¹) ou água (controle). Os frutos tratados com
83 paraquat foram enxaguados em água corrente por mais 3 minutos para retirada do
84 excesso do produto. Os frutos foram incubados individualmente em bandejas plásticas
85 sob luz, a 25°C, sendo mantidos em câmara úmida nas primeiras 24 horas. As
86 avaliações de incidência do patógeno *C. gloeosporioides* foram realizadas com auxílio
87 de microscopia óptica aos cinco, dez e quinze dias da incubação dos frutos. Comparou-
88 se a incidência da doença pelo teste não-paramétrico de comparação de múltiplas
89 proporções ao nível de 5% de probabilidade (ZAR, 1999).

90 A partir dos frutos imaturos doentes foi realizado o isolamento direto de *Colletotrichum*
91 em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), obtendo-se 50 isolados do patógeno,
92 representando as 50 plantas amostradas do pomar. Para caracterização da agressividade,
93 disco de meio BDA com 6 mm de diâmetro contendo estruturas do fungo, proveniente
94 das extremidades de colônias cultivadas por 5 dias, sob luz contínua, a 25°C, foram
95 inoculados no centro de frutos de abacates ‘Margarida’ previamente desinfestados com
96 álcool (70%) e hipoclorito de sódio (0,5%) e feridos com furador de 6 mm esterilizado.

97 A incubação foi realizada no escuro a 25°C. O experimento foi conduzido em
98 delineamento inteiramente casualizado com três repetições por tratamento, onde cada
99 parcela experimental foi representada por um fruto inoculado. Frutos inoculados apenas
100 com disco de meio BDA não colonizado foram utilizados como controle. Os diâmetros
101 perpendiculares das lesões foram mensurados com paquímetro quatro dias após a
102 inoculação. Os dados foram submetidos a análise da variância e as médias comparadas
103 entre si, pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade, com o programa
104 estatístico Sisvar (UFLA, Lavras).

105

106 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

107 Aos cinco dias de incubação, os acérvulos e conídios de *Colletotrichum* foram
108 visualmente detectados em 53% dos frutos tratados com paraquat e 3% dos frutos
109 tratados com ethrel e no tratamento controle. Aos dez dias de incubação, a detecção foi
110 de 58, 28 e 30%, respectivamente, sendo constatada diferença ($p < 0,05$) entre paraquat e
111 os demais tratamentos aos cinco e dez dias de avaliação (Figura 1A e Tabela 1). O
112 tratamento de frutos de manga com paraquat antecipou em 4-5 dias os sintomas de
113 antracnose, auxiliando em decisões quanto ao tempo de armazenamento, exportação e
114 oferta do fruto no mercado local indiano (PARAMASIVAN et al., 2009). Ao final dos
115 15 dias de armazenamento a incidência média de antracnose em abacates foi de 66%,
116 não havendo diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 1).

117 Todos os isolados de *Colletotrichum* foram patogênicos em abacates ‘Margarida’
118 (Figura 1B), havendo baixa variabilidade na agressividade, com dois grupos sendo
119 formados (Tabela 2). O primeiro grupo apresentou lesões com diâmetro médio entre
120 1,70 e 2,30 cm, enquanto o segundo grupo apresentou lesões entre 2,35 a 2,85 cm.
121 Diferentemente do que foi constatado neste trabalho, fungos do gênero *Colletotrichum*
122 comumente são relatados como tendo ampla variabilidade patogênica (ALMEIDA;
123 COELHO, 2007; SERRA et al., 2011).

124 O herbicida paraquat possibilitou uma detecção precoce e precisa das infecções latentes
125 do agente causal da antracnose do abacate ‘Hass’, em frutos imaturos, podendo auxiliar
126 nas medidas de manejo da doença a serem adotadas pelo produtor.

127

128

Fischer, I.H.; Fileti, M.S.; Almeida, A.M.; Cruz, J.C.S; Firmino, A.C.; Palharini, M.C.A. Detecção de *Colletotrichum gloeosporioides* em abacates imaturos e severidade de antracnose. In: **Congresso Brasileiro de Processamento mínimo e Pós-colheita de frutas, flores e hortaliças**, 001. Anais... Aracaju-SE.

129 **AGRADECIMENTOS**

130 À Fapesp, pelo auxílio financeiro na condução deste trabalho (Processo 2014/11897-4).

131

132 **REFERÊNCIAS**

133 ALMEIDA, L.C.C.; COÊLHO, R.S.B. Caracterização da agressividade de isolados de
134 *Colletotrichum* de maracujá amarelo com marcadores bioquímico, fisiológico e
135 molecular. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.4, p.318-328, 2007.

136 DODGE, A.D. The mode of action of bipyridylum herbicides, paraquat and diquat.
137 **Endeavour**, Oxford, v.30, p.130-135, 1971.

138 FISCHER, I.H.; TOZZE JÚNIOR, H.J.; ARRUDA, M.C.; MASSOLA JÚNIOR, N.S.
139 Pós-colheita de abacates Fuerte e Hass: características físicas e químicas, danos e
140 controle de doenças. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, p.209-220, 2011.

141 LAPEYRE DE BELLAIRE, L.; CHILLET, M.; CHILIN-CHARLES, Y. Method for
142 early quantification of quiescent infections of *Colletotrichum musae* on bananas. **Fruits**,
143 Cambridge, v.63, p.129-131, 2008.

144 PARAMASIVAN, M.; OHAN, S.; LI, G.S.; MATHIYAZHAGAN, S.;
145 UTHUKRISHANAN, N. Detection of latent infections in mango fruit with herbicides.
146 **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, Berlin, v.42, n.4, p.318-326, 2009.

147 PRUSKY, D.; WATTAD, C.; KOBILER, I. Effect of the ethylene on activation of
148 lesion development from quiescent infections of *Colletotrichum gloeosporioides* in
149 avocado fruits. **Molecular Plant Microbe Interactions**, Saint Paul, v.9, p.864-868,
150 1996.

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

155 ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 1999. 663 p.

156

157

158

159

160

Tabela 1. Incidência (%) de antracnose em frutos imaturos (0,8 cm de comprimento) de abacate 'Hass' submetidos a diferentes tratamentos pós-colheita, durante 15 dias de armazenamento a 25°C (Anthracnose incidence (%) in immature fruit (0.8 cm length) of avocado 'Hass' submitted to different postharvest treatments during 15 days of storage at 25°C).

Tratamento	Dias após o tratamento / colheita		
	5	10	15
Paraquat	53 a ¹	58 a	66 a
Ethrel	3 b	28 b	64 a
Controle	3 b	30 b	68 a

¹Dados seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste não paramétrico de comparação de múltiplas proporções (¹Data followed by the same letter in the column do not differ in level of 5%, according to the nonparametric test for comparisons of multiple proportions).

161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193

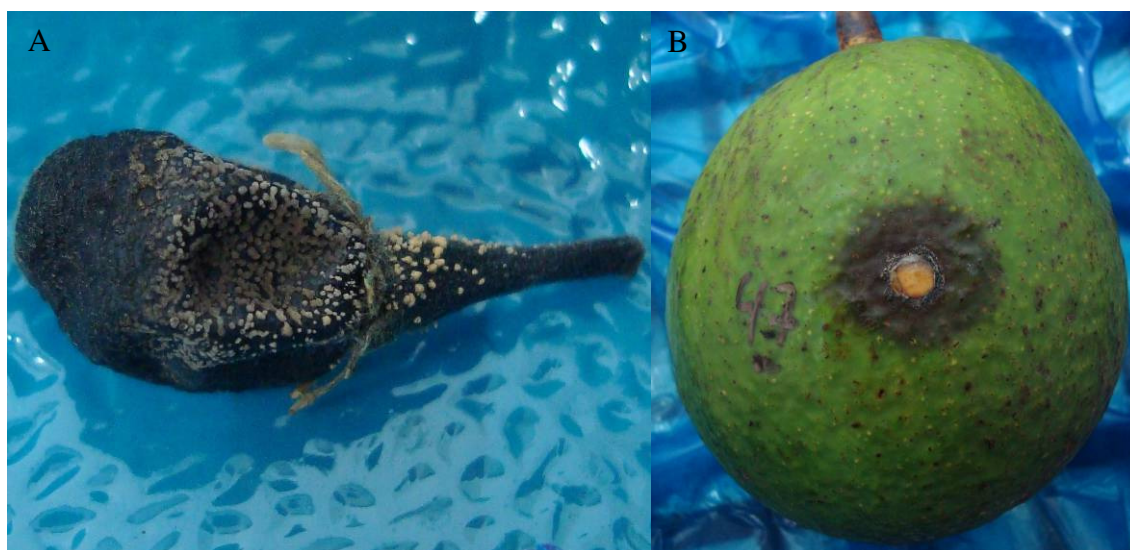
Tabela 2. Severidade (cm) de antracnose em frutos de abacate ‘Margarida’, após quatro dias da inoculação de diferentes isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* (Anthracnose severity (cm) in fruits of avocado 'Margarida', after four days of inoculation of different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*).

Isolado	Severidade (cm)	Isolado	Severidade (cm)
41	1,70 a	35	2,35 b
23	1,95 a	24	2,35 b
30	1,95 a	19	2,35 b
9	1,98 a	5	2,35 b
29	2,05 a	17	2,40 b
22	2,10 a	38	2,40 b
27	2,10 a	1	2,45 b
50	2,10 a	6	2,45 b
33	2,15 a	15	2,45 b
39	2,15 a	2	2,45 b
40	2,15 a	13	2,50 b
7	2,15 a	18	2,50 b
37	2,20 a	8	2,50 b
45	2,20 a	21	2,50 b
10	2,20 a	28	2,50 b
4	2,23 a	48	2,55 b
26	2,25 a	47	2,55 b
12	2,25 a	42	2,55 b
44	2,25 a	34	2,55 b
36	2,25 a	16	2,60 b
14	2,25 a	20	2,60 b
46	2,30 a	32	2,65 b
25	2,30 a	3	2,65 b
49	2,30 a	43	2,70 b
11	2,30 a	31	2,85 b
CV		8,3	

¹Dados seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si, em nível de 5%, pelo teste de Scott-Knott (¹Data followed by the same letter in the column do not differ in level of 5%, by Scott-Knott test).

194

195



196
197

198 **Figura 1:** Sinais de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos imaturos de abacate
199 'Hass', aos dez dias de incubação a 25°C (A) e sintomas de antracnose em abacate
200 'Margarida', após quatro dias da inoculação do patógeno (B) (*Colletotrichum*
201 *gloeosporioides* signals in immature fruit of avocado 'Hass', ten day of incubation at
202 25°C (A) and anthracnose symptoms in avocado 'Margarida', four days after the
203 pathogen inoculation (B)).