

**CHRISTIANA DE FÁTIMA BRUCE DA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE DETECÇÃO PRECOCE DE  
INFECÇÕES QUIESCENTES DE *Colletotrichum* spp. EM MAMÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010

**CHRISTIANA DE FÁTIMA BRUCE DA SILVA**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE DETECÇÃO PRECOCE DE  
INFECÇÕES QUIESCENTES DE *Colletotrichum* spp. EM MAMÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**APROVADA:** 30 de abril de 2010.

---

Prof. Luiz Antonio Maffia  
(Co-orientador)

---

Prof. Sami Jorge Michereff  
(Co-orientador)

---

Prof. Carlos Henrique Osório Silva

---

Prof. Fabrício de Ávila Rodrigues

---

Prof. Eduardo S. G. Mizubuti  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela força nos momentos fáceis e difíceis, no processo de execução deste trabalho.

À minha família pela compreensão, pelo companheirismo e apoio nos momentos difíceis.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade da realização do meu curso de Doutorado. E a todos os amigos do Departamento de Fitopatologia, pelos anos de convívio e amizade, que foram tão importantes para mim pessoal e profissionalmente.

Ao Prof. Eduardo Seiti Gomide Mizubuti pelas valiosas discussões e orientação durante este trabalho.

Ao Prof. Luiz Antonio Maffia pelos conselhos e apoio nas análises estatísticas deste trabalho.

Ao Prof. Carlos Henrique Osório Silva pelo apoio nas análises estatísticas deste trabalho.

Ao Prof. Sami Jorge Michereff pelas discussões e pelo auxílio no desenvolvimento desse trabalho.

Aos produtores de mamão do Estado da Paraíba pelo fornecimento dos frutos para execução desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela bolsa concedida durante a realização do curso de Doutorado.

## **BIOGRAFIA**

CHRISTIANA DE FÁTIMA BRUCE DA SILVA, filha de Geraldo Bezerra da Silva e Zuleide Bruce da Silva, nasceu em Brasília – DF no dia 18 de maio de 1980.

Em dezembro de 1998, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, na cidade de Recife – PE, onde se graduou em fevereiro de 2004.

Em março de 2004, ingressou no curso de Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa, defendendo a tese em março de 2006.

Em maio de 2006, iniciou no curso de Doutorado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em abril de 2010.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	3
REVISÃO DE LITERATURA .....	6
2.1- Aspectos gerais da cultura do mamoeiro.....	6
2.2- Infecções quiescentes em frutos.....	6
2.2.1.- Detecção de infecções quiescentes .....	9
2.3- Infecções quiescentes causadas por <i>Colletotrichum</i> spp. em frutos de mamão .....	11
2.4- Influência da temperatura nas infecções de <i>Colletotrichum</i> spp.....	12
2.5- Distribuição espacial de frutos doentes e determinação do tamanho das amostras .	13
2.5.1- Métodos analíticos .....	13
2.5.2- Padrão espacial de doenças.....	15
2.5.3- Procedimentos de amostragem baseado em padrão espacial.....	15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	17
CAPÍTULO 1 .....	28
Detecção de infecções quiescentes causadas por <i>Colletotrichum</i> spp. em frutos de mamão .....	28
1. Introdução.....	28
2. Material e Métodos.....	29
2.1- Métodos de detecção de infecções quiescentes.....	29
2.2- Influência da idade dos frutos na detecção de infecções quiescentes .....	30
2.3- Influência da temperatura de incubação na detecção de infecções quiescentes.....	31
2.4- Análises dos dados .....	31
2.4.1- Determinação de métodos de detecção de infecções quiescentes.....	31
2.4.2- Influência da idade dos frutos na detecção de infecções quiescentes.....	32
2.4.3- Influência da temperatura de incubação na detecção de infecções quiescentes	32
3. Resultados.....	33
3.1- Métodos de detecção de infecções quiescentes.....	33
3.2- Influência da idade dos frutos na detecção de infecções quiescentes .....	33
3.3- Influência da temperatura na detecção de infecções quiescentes.....	35
4. Discussão .....	36
5. Referências bibliográficas .....	40
CAPÍTULO 2 .....	55
Distribuição espacial e tamanho de amostras para detecção de infecções de <i>Colletotrichum</i> spp. em frutos de mamão .....	55
1- Introdução .....	55
2. Material e Métodos.....	56
2.1- Áreas e esquema de amostragem .....	56
2.2- Tratamento dos frutos e avaliação das doenças .....	57
2.3. - Incidência da mancha chocolate e antracnose.....	57
2.4- Distribuição espacial das doenças .....	58
2.5- Incidência da podridão peduncular .....	60
3. Resultados.....	60
3.1- Incidência, distribuição e tamanho da amostra para mancha chocolate.....	60
3.2- Incidência, distribuição e tamanho da amostra para antracnose .....	61
3.3- Incidência da podridão peduncular .....	63

4. Discussão .....	63
5. Referências bibliográficas .....	65
CONCLUSÕES GERAIS .....	76

## RESUMO

SILVA, Christiana de Fátima Bruce da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2010. **Desenvolvimento de métodos de detecção precoce de infecções quiescentes de *Colletotrichum* spp. em mamão.** Orientador: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti. Co-orientadores: Luiz Antonio Maffia e Sami Jorge Michereff

Objetivou-se avaliar métodos, idade de maturação, efeito da temperatura, distribuição e tamanho de amostras para detecção de infecções quiescentes de *Colletotrichum* spp. (*Glomerella cingulata*) em frutos de mamão. Inicialmente, avaliaram-se diferentes métodos de detecção de infecção quiescente em frutos imaturos: hipoclorito de sódio (1,5% de cloro ativo), paraquat (6 ml/L i.a.), etanol (70%) e ethrel (1,2 ml/L i.a.). Em relação ao método padrão, frutos no ponto de colheita, o Paraquat e Ethrel foram semelhantes ou superestimaram a probabilidade de detectar a mancha chocolate e a podridão peduncular. Para a antracnose, apenas Ethrel foi semelhante ao ponto de colheita. Analisou-se o efeito da idade de frutos imaturos, 3, 4, 5 e 6 semanas antes do ponto de colheita e frutos no ponto de colheita sobre a eficiência dos métodos de detecção baseados em Paraquat e Ethrel. Avaliaram-se a mancha chocolate e a podridão peduncular. Não houve ocorrência de antracnose nas áreas avaliadas. Para mancha chocolate, frutos com 3 semanas não diferiram dos frutos no ponto de colheita. Detectou-se a podridão peduncular em frutos de todas as idades e não houve diferença em relação aos frutos no ponto de colheita. Após a seleção dos melhores métodos e idade, avaliou-se a influência da temperatura na detecção das infecções pelo método do Ethrel. Frutos imaturos e no ponto de colheita foram mantidos a 22, 25, 28, 31 e 34°C, por 8 dias. As temperaturas influenciaram a eficiência do método. Em virtude dos resultados, recomenda-se o uso de Ethrel, mantendo-se os frutos de 25 a 31°C, por 8 dias. Estudou-se a distribuição espacial das doenças nas épocas chuvosa e seca, com base em índices de dispersão. Posteriormente, ajustaram-se as distribuições Poisson, Binomial negativa e Beta-binomial pelo método da máxima verossimilhança. Calculou-se o tamanho da amostra com base na probabilidade de detecção. A mancha chocolate e a antracnose tiveram arranjo agregado. A agregação foi maior para a antracnose. Em geral, a incidência da mancha chocolate foi maior do que da antracnose. Os tamanhos de amostras calculados para operações na época seca foram maiores do que os da época chuvosa. O método baseado em Ethrel foi o mais adequado para detectar infecções quiescentes de *Colletotrichum* spp. Infecções quiescentes podem ser detectadas em frutos com 3 semanas antes da colheita e a faixa de temperatura mais favorável à detecção foi de 25 a 31°C. No entanto, não é

recomendável utilizar um único tamanho de amostra para detecção de infecções quiescentes, pois houve variação conforme a época do ano e a doença.

## ABSTRACT

SILVA, Christiana de Fátima Bruce da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2010. **Development of early detections methods of quiescent infections of *Colletotrichum* spp. on papaya fruits.** Adviser: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti. Co-Advisers: Luiz Antonio Maffia and Sami Jorge Michereff.

The objectives of this study were to evaluate the methods, maturation age, temperature effect, distribution and sample size to detect quiescent infection of *Colletotrichum* spp. (*Glomerella cingulata*) on papaya fruits. At first, different methods to detect quiescent infections on immature fruits were assessed: sodium hipoclorite (1,5%), paraquat (6 ml/L a.i.), ethanol (70%) and ethrel (1,2 ml/L a.i.). Compared to the standard method (mature fruits at harvest stage), the Paraquat and Ethrel methods were similar to or superestimated the probability of detection of chocolate spot and stem-end rot in papaya fruits. For anthracnose, only the Ethrel method resulted in similar disease incidence values as observed with the standard method. The effects of fruit maturation stage (age), 3, 4, 5, or 6 weeks before the harvest maturation stage and fruits at the harvest stage were assessed on the efficacy of the Paraquat and Ethrel methods. Only chocolate spot and stem-end rot were evaluated because anthracnose infection was not detected in the assessed areas. The incidence of chocolate spot in imature fruits harvested 3 weeks before full maturation stage did not differ from that of fruits harvested at the mature stage. Stem-end rot was detected in fruits of all ages at similar intensity as those recorded in fully mature fruits. After selecting suitable methods and fruit age, the Ethrel method was used to assess the effects of temperature on the detection. Imature and mature fruits were incubated at 22, 25, 28, 31, and 34°C, for 8 days. Temperature influenced the efficiency of the method. The use of Ethrel in fruits kept at 25 to 31 °C, for 8 days was the best detection procedure. Based on dispersion indices, spatial distribution of the diseases was studied in the rainy and dry seasons. The Poisson, Negative binomial and Beta-binomial distribution were fit to the data by the maximum likelihood method. The sample size was calculated based on the coefficient of variation and probability of detection. The spatial pattern of both chocolate spot and anthracnose was aggregated. The aggregation was higher for anthracnose. Sample sizes for studies conducted during the dry season were greater than those estimated for the rainy season. In summary, Ethrel was the best detection method of *Colletotrichum* spp. quiescent infections in papaya fruits. Quiescent infection can be detected in imature fruits 3 weeks before harvest and the temperatures from 25 to 31°C are more suitable for detection. Sample size varies with the disease and growing season.

## INTRODUÇÃO GERAL

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é amplamente cultivado entre os trópicos de Câncer e Capricórnio, principalmente na Índia, Brasil, México, Nigéria, Indonésia, Colômbia e China (Alves, 2003). O Brasil é o segundo maior produtor de mamão, com 1.900.000 t (FAOSTAT, 2010), e a produção concentra-se na Bahia (902.525t), Espírito Santo (630.124t), Rio Grande do Norte (106.064t), Ceará (99.522t) e Paraíba (28.906t) (IBGE, 2010).

O mamão, como outras frutas tropicais, geralmente é produzido em locais distantes dos grandes mercados, o que demanda um tempo entre a colheita e o consumo, denominado “pós-colheita” (Muniz et al., 2003). O período pós-colheita do mamão é curto, pois o fruto completa o amadurecimento em poucos dias ou semanas (Balbino, 2003). Nessa fase, é alta a possibilidade de perdas devido a doenças, danos mecânicos e físicos, reações bioquímicas, pragas etc. (Freeman et al., 1998). Em frutos de mamão, as perdas decorrentes de doenças podem atingir 90% (Ventura et al., 2003). Por esta razão, o manejo das doenças deve começar antes da colheita, quando geralmente, iniciam-se as infecções (estádios de pós-floração e desenvolvimento dos frutos) (Muniz et al., 2003).

Várias doenças podem afetar o mamão na fase pós-colheita (Alvarez & Nishijima, 1987). Destacam-se as perdas ocasionadas pela antracnose, mancha chocolate e podridão peduncular, cujo agente causal é o fungo *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. & Von Schrenk [anamorfo: *Colletotrichum* spp. (Penz) Penz & Sacc] (Bailey & Jeger, 1992). Os sintomas da antracnose são lesões escuras, levemente deprimidas, de tamanho variável e, em geral, arredondadas. Com o desenvolvimento da doença pode haver coalescência das lesões e todo o fruto é afetado (Alvarez & Nishijima, 1987; Ventura et al., 2003). Sob elevada umidade e temperaturas superiores a 22°C, no centro das lesões, observa-se a produção de mucilagem alaranjada, com conídios hialinos (Bailey & Jeger, 1992; Menezes & Hanlin, 1996). Entretanto, sob determinadas condições, o hospedeiro em resposta à infecção pelo patógeno produz mecanismos de defesa como a calose. Assim, ocorrem lesões superficiais, de coloração avermelhada, encharcadas nas margens, que são denominadas mancha chocolate (Dickman & Alvarez, 1983; Alvarez & Nishijima, 1987). Além da superfície do fruto, o patógeno pode penetrar no pedúnculo, ocasionando a doença chamada podridão peduncular (Alvarez & Nishijima, 1987).

A infecção de *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão é caracterizada pela quiescência, fenômeno que dificulta estudos epidemiológicos. O conídio adere-se à superfície

do hospedeiro, germina, produz apressório melanizado e hifa infectiva, mas a colonização pelo patógeno é reduzida (Prusky & Plumbley, 1992). Com a maturação fisiológica do fruto, acredita-se haver redução de compostos anti-fúngicos e aumento de açúcares e outros compostos, condições favoráveis à reativação da infecção (Binyamini & Schiffmann-Nadel, 1972; Sharaf et al., 1989). Trabalhos epidemiológicos que envolvem, por exemplo, entendimento da relação inóculo-desenvolvimento da doença, progresso de epidemias e a avaliação da eficácia de métodos de controle são dificultados principalmente pela falta de métodos adequados de detecção da infecção quiescente.

Tentativas de controle de doenças pós-colheita em frutos de mamão, baseadas em informações insuficientes sobre o processo de quiescência (Prusky & Keen, 1993) e a epidemiologia da doença (Fitzell & Peak, 1984; Dodd et al., 1991), podem resultar em gastos desnecessários no manejo da cultura e redução da qualidade do produto colhido (Silveira et al., 2005). O desenvolvimento de métodos adequados de detecção e avaliação da quiescência poderá contribuir para melhoria da acurácia dos estudos epidemiológicos, bem como para o manejo de doenças pós-colheita (Biggs, 1995; Prusky, 1996). Neste contexto, um dos trabalhos básicos mais importantes é o de estabelecimento de procedimentos de amostragem para estudos das infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão (Campbell & Madden, 1990). Com um plano de amostragem adequado, estimativas das características de uma doença em uma população de plantas podem ser obtidas (Campbell & Madden, 1990). Entretanto, até o momento, não se dispõem na literatura de informações que forneçam subsídios para o desenvolvimento de estratégias de manejo das doenças na fase de pós-colheita. Considerando-se a importância das infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão e a carência de estudos, objetivou-se: avaliar métodos, idade ideal e o efeito da temperatura para detecção de infecções quiescentes; e, propor uma distribuição e tamanho de amostras em campo, para detecção de infecções quiescentes em frutos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarez, A.M. & Nishijima, W.T. Postharvest diseases of papaya. *Plant Disease* 71: 681-686, 1987.

Alves, F.L. A cultura do mamão *Carica papaya* no mundo, no Brasil e no estado do Espírito Santo. In: Martins, D.S.; Costa, A.F.S. (eds.) A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória, ES: Incaper, p.13-34, 2003.

Bailey, J.A. & Jeger M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England. 388p., 1992.

Balbino, J.M.S. Colheita, pós-colheita e fisiologia do amadurecimento do mamão. In: Martins, D.S.; Costa, A.F.S. (eds.) A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória, ES: Incaper, p.403-439, 2003.

Biggs, A.R. Detection of latent infections in apple fruit with paraquat. *Plant Disease* 79: 1062-1067, 1995.

Binyamini, N. & Schiffmann-Nadel, M. Latent infection in avocado fruit due to *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* 62: 592-594, 1972.

Campbell, C.L. & Madden, L.V. *Introduction to plant disease epidemiology*. John Wiley and Sons: New York. 532p., 1990.

Dickman, M.B. & Alvarez, A.M. Latent infections of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 67: 748-750, 1983.

Dodd, J.C.; Estrada, A.B.; Matcham, J.; Jeffries, P. & Jeger, M.J. The effect of climatic factors on *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of mango anthracnose, in the Philippines. *Plant Pathology* 40: 568-575, 1991.

FAOSTAT- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>> Acesso em: 16/02/2010.

Fitzell, R.D. & Peak, C.M. The epidemiology of anthracnose disease of mango: inoculum sources, spore production and dispersal. *Annals of Applied Biology* 104: 53-59, 1984.

Freeman, S.; Katan, T. & Shabi, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease* 82: 596- 605, 1998.

IBGE- Sistema IBGE de Recuperação Automática- SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&o=11&i=P&c=1613>> Acesso em: 16/02/2010.

Menezes, M. & Hanlin, R.T. Appressoria of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. causal agent of anthracnoses diseases. *Revista de Microbiologia* 27: 247-251, 1996.

Muniz, M.F.S.; Rocha, D.F.; Silveira, N.S.S.; Menezes, M. Identificação de fungos causadores de doenças em frutos pós-colheita comercializados no Estado de Alagoas. *Summa Phytopathologica* 29: 38-42, 2003.

Prusky, D. & Plumbley, R.A. Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: Bailey, J.A. & Jeger M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England. p.289-307.,1992.

Prusky, D. & Keen, N. T. Involvement of preformed antifungal compounds in the resistance of subtropical fruits to fungal decay. *Plant Disease* 77: 114-119, 1993.

Prusky, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Annual Review of Phytopathology* 34: 413-434, 1996.

Sharaf, A.; Ahmed, F.A. & El-Saadany, S.S. Biochemical changes in some fruits at different ripening stages. *Food Chemistry* 31: 19-28, 1989.

Silveira, N.S.S.; Michereff, S.J.; Silva, I.L.S.S. & Oliveira, S.M.A. Doenças fúngicas pós-colheita em frutas tropicais: patogênese e controle. *Caatinga* 18: 283-299, 2005.

Ventura, J.A.; Costa, H. & Tatagiba, J.S. Manejo das doenças do mamoeiro. In: Martins, D.S.; Costa, A.F.S. (eds.) *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*. Vitória, ES: Incaper, p.229-308., 2003.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1- Aspectos gerais da cultura do mamoeiro**

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), família *Caricaceae*, é originário da América Central, e foi introduzido no Brasil na época do descobrimento (Medina, 1989). As áreas mais adaptadas ao cultivo desta cultura são as que têm as estações bem definidas: quentes e chuvosas (Medina, 1989). Os principais países produtores desta fruta são: Índia, Brasil, México, Nigéria, Indonésia, Colômbia e China. O Brasil é o segundo maior produtor de mamão, com 1.900.000 t (FAOSTAT, 2010). O mamão é cultivado principalmente nos estados da Bahia (902.525t), Espírito Santo (630.124t), Rio Grande do Norte (106.064t), Ceará (99.522t) e Paraíba (28.906t) (IBGE, 2010).

O mamoeiro apresenta três tipos de flores, as quais levam à classificação das plantas como: femininas, masculinas ou hermafroditas. Atualmente, no Brasil, têm-se preferido o plantio de variedades hermafroditas. Quanto ao tamanho e a origem dos frutos, estes são classificados em dois grupos: Solo e Formosa (Costa & Pacova, 2003). No grupo Solo, algumas variedades destacam-se como mais plantadas: Sunrise Solo, Improved Sunrise Solo, Baixinho de Santa Amália, Sunrise Golden e Taiwan. No Grupo Formosa, as seguintes variedades são cultivadas no Brasil: Tainung n.1 e Caliman 01 (Costa & Pacova, 2003).

### **2.2- Infecções quiescentes em frutos**

A utilização de termos para se referir ao fenômeno de quiescência é ainda confusa. Em muitos trabalhos, a quiescência é sinônimo de latência (Verhoeff, 1974; Prusky et al., 1981; Jarvis, 1994) ou dormência (Verhoeff, 1974; Prusky & Plumbley, 1992). O fenômeno de latência, em termos epidemiológicos é definido por Parlevliet (1979) como o tempo entre a inoculação até a produção de esporos, ou seja, o tempo para geração de sinais da doença. Enquanto, no fenômeno de dormência, o esporo do fungo é que permanece inativo (Griffin, 1994). Vários fatores afetam a dormência: condições exógenas (nutricionais) ou constitutivas, como inibidores presentes no próprio esporo (Griffin, 1994). Em todos estes trabalhos relativos ao fenômeno de inativação do fungo (Verhoeff, 1974; Prusky et al., 1981; Jarvis, 1994), o termo que deveria ter sido utilizado é quiescência.

O fenômeno de quiescência é caracterizado pela inibição do desenvolvimento do patógeno no tecido do hospedeiro, em alguma fase do processo de infecção (germinação, formação do apressório ou penetração) (Swinburne, 1983; Prusky & Plumbley, 1992; Jarvis, 1994). Os mecanismos envolvidos na quiescência parecem estar relacionados às condições fisiológicas do hospedeiro (Jarvis, 1994; Wharton & Diéguez-Uribeondo, 2004) bem como aos fatores ambientais (temperatura e umidade) (Prusky et al., 1993; Luo & Michailides, 2001a, b; Ntahimpera et al., 2002) os quais desfavorecem o desenvolvimento do patógeno. O fenômeno de quiescência é especulado ser um caso de adaptação do patógeno às condições fisiológicas do hospedeiro (Verhoeff, 1974; Prusky & Plumbley, 1992; Prusky et al., 1996). Com a maturação do fruto, o desenvolvimento é reativado (Verhoeff, 1974; Prusky, 1996).

A quiescência é comum em frutos (maçã, uva, banana, mamão, manga, citros, morango, abacate etc.); hortaliças (tomate); ornamentais; e leguminosas (soja) (Verhoeff, 1974; Jeffries et al., 1990; Sinclair, 1991; Jarvis, 1994; Williamson, 1994; Rajeswari et al., 1997; Timmer et al., 1998; Lapeyre de Bellaire et al., 2000; Klingelfuss & Yorinori, 2001; Dugan et al., 2002; Ishikawa, 2003, 2004ab; Valdebenito-Sanhueza et al., 2005; Chillet et al., 2006). Este processo pode estar associado às doenças bacterianas (Hayward, 1974) ou fúngicas (Verhoeff, 1974; Prusky & Plumbley, 1992).

Com relação aos fungos, infecções quiescentes podem ser causadas por espécies de *Botrytis*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Ulocladium*, *Gloeosporium*, *Colletotrichum*, *Guignardia*, *Monilinia*, *Fusarium*, *Dendrophoma*, *Cercospora*, *Chaetomium*, *Rosellinia*, *Phomopsis*, *Botryosphaeria* e *Alternaria* (Chakravarty, 1957; Verhoeff, 1974; Prusky et al., 1981; Jeffries et al., 1990; Williamson, 1994; Rajeswari et al., 1997; Timmer et al., 1998; Lapeyre de Bellaire et al., 2000; Klingelfuss & Yorinori, 2001; Luo et al., 2001a, b; Luo & Michailides, 2001; Dugan et al., 2002; Ntahimpera et al., 2002; Luo & Michailides, 2003; Ishikawa, 2004a; Valdebenito-Sanhueza et al., 2005; Chillet et al., 2006). Entretanto, espécies do gênero *Colletotrichum* merecem destaque, por apresentarem infecções quiescentes em vários patossistemas (Fulton, 1948; Chakravarty, 1957; Dickman & Alvarez, 1983; Jeffries et al., 1990; Prusky & Plumbley, 1992; Sutton, 1992; Timmer et al., 1998; Klingelfuss & Yorinori, 2001; Silva et al., 2002; Dantas et al., 2003).

A maioria dos trabalhos sobre quiescência de *Colletotrichum* foi gerada em patossistemas modelo como *Colletotrichum gloeosporioides*/abacate (Binyamini & Schiffmann-Nadel, 1972) e *Glomerella cingulata*/morango (Ishikawa, 2003; Ishikawa 2004a,b). Mas, algumas exceções são verificadas, como por exemplo, *C. musae*/banana (Lapeyre de Bellaire et al., 2000), *C. phomoides*/tomate (Fulton, 1948) e *C. truncatum*/soja

(Klingelfuss & Yorinori, 2001). Por exemplo, no patossistema *C. gloeosporioides*/manga, o conídio de *C. gloeosporioides* adere-se à superfície do hospedeiro, germina e produz um apressório melanizado (Wharton & Diéguez-Uribeondo, 2004). O apressório forma hifa infectiva, que permanece quiescente, até que o fruto entre no estágio de favorabilidade à infecção (Sommer, 1982; Prusky & Plumbley, 1992; Prusky & Keen, 1993; Prusky, 1996), com redução de compostos anti-fúngicos, aumento de açúcares e outros compostos (Binyamini & Schiffmann-Nadel, 1972; Sharaf et al., 1989).

Quatro mecanismos são postulados ocorrer em frutos imaturos, os quais são responsáveis pela quiescência: presença de compostos anti-fúngicos pré- e pós-formados; baixa disponibilidade de nutrientes requeridos pelo patógeno; e falta de ativação dos fatores de patogenicidade, como enzimas envolvidas no processo de penetração na superfície do hospedeiro (Swinburne, 1983; Bailey & Jeger 1992; Prusky, 1996).

Vários compostos antifúngicos pré-formados são relatados como responsáveis pela quiescência. Dentre estes, destacam-se: taninos e látex, em frutos verdes de banana (Chakravarty, 1957; Verhoeff, 1974); benzil-isotiocianato, em frutos de mamão (Patil et al., 1973); dieno (1-acetoxi-2-hidroxi-4-oxo-heneicoso-12,15 dieno) em frutos de abacate (Prusky et al., 1996; Prusky et al., 1998); resorcinol [5-(12 – cis – heptadecenil) e 5 – pentadecil-resorcinol], em frutos de manga (Droby et al., 1986; Prusky & Keen, 1993; Kobiler et al., 1998), e ácido dihidroxicinamato caféico, em frutos de pêssego (Lee & Bostock, 2007). Durante o amadurecimento, com a redução da concentração destes compostos, ocorre a transição da fase de quiescência para a de crescimento fúngico ativo (Verhoeff, 1974).

Com relação aos compostos anti-fúngicos pós-formados, tem-se constatado a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) por frutos imaturos de abacate em resposta a infecção de *C. gloeosporioides*. A infecção pelo patógeno induz a produção de ROS e pode também estimular a rota dos fenilpropanóides (regulação do dieno), o que resulta na inibição do desenvolvimento do fungo; e, conseqüentemente, da quiescência (Beno-Moualem & Prusky, 2000). A indução da síntese de fitoalexinas por vários hospedeiros, também ocorre em resposta à infecção pelos patógenos na fase de pós-colheita (Prusky et al., 1998). Algumas destas substâncias, como por exemplo, o resveratrol está presente em frutos de uva (King et al., 2006; Sanchez-Ballesta et al., 2006); em pimenta, constata-se a presença do capsicanol e do capsidiol (Adikaram et al., 1982). Agentes bióticos também podem induzir a produção de compostos anti-fúngicos, como em frutos de manga com a aplicação do fungo *C. magna* (Kobiler et al., 1998).

Aparentemente, há também a relação entre compostos fenólicos e protopectínicos nos tecidos de frutos imaturos e a quiescência em patógenos (Verhoeff, 1974). Em contrapartida, com o amadurecimento dos frutos há o aumento dos açúcares solúveis, de água livre e de pectinas, tornando os frutos mais sensíveis à infecção por patógenos (Sharaf et al., 1989; Williamson, 1994).

A inibição ou a não produção de enzimas dos patógenos em frutos imaturos é também uma das causas da quiescência (Verhoeff, 1974; Prusky, 1996). As enzimas pectolíticas são estimuladas pela mudança do estado de insolubilidade da lamela média em frutos verdes para o de solubilidade dos compostos pécnicos durante o amadurecimento. A mudança estimula o crescimento ativo do patógeno nos tecidos do hospedeiro (Verhoeff, 1974).

A existência das infecções quiescentes faz com que avaliações do nível de inóculo em frutos só sejam realizadas quando o mesmo estiver maduro. Por exemplo, nos patossistemas *A. alternata*/manga e *Monilinia fructicola*/ameixa constataram-se correlações significativas entre as infecções quiescentes nos frutos e a incidência da doença em condições de pós-colheita (Prusky et al., 1983; Luo & Michailides, 2003). A utilização de métodos para detectar infecções quiescentes em frutos de mamão é de fundamental importância, pois assim as doenças que ocorrem nesta cultura poderão ser manejadas mais racionalmente (Biggs, 1995; Prusky, 1996).

### **2.2.1.- Detecção de infecções quiescentes**

Há várias técnicas para detecção de infecções quiescentes em frutos tropicais, como as baseadas em PCR (Parikka & Lemmetty, 2004), luz ultravioleta (UV) (Ishikawa, 2003), etanol (Ishikawa, 2003; Ishikawa 2004a,b), paraquat (Biggs, 1995) e do cultivo em meios suplementados com fungicidas (Prusky et al., 1981).

No método da PCR, a detecção das infecções quiescentes em partes de plantas é realizada por primers específicos. Em um estudo, esta técnica foi eficiente em detectar *C. acutatum* em tecidos de morango sintomáticos e assintomáticos, nos quais a infecção era originária de inoculações ou de forma natural (Parikka & Lemmetty, 2004). O método da PCR é bastante sensível, entretanto ainda não é amplamente utilizado na detecção das infecções em campo.

No método de detecção pelo uso do etanol (SDEI: diagnose simples por imersão em etanol), ocorre a injúria do tecido da planta, o que facilita o desenvolvimento dos sintomas

(Ishikawa, 2003; Ishikawa, 2004a). Este método é bastante utilizado para detecção de infecções quiescentes em plantas de morango, causadas por *Colletotrichum acutatum*, *Dendrophoma obscurans* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* (Ishikawa, 2004).

Com relação à detecção das infecções quiescentes utilizando a luz ultravioleta, o mecanismo que ocorre é a injúria do tecido, favorecendo o aparecimento de sinais do patógeno. Ishikawa (2003) comparou os métodos do etanol e da luz ultravioleta, para detectar infecções quiescentes de *G. cingulata*. Neste trabalho, foi constatado que ambos os métodos apresentavam o mesmo padrão para detectar as infecções em tecidos de morango.

Na técnica de detecção das infecções quiescentes baseada no herbicida paraquat ocorre a indução da morte das células da epiderme, com formação de injúrias no tecido do hospedeiro, favorecendo assim a expressão do patógeno (Biggs, 1995). Este método é utilizado em vários patossistemas: *Botryosphaeria dothidea*/maçã (Valdebenito-Sanhueza et al., 2005), *Monilinia fructicola*/cereja (Adaskaveg et al., 2000), *Alternaria alternata*/maçã (Biggs, 1995) e *C. musae*/banana (Rajeswari et al., 1997). Entretanto, o Paraquat, conhecido comercialmente como Gramoxone, é um herbicida de contato altamente tóxico, cujo uso requer cautela (Serra et al., 2003).

No método do Ethrel, nome comercial do hormônio etileno, ocorre ação indireta do produto no processo de “quebra” da quiescência. O etileno promove o amadurecimento dos frutos, levando a mudanças bioquímicas e fisiológicas necessárias para que o fungo suplante o estágio de quiescência (Droby et al., 1986; Williamson, 1994; Prusky, 1996; Prusky et al., 1996; Lapeyre de Bellaire et al., 2000; Chillet et al., 2006). Este hormônio é bastante utilizado como método de detecção de infecções quiescentes em vários patossistemas (Valdebenito-Sanhueza et al., 2005; Barmore & Brown, 1985).

O desenvolvimento de um método adequado de detecção da quiescência pode tornar-se uma nova ferramenta para estudos epidemiológicos de doenças que apresentam esse fenômeno. Adicionalmente, a detecção das infecções na pré-colheita reflete quais as estratégias foram utilizadas nesta fase, e, assim com esta informação pode-se realizar um manejo mais coerente na pós-colheita (Biggs, 1995; Prusky, 1996). Entretanto, com relação às infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão, não foram encontrados trabalhos utilizando métodos para detectar estas doenças.

### **2.3- Infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão**

As doenças em frutos de mamão, ocasionada principalmente pela fase anamórfica do patógeno, *Colletotrichum* spp., são particularmente importantes na fase de pós-colheita (Alvarez & Nishijima, 1987). A antracnose é uma doença problemática, pois pode afetar ramos novos, folhas, inflorescências e os frutos (Ventura et al., 2003). Em pós-colheita, é um dos maiores problemas fitossanitários, exigindo tratamentos preventivos (térmico e fungicida) (Ventura et al., 2003). A doença ocorre em todas as áreas produtoras de mamão, com intensidade variável em função da temperatura e umidade (Tatagiba et al., 2002). O período mais favorável à infecção acontece no início da floração, quando o patógeno pode penetrar pelos estigmas, ou por cicatrizes deixadas pelas pétalas até o fruto atingir metade de seu tamanho definitivo (Ventura et al., 2003). Com o desenvolvimento das infecções quiescentes nos frutos maduros, formam-se lesões escuras, levemente deprimidas, de tamanho variável e, em geral, arredondadas. Com o passar do tempo, as lesões podem coalescer e envolver todo o fruto (Persley & Ploetz, 2003). Em condições de umidade relativa elevada e temperaturas superiores a 22°C é possível observar no centro das lesões a produção de mucilagem alaranjada, com conídios hialinos (Bailey & Jeger, 1992; Menezes & Hanlin, 1996). Entretanto, sob determinadas condições, o hospedeiro, em resposta à infecção pelo patógeno, produz mecanismos de defesa como a calose. Assim, ocorrem lesões superficiais, de coloração avermelhada, encharcadas nas margens, que são denominadas manchas-chocolate (Dickman & Alvarez, 1983; Alvarez & Nishijima, 1987). Além da superfície do fruto, o patógeno pode penetrar também pelo pedúnculo, ocasionando a doença chamada podridão peduncular (Alvarez & Nishijima, 1987).

Os conídios de *Colletotrichum* spp. são hialinos, unicelulares, cilíndricos a elipsoidais e são produzidos em corpos de frutificação, denominados acérvulos. O acérvulo desenvolve-se abaixo da cutícula ou epiderme do hospedeiro, rompendo-as em condições de alta umidade (Hindorf, 2000). Os conídios, envolvidos por compostos glicoprotéicos e polissacarídicos (mucilagem), permanecem no acérvulo, até que gotas de água de chuva ou irrigação os dispersem (Dodd et al., 1991; Pascholati et al., 1993; Hindorf, 2000).

Para germinarem, os conídios requerem período prolongado de água livre (6-8 h), e temperatura entre 15-27°C, (Hartung et al., 1981). Os conídios produzem apressório escuro, acima da junção de duas células epidermais (Binyamini & Schiffmann-Nadel, 1972; Hindorf,

2000). O tecido do hospedeiro pode ser invadido diretamente pela pressão de turgor do apressório e/ou por ação enzimática. Há formação da hifa “peg” de penetração, mas a infecção permanece quiescente até que as condições se tornem favoráveis, o que normalmente ocorre no início do amadurecimento do fruto (Binyamini & Schiffmann-Nadel, 1972; Chau & Alvarez, 1983; Prusky & Plumbley, 1992; Hindorf, 2000).

#### **2.4- Influência da temperatura nas infecções de *Colletotrichum* spp.**

A temperatura é um dos fatores ambientais, juntamente com a umidade, que mais afetam o início e o progresso das enfermidades na fase de pós-colheita. A oscilação da temperatura ocasiona perdas de água nos frutos, produzindo água livre na superfície dos mesmos, constituindo condições ideais para a germinação de esporos (Awad, 1993).

Estudou-se o efeito da temperatura na produção de conídios de *Colletotrichum* spp. em frutos de morango. Entre 5 e 10°C e acima de 30°C houve redução na esporulação do patógeno. A faixa ideal foi entre 15 e 25°C (King et al., 1997). No patossistema *C. musae*/banana, diferentes temperaturas (10, 15, 20, 25 e 30°C) afetaram o desenvolvimento de lesões da antracnose. Maior desenvolvimento de lesões ocorreu entre 25 e 30°C (Pessoa et al., 2007). Em outro trabalho, Dillard (1989) verificou a influência de diferentes temperaturas (16, 19, 22, 25, 28 e 31°C) no desenvolvimento e esporulação de lesões de *C. coccodes* em tomates. O diâmetro das lesões foi maior nas temperaturas de 25 e 31°C. A produção de conídios nos frutos foi maior a 28°C, e decresceu a 31°C. No patossistema *C. acutatum*/morango a temperatura afetou a infecção em frutos maduros e imaturos. As temperaturas ótimas para a infecção foram 25 e 30°C (Wilson et al., 1990). No patossistema *C. orbiculare*/melancia foi ajustado um modelo polinomial para explicar a relação entre temperatura e a infecção pelo patógeno. Foi constatado que as temperaturas ótimas para infecção variaram de 21 a 24°C (Monroe et al., 1997).

Quanto a *C. gloeosporioides* existem alguns trabalhos sobre o efeito da temperatura no desenvolvimento das doenças pós-colheita em frutas tropicais (Pandey et al., 1997; Tatagiba et al., 2002). Por exemplo, no patossistema *C. gloeosporioides*/goiaba houve efeito da temperatura (15, 20, 26, 30, 35 e 40°C) na incidência e no desenvolvimento de lesões da antracnose nos frutos. A infecção desenvolveu-se rapidamente a 25 e 30°C, e, mais lentamente a 15, 20, 35 e 40°C (Pandey et al., 1997). No patossistema *C. gloeosporioides*/mamão, relacionaram-se as condições meteorológicas à incidência da

antracnose. Entre 12 e 37°C, a incidência da antracnose variou de 68,5 a 100% (Tatagiba et al., 2002).

Entretanto, estudos esclarecendo a influência da temperatura na detecção de infecções quiescentes de *Colletotrichum* spp. em mamão, não foram encontrados. Em outro patossistema: *C. musae*/banana, estudos dessa natureza foram realizados (Lapeyre de Bellaire et al., 2000). Neste trabalho, as infecções quiescentes em bananas imaturas foram detectadas pelo método Ethrel, e os frutos foram mantidos a diferentes condições de armazenamento. A temperatura ótima para o desenvolvimento das lesões foi de 32°C. O tratamento de frutos imaturos com ethrel e armazenamento por 6 dias a 32°C relacionou-se positivamente aos frutos no ponto de colheita (testemunha).

Portanto, esclarecer o efeito da temperatura na detecção de infecções quiescentes, auxiliará no melhor entendimento do patossistema *Colletotrichum* spp./mamão e também proporcionará o estabelecimento de estratégias mais eficientes de manejo na fase de pós-colheita.

## **2.5- Distribuição espacial de frutos doentes e determinação do tamanho das amostras**

### **2.5.1- Métodos analíticos**

As doenças de plantas apresentam vários padrões espaciais no campo. As plantas doentes podem apresentar padrão agregado, aleatório ou regular. Descrever o padrão de distribuição espacial das plantas doentes permite um melhor entendimento das características das epidemias, bem como é possível a elaboração de planos ou esquemas de amostragem mais confiáveis (Campbell & Madden, 1990).

Várias técnicas podem ser empregadas na análise do padrão de distribuição de doenças no campo. As técnicas de “runs” e de “doublets” consideram a posição das plantas doentes ou sadias; outra técnica é baseada em *quadrats*; e a terceira, em medidas de distância (Campbell & Madden, 1990).

Para estudos com *quadrats*, os dados de incidência podem ser agrupados em classes de frequência. As frequências observadas e esperadas podem ser comparadas por um teste de aderência, de acordo com algumas distribuições de probabilidade, tais como Beta-binomial, Binomial negativa e Poisson (Hugges & Madden, 1993; Madden & Hugges, 1995; Charest et

al., 2002; Madden et al., 2007). A distribuição Beta-binomial é uma distribuição mista, na qual a probabilidade de uma planta estar doente não é constante, pois o padrão da doença no campo é agregado. Uma característica dessa distribuição é que a variância é maior do que da binomial, mesmo se as duas distribuições têm a mesma média (Hugges & Madden, 1993; Madden et al., 2007). Na distribuição beta-binomial, dois parâmetros são estimados pelo método da máxima verossimilhança:  $\alpha$  e  $\beta$ , além do índice de dispersão  $\theta$  (Hugges & Madden, 1993; Madden & Hugges, 1995; Xu et al., 1998; Madden & Hugges, 1999; Turechek & Madden, 1999; Turechek & Madden, 2000; Dallot et al., 2003; Gent et al., 2007). Na distribuição binomial negativa, a doença apresenta padrão mais agregado do que na distribuição beta-binomial. Os dois parâmetros são:  $\mu$  e  $K$ , este último é o índice de dispersão, para a distribuição binomial negativa. O índice de dispersão  $K$  pode ser obtido de duas maneiras. A primeira maneira considera a distribuição da frequência sendo “suave” (sem variações abruptas no histograma), então o melhor estimador é o da máxima verossimilhança; e, no caso de distribuições de frequência “não suave”, o cálculo de  $K$  é obtido pelo estimador aproximado ( $K$  aproximado) (Krebs, 1998). Na distribuição de Poisson, a média é igual à variância, as plantas doentes estão distribuídas num padrão aleatório. Nesta distribuição é assumido que o número de plantas doentes é o mesmo em todos os quadrats (Krebs, 1998). Um dos testes formais utilizados para verificar o ajuste dessas distribuições é o qui-quadrado (Nicot et al., 1984; Hugges & Madden, 1993; Madden & Hugges, 1995; Krebs, 1998).

Para quantificação do grau de agregação espacial em uma população utilizam-se os índices de dispersão ou agregação. Os índices de dispersão dependem do tamanho do quadrat amostrado, do número de amostras, do número total de indivíduos da amostra e da densidade média por quadrat (Campbell & Madden, 1990). Alguns índices de dispersão podem ser obtidos, através das distribuições estatísticas: o parâmetro  $\theta$  da distribuição beta-binomial e o parâmetro  $K$  da binomial negativa. Mas, existem outros como: a relação variância/média e o índice de Lloyd de patchiness. Em alguns patossistemas, estes índices são utilizados para caracterizar o grau de agregação de doenças no campo (Madden & Hugges, 1995; Copes et al., 2001).

### **2.5.2- Padrão espacial de doenças**

Vários estudos têm utilizado distribuições estatísticas para entender o padrão espacial das doenças no campo (Turechek & Madden, 1999; Turechek & Madden, 2000; Turechek et al., 2001). Por exemplo, nos patossistemas *Phomopsis obscurans*/morango e *Mycosphaerella fragariae*/morango, a distribuição beta-binomial descreveu o padrão das doenças. Nestes patossistemas, o arranjo das doenças foi agregado (Turechek & Madden, 2000). Os mesmos autores, em estudo anterior, descreveram o padrão espacial da *Mycosphaerella fragariae*/morango utilizando as distribuições beta-binomial e binomial. Entretanto, em 93% dos casos, a distribuição beta-binomial descreveu melhor o arranjo da doença no campo (Turechek & Madden, 1999). Em outro estudo, as mesmas duas distribuições foram ajustadas aos dados, para tentar descrever o comportamento do patossistema *Phomopsis obscurans*/morango. Mais uma vez, a distribuição beta-binomial ajustou-se melhor aos dados, em mais de 90% das situações (Turechek et al., 2001).

Xiao et al. (1997) utilizaram o índice de pachiness de Lloyd (LIP) para determinar a agregação de microesclerócios de *Verticillium dahliae* em lavouras de couve-flor. Charest et al. (2002) utilizaram a relação variância/média para descrever o padrão de distribuição (aleatório ou agregado) de *Venturia inaequalis* em pomares de maçã. O padrão da doença foi fortemente agregado e a distribuição que melhor descreveu os dados foi a binomial negativa. Nicot et al. (1984) utilizaram a relação variância/média e o índice de pachiness de Lloyd, para investigar o padrão espacial de doenças causadas por patógenos de solo. Verificou-se que, dados ajustados com a distribuição de Poisson, apresentaram os dois índices iguais a 1 (padrão aleatório), enquanto que, dados ajustados a distribuição binomial negativa apresentaram os dois índices com valores superiores a 1, indicando padrão agregado.

### **2.5.3- Procedimentos de amostragem baseado em padrão espacial**

Com os dados ajustados a uma distribuição e/ou índices de dispersão, a estimativa do tamanho das amostras torna-se mais confiável (Campbell & Madden, 1990; Krebs, 1998; Madden & Hugges, 1999). A amostragem, no contexto do estudo de epidemias de doenças de plantas, constitui-se uma das atividades mais importantes (Campbell & Madden, 1990; Campbell & Neher, 1994; Neher & Campbell, 1997; Madden & Hugges, 1999). Com um plano de amostragem adequado, estimativas mais representativas das características de uma

população de plantas podem ser obtidas (Campbell & Madden, 1990; Neher & Campbell, 1997; Brown, 1998; Cooke, 1998; Lúcio et al., 2003).

Para obter um tamanho de amostras é necessário conhecer o patossistema a ser amostrado, definir quais os dados serão obtidos, o grau de precisão desejado e utilizar racionalmente o tempo e/ou os recursos financeiros disponíveis (Cochran, 1963; Campbell & Duthie, 1989; Campbell & Neher, 1994; Madden & Hugges, 1999). Além disso, este planejamento deverá representar uma adequação entre o que é biologicamente e estatisticamente razoável (Campbell & Duthie, 1989; Campbell & Neher, 1994). Um dos objetivos da amostragem é obter uma estimativa precisa de alguma característica da população. Esta precisão ou confiabilidade é quantificada pelo coeficiente de variação ou pelo intervalo de confiança (Campbell & Madden, 1990; Madden et al., 2007).

Em alguns patossistemas foram utilizadas distribuições de probabilidade para determinação do tamanho das amostras (Turechek & Madden, 1999; Wheeler et al., 2000; Spósito et al. 2007). No patossistema *Guignardia citricarpa*/citros o dados foram ajustados a uma distribuição binomial negativa e, o tamanho das amostras foi determinado admitindo a precisão pelo coeficiente de variação (Spósito et al., 2007). Enquanto que, em outros patossistemas, quando não é definida a distribuição à qual os dados estão ajustados, considera-se a mesma como normal (Czermainski & Valdebenito-Sanhueza, 2001; Silva et al., 2009).

Além da obtenção do tamanho das amostras em um determinado momento, o estudo da dinâmica das doenças em épocas diferentes pode contribuir para melhor entendimento de epidemias. Em alguns trabalhos, este tipo de padrão é caracterizado (Wu et al., 2001; Wheeler et al., 2000). Entretanto, para infecções quiescentes em pós-colheita não foram encontrados estudos dessa natureza.

Com relação à avaliação do tamanho da amostra, poucos são os estudos na Fitopatologia, que contemplam uma metodologia coerente para as doenças (Madden & Hugges, 1999). E, na pós-colheita, trabalhos com objetivos de propor tamanhos de amostras ainda são escassos, principalmente para infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adikaram, N.K.B.; Brown, A.E.; Swinburne, T.R. Phytoalexin involvement in the latent infection of *Capsicum annuum* L. fruit by *Glomerella cingulata* (Stonem.). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 21: 161-170, 1982.

Adaskaveg, J.E.; Forster, H.; Thompson, D.F. Identification and etiology of visible quiescent infections of *Monilinia fructicola* and *Botrytis cinerea* in sweet cherry fruit. *Plant Disease* 84: 328-333, 2000.

Alvarez, A.M. & Nishijima, W.T. Postharvest diseases of papaya. *Plant Disease* 71: 681-686, 1987.

Awad, M. *Fisiologia pós-colheita de frutos*. São Paulo: Nobel. 111p., 1993.

Bailey, J.A. & Jeger M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England. 388p., 1992.

Barmore, C.R.; Brown, G.E. Influence of ethylene on increased susceptibility of oranges to *Diplodia natalensis*. *Plant Disease* 69: 228-230, 1985

Beno-Moualem, D. & Prusky, D. Early events during quiescent infection development by *Colletotrichum gloeosporioides* in unripe avocado fruits. *Phytopathology* 90: 553-559, 2000.

Biggs, A.R. Detection of latent infections in apple fruit with paraquat. *Plant Disease* 79: 1062-1067, 1995.

Binyamini, N. & Schiffmann-Nadel, M. Latent infection in avocado fruit due to *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* 62: 592-594, 1972.

Brown, J.K.M. Surveys of variation in pathogen populations and their application to disease control. In: Jones, D.G. *The epidemiology of Plant Diseases*. Kluwer Academic Publishers: Netherlands. 73-102p., 1998.

Campbell, C.L.; Duthie, J.A. Sampling for disease assessment. Biological and cultural tests for control of plant diseases: St. Paul, v.4, p.5-8, 1989.

Campbell, C.L. & Madden, L.V. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley and Sons: New York. 532p., 1990.

Campbell, C.L.; Neher, D.A. Estimating disease severity and incidence. In: Campbell, C.L.; Benson, D.M. (Eds.). Epidemiology and management of root diseases. Berlin : Springer-Verlag. p.117-142.,1994.

Chau, K.F.; Alvarez, A.M. A histological study of anthracnose on *Carica papaya*. Phytopathology 73:1113-1116, 1983.

Chakravarty, T. Anthracnose of banana (*Gloeosporium musarum* Cke. & Masee) with special reference to latent infection in storage. Transactions of the British Mycological Society 40: 337-345, 1957.

Charest, J.; Dewdney, M.; Paulitz, T.; Pillion, V. & Carisse, O. Spatial distribution of *Venturia inaequalis* airborne ascospores in orchards. Phytopathology 92: 769-779, 2002.

Chillet, M.; Hubert, O.; Lapeyre de Bellaire, L. Relationship between ripening and the development of banana anthracnose caused by *Colletotrichum musae* (Berck. And Curt.) Arx. Journal of Phytopathology 154: 143-147, 2006.

Cochran, W.G. Sampling techniques. John Wiley & Sons, Inc: New York, 1963.

Cooke, B.M. Disease assessment and yield loss. In: Jones, D.G. The epidemiology of Plant Diseases. Kluwer Academic Publishers: Netherlands. 42-72p., 1998.

Copes, W.E.; Scherm, H. & Ware, G.O. Sequential sampling to assess the incidence of infection by *Monilinia vaccinii-corymbosi* in mechanically harvested rabbiteye blueberry fruit. Phytopathology 91:348-353, 2001.

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. (eds.) A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção. Vitória, ES: Incaper, p.57-102, 2003.

Czermainski, A.B.C.; Valdebenito-Sanhueza, R.M. Método de amostragem para estimar incidência de frutos com infecções latentes de *Glomerella cingulata* e *Botryosphaeria dothidea* em pomares de macieira. Comunicado Técnico 41: Embrapa Uva e Vinho.4p., 2001.

Dalot, S.; Gottwald, T.; Labonne, G.; Quiot, J-B. Spatial pattern analysis of Sharka disease (Plum pox virus strain M) in peach orchards of southern France. *Phytopathology* 93: 1543-1552, 2003.

Dantas, S.A.F.; Oliveira, S.M.A.; Michereff, S.J.; Nascimento, L.C.; Gurgel, L.M.S.; Pessoa, W.R.L.S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. *Fitopatologia Brasileira* 28: 528-533, 2003.

Dickman, M.B. & Alvarez, A.M. Latent infections of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 67: 748-750, 1983.

Dillard, H.R. Effect of temperature, wetness duration, and inoculum density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. *Phytopathology* 79: 1063-1066, 1989.

Dodd, J.C.; Estrada, A.B.; Matcham, J.; Jeffries, P. & Jeger, M.J. The effect of climatic factors on *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of mango anthracnose, in the Philippines. *Plant Pathology* 40: 568-575, 1991.

Droby, S.; Prusky, D.; Jacoby, B.; Goldman, A. Presence of antifungal compounds in the peel of mango fruits and their relation to latent infections of *Alternaria alternata*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 29: 173-183, 1986.

Dugan, F.M.; Lupien, S.L.; Grove, G.G. Incidence, aggressiveness and *in planta* interactions of *Botrytis cinerea* and other filamentous fungi quiescent in grape berries and dormant buds in Central Washington State. *Journal of Phytopathology* 150: 375-381, 2002.

FAOSTAT- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>> Acesso em: 16/02/2010.

Fulton, J.P. Infection of tomato fruits by *Colletotrichum phomoides*. Phytopathology 38: 235-246, 1948.

Gent, D.H.; Turechek, W.W.; Mahaffee, W.F. Sequential sampling for estimation and classification of the incidence of hop powdery mildew I: leaf sampling. Plant Disease 91: 1002-1012, 2007.

Griffin, D.H. Fungal physiology. Wiley-Liss: New York. 375-398p., 1994.

Hartung, J.S.; Burton, C.L. & Ramsdell, D.C. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Phytopathology 71: 449-453, 1981.

Hayward, A.C. Latent infections by bacteria. Annual Review of Phytopathology 12: 87-97, 1974.

Hindorf, H. *Colletotrichum* spp. causing anthracnose of tropical crops. Acta Horticulturae 531: 275-282, 2000.

Hughes, G. & Madden, L.V. Using the beta-binomial distribution to describe aggregated patterns of disease incidence. Phytopathology 83: 759-763, 1993.

IBGE- Sistema IBGE de Recuperação Automática- SIDRA. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&o=11&i=P&c=1613>> Acesso em: 16/02/2010.

Ishikawa, S. Method to diagnose latent infection by *Glomerella cingulata* in strawberry plants using ethanol. Journal of General Plant Pathology 69: 372-377, 2003.

Ishikawa, S. Simple diagnosis using ethanol immersion of strawberry plants with latent infection by *Colletotrichum acutatum*, *Dendrophoma obscurans*, and *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. *Journal of General Plant Pathology* 70: 249-255, 2004a.

Ishikawa, S. Correlation between field disease and latent infection by *Glomerella cingulata* of strawberry plants as revealed by a simple diagnostic method using ethanol immersion. *Journal of General Plant Pathology* 70: 333-335, 2004b.

Jarvis, W.R. Latent infections in the pré-and postharvest environment. *Hortscience* 29: 749-751, 1994.

Jeffries, P.; Dodd, J.C.; Jeger, M.J.; Plumbley, R.A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. *Plant Pathology* 39: 343-366, 1990.

King, W.T.; Madden, L.V.; Ellis, M.A.; Wilson, L.L. Effects of temperature on sporulation and latent period of *Colletotrichum* spp. infecting strawberry fruit. *Plant Disease* 81: 77-84, 1997.

King, R.E.; Bomser, J.A.; Min, D.B. Bioactivity of resveratrol. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 5: 65-70, 2006.

Klingelfuss, L.H. & Yorinori, J.T. Infecção latente de *Colletotrichum truncatum* e *Cercospora kikuchii* em soja. *Fitopatologia Brasileira* 26: 158-164, 2001.

Kobiler, I.; Reved, R.; Artez, L.; Prusky, D. Antifungal compounds regulating quiescent diseases in mango. In: Johnson, G.I.; Highley, E.; Joyce, D.C. Disease resistance in fruit. *Proceedings of an International Workshop held at Chiang Mai: Thailand*. 233p., 1998.

Krebs, C.J. *Ecological methodology*. University of British Columbia: 620p., 1998.

Lapeyre de Bellaire, L.; Chillet, M.; Mourichon, X. Elaboration of an early quantification method of quiescent infections of *Colletotrichum musae* on bananas. *Plant Disease* 84: 128-133, 2000.

Lee, M-H; Bostock, R.M. Fruit exocarp phenols in relation to quiescence and development of *Monilinia fructicola* infections in *Prunus* spp.: a role for cellular redox? *Phytopathology* 97: 269-277, 2007.

Lúcio, A.D.; Souza, M.F.; Heldwein, A.B.; Lieberknecht, D.; Carpes, R.H.; Carvalho, M.P. Tamanho de amostra e método de amostragem para avaliação de características do pimentão em estufa plástica. *Horticultura Brasileira* 21: 181-185, 2003.

Luo, Y.; Ma, Z.; Michailides, T.J. Analysis of factors affecting latent infection and sporulation of *Monilinia fructicola* on prune fruit. *Plant Disease* 85: 999-1003, 2001.

Luo, Y. & Michailides, T.J. Factors affecting latent infection of prune fruit by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology* 91: 864-872, 2001a.

Luo, Y. & Michailides, T.J. Risk analysis for latent infection of prune by *Monilinia fructicola* in California. *Phytopathology* 91: 1197-1208, 2001b.

Luo, Y. & Michailides, T.J. Threshold conditions that lead latent infection to prune fruit rot caused by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology* 93: 102-111, 2003.

Madden, L.V. & Hughes, G. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity, and temporal analysis. *Annual Review of Phytopathology* 33: 529-564, 1995.

Madden, L.V. & Hughes, G. Sampling for plant disease incidence. *Phytopathology* 89: 1088-1103, 1999.

Madden, L.V.; Hughes, G.; Van den Bosh, F. The study of plant disease epidemics. The American Phytopathological Society: St Paul, Minesota, USA. 421p., 2007.

Medina, J.C. Cultura. In: Medina, J.C.; Bleinroth, E.W.; Sigrist, J.M.M.; De Martin, Z.J.; Nisida, A.L.A.C.; Baldini, V.L.S.; Leite, R.S.S.F. & Garcia, A.E.B. Mamão: cultura, material-prima, processamento e aspectos econômicos. Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL): Campinas. p.1-177., 1989.

- Menezes, M. & Hanlin, R.T. Appressoria of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. causal agent of anthracnose diseases. *Revista de Microbiologia* 27: 247-251, 1996.
- Monroe, J.S.; Santini, J.B.; Latin, R. A model defining the relationship between temperature and leaf wetness duration, and infection of watermelon by *Colletotrichum orbiculare*. *Plant Disease* 81: 739-742, 1997.
- Neher, D.A.; Campbell, C.L. Determining sample size. In: Francl, L.J.; Neher, D.A. (Eds.). *Exercises in plant disease epidemiology*. St. Paul : The American Phytopathological Society. p.12-15, 1997.
- Nicot, P.C.; Rouse, D.I.; Yandell, B.S. Comparison of statistical methods for studying spatial patterns of soilborne plant pathogens in the field. *Phytopathology* 74: 1399-1402, 1984.
- Ntahimpera, N.; Driever, G.F.; Felts, D.; Morgan, D.P.; Michailides, T.J. Dynamics and pattern of latent infection caused by *Botryosphaeria dothidea* on pistachio buds. *Plant Disease* 86: 282-287, 2002.
- Pandey, R.R.; Arora, D.K.; Dubey, R.C. Effect of environmental conditions and inoculum density on infection of guava fruits by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Mycopathologia* 137: 165-172, 1997.
- Parikka, P. & Lemmetty, A. Tracing latent infection of *Colletotrichum acutatum* on strawberry by PCR. *European Journal of Plant Pathology* 110: 393-398, 2004.
- Parlevliet, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology* 17: 203-222, 1979.
- Patil, S.S.; Tang, C.S.; Hunter, J.E. Effect of benzyl isothiocyanate treatment on the development of postharvest rots in papayas. *Plant Disease Reporter* 57: 86-89, 1973.
- Persley, D.M. & Ploetz, R.C. Diseases of papaya. In: Ploetz, R.C. *Diseases of tropical fruit crops*. CAB International: Wallingford, England. p. 373-412, 2003.

- Pascholati, S.F.; Deising, H.; Leite, B.; Anderson, D.; Nicholson, R.L. Cutinase and non-specific esterase activities in the conidial mucilage of *Colletotrichum graminicola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 42: 37-51, 1993.
- Pessoa, W.R.L.S.; Oliveira, S.M.A.; Dantas, S.A.F.; Tavares, S.C.C.H.; Santos, A.M.G. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. *Summa Phytopathologica* 33: 147-151, 2007.
- Prusky, D.; Fuchs, Y.; Zauberman, G. A method for pre-harvest assessment of latent infections in fruits. *Annals Applied of Biology* 98: 79-85, 1981.
- Prusky, D.; Fuchs, Y. & Yanko, U. Assessment of latent infections as a basis for control of postharvest disease of mango. *Plant Disease* 67: 816-818, 1983.
- Prusky, D. & Plumbley, R.A. Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: Bailey, J.A. & Jeger M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England. 289-307p., 1992.
- Prusky, D.; Gat, Z.; Burd, P. Effect of relative humidity during mango growth on the incidence of quiescent infections of *Alternaria alternata*. *Plant Disease* 77: 249-252, 1993.
- Prusky, D. & Keen, N. T. Involvement of preformed antifungal compounds in the resistance of subtropical fruits to fungal decay. *Plant Disease* 77: 114-119, 1993.
- Prusky, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Annual Review of Phytopathology* 34: 413-434, 1996.
- Prusky, D.; Wattad, C.; Kobilier, I. Effect of ethylene on avocado of lesion development from quiescent infections of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado fruits. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9: 864-868, 1996.
- Prusky, D.; Ardi, R.; Kobilier, I.; Beno-Moalem, D.; Leikin, A. Mechanism of resistance of avocado fruits to *Colletotrichum gloeosporioides* attack. In: Johnson, G.I.; Highley, E.; Joyce, D.C. *Disease resistance in fruit. Proceedings of an International Workshop held at Chiang Mai: Thailand*. 233p., 1998.

Rajeswari, S.; Palaniswami, A.; Rajappan, K. A chemodiagnostic method for the early detection of symptomless latent infection of *Colletotrichum musae* in banana fruits. *Plant Disease Research* 12: 52-55, 1997.

Sanchez-Ballesta, M.A.; Jiménez, J.B.; Romero, I.; Orea, J.M.; Maldonado, R.; Ureña, A.G.; Escribano, M.I.; Merodio, C. Effect of high CO<sub>2</sub> pretreatment on quality, fungal decay and molecular regulation of stilbene phytoalexin biosynthesis in stored table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 42: 209-216, 2006.

Sharaf, A.; Ahmed, F.A. & El-Saadany, S.S. Biochemical changes in some fruits at different ripening stages. *Food Chemistry* 31: 19-28, 1989.

Serra, A.; Domingos, F.; Prata, M.M. Intoxicação por Paraquat. *Acta Médica Portuguesa* 16: 25-32, 2003.

Silva, C.F.B.; Michereff, S.J.; Albuquerque, H.S.; Silva, J.A.; Oliveira, S.M.A.; Dantas, S.A.F. Epidemiologia de enfermidades fúngicas de postcosecha em frutos de papaya. *Boletim Micológico* 17: 1-7, 2002.

Silva, S.X.B.; Laranjeira, F.F.; Soares, A.C.F.; Michereff, S. J. Amostragem, caracterização de sintomas e escala diagramática da mancha graxa dos citros (*Mycosphaerella citri*) no Recôncavo Baiano. *Ciência Rural* 39: 896-899, 2009.

Sinclair, J.B. Latent infection of soybean plants and seeds by fungi. *Plant Disease* 75: 220-224, 1991.

Sutton, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey, J.A. & Jeger M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England. 1-26p., 1992.

Sommer, N.F. Postharvest handling practices and postharvest diseases of fruit. *Plant Disease* 66: 357-364, 1982.

- Spósito, M.B.; Amorim, L.; Ribeiro Jr, P.J.; Bassanezzi, R.B.; Krainski, E.T. Spatial pattern of trees affected by black spot in citrus groves in Brazil. *Plant Disease* 91: 36-40, 2007.
- Swinburne, T.R. Quiescent infections in post-harvest diseases. In: Dennis, C. *Postharvest Pathology of Fruits and Vegetables*. Academic Press: London, New York e Paris. 1-21p., 1983.
- Tatagiba, J.S.; Liberato, J.R.; Zambolim, L.; Ventura, J.A.; Costa, H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 27: 186-192, 2002
- Timmer, L.W.; Brown, G.E.; Zitzko, S.E. The role of *Colletotrichum* spp. in postharvest anthracnose of citrus and survival of *C. acutatum* on fruit. *Plant Disease* 82: 415-418, 1998.
- Turecek, W.W. & Madden, L.V. Spatial pattern analysis and sequential sampling for the incidence of leaf spot on strawberry in Ohio. *Plant Disease* 83: 992-1000, 1999.
- Turecek, W.W. & Madden, L.V. Analysis of the association between the incidence of two spatially aggregated foliar diseases of strawberry. *Phytopathology* 90: 157-170, 2000.
- Turecek, W.W.; Ellis, M.A.; Madden, L.V. Sequential sampling for incidence of Phomopsis leaf blight of strawberry. *Phytopathology* 91: 336-347, 2001.
- Valdebenito-Sanhueza, R.M.; Duarte, V.; Amorim, L.; Porto, M.D.M. Detecção e epidemiologia da podridão branca da maçã. *Fitopatologia Brasileira* 30: 217-223, 2005.
- Ventura, J.A.; Costa, H. & Tatagiba, J.S. Manejo das doenças do mamoeiro. In: Martins, D.S.; Costa, A.F.S. (eds.) *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*. Vitória, ES: Incaper, p.229-308, 2003.
- Verhoeff, K. Latent infections by fungi. *Annual Review of Phytopathology* 12: 99-110, 1974.
- Xiao, C.L.; Hao, J.J.; Subbarao, K.V. Spatial patterns of microslerotia of *Verticillium dahliae* in soil and *Verticillium* wilt of cauliflower. *Phytopathology* 87: 325-331, 1997.

Xu, X-M. & Ridout, M.S. Effects of initial epidemic conditions, sporulation rate, and spore dispersal gradient on the spatio-temporal dynamics of plant disease epidemics. *Phytopathology* 88:1000-1012, 1998.

Wharton, P.S. & Diéguez-Uribeondo, J. The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61: 3-22, 2004.

Wheeler, T.A.; Madden, L.V.; Rowe, R.V. & Riedel, R.M. Effects of quadrat size and time of year for sampling of *Verticillium dahliae* and lesion nematodes in potato fields. *Plant Disease* 84: 961-966, 2000.

Williamson, B. Latency and quiescence in survival and success of fungal plant pathogens. In: Blakeman, J.B. & Williamson, B. *Ecology of Plant Pathogens*. 187- 207, 1994.

Wilson, L.L.; Madden, L.V.; Ellis, M.A. Influence of temperature and wetness duration on infection of immature and mature strawberry fruit by *Colletotrichum acutatum*. *Phytopathology* 80: 111-116, 1990.

Wu, B.M.; Van Bruggen, A.H.C.; Subbarao, K.V. & Pennings, G.G.H. Spatial analysis of lettuce downy mildew using geostatistics and geographic information systems. *Phytopathology* 91: 134-142, 2001.

# CAPÍTULO 1

## **Detecção de infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão**

Christiana F.B. Silva, Sami J. Michereff, Luiz A. Maffia, Carlos H. O. Silva & Eduardo S.G. Mizubuti

### **1. Introdução**

As infecções quiescentes em frutos de mamão são causadas por *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. & Von Schrenk [anamorfo: *Colletotrichum* spp. (Penz) Penz & Sacc] (Bailey & Jeger, 1992) e resultam na ocorrência das doenças antracnose, mancha chocolate e podridão peduncular, em pós-colheita (Alvarez & Nishijima, 1987; Bailey & Jeger, 1992). No caso da antracnose, com o desenvolvimento das infecções quiescentes nos frutos maduros, formam-se lesões escuras, levemente deprimidas, de tamanho variável e, em geral, arredondadas. Com o passar do tempo, as lesões podem coalescer e ocupar todo o fruto (Persley & Ploetz, 2003). Em condições de umidade relativa elevada e temperaturas superiores a 22°C, observam-se conídios imersos numa massa alaranjada no centro das lesões (Bailey & Jeger, 1992; Menezes & Hanlin, 1996). Entretanto, sob determinadas condições, o hospedeiro em resposta a infecção pelo patógeno produz mecanismos de defesa como a calose. Assim, ocorrem lesões superficiais, de coloração avermelhada, encharcadas nas margens, que são denominadas mancha chocolate (Dickman & Alvarez, 1983; Alvarez & Nishijima, 1987). Além da superfície do fruto, o patógeno pode penetrar também pelo pedúnculo, quando causa a doença denominada podridão peduncular (Alvarez & Nishijima, 1987).

O fenômeno de quiescência é caracterizado pela inibição do desenvolvimento do patógeno no tecido do hospedeiro, em alguma fase do processo de infecção (Swinburne, 1983; Prusky & Plumbley, 1992; Jarvis, 1994). Os mecanismos envolvidos na quiescência parecem estar relacionados às condições fisiológicas do hospedeiro (Jarvis, 1994; Wharton & Diéguez-Uribeondo, 2004), bem como aos fatores ambientais (temperatura e umidade) (Luo & Michailides, 2001a,b; Ntahimpera et al., 2002). Ao término da fase de impedimento da

infecção, com a maturação do fruto, o desenvolvimento é reativado (Verhoeff, 1974; Prusky, 1996). Em frutos imaturos, postula-se ocorrer quatro mecanismos responsáveis pela quiescência: presença de compostos anti-fúngicos pré- formados e pós-formados; falta de nutrientes para o patógeno; e a não ativação dos fatores de patogenicidade do patógeno (inibição ou a não produção de enzimas) (Swinburne, 1983; Prusky, 1996).

A detecção de infecções quiescentes é crítica para que as doenças pós-colheita sejam bem manejadas (Biggs, 1995; Prusky, 1996). Há várias técnicas para detectar infecções quiescentes em frutos tropicais, baseadas principalmente em: PCR (Parikka & Lemmetty, 2004), luz ultravioleta (UV) (Ishikawa, 2003), etanol (Ishikawa, 2003; Ishikawa 2004a,b), paraquat (Biggs, 1995) e cultivo em meios suplementados com fungicidas (Prusky et al., 1981). Relativo às doenças causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão, não se obtiveram trabalhos que avaliaram métodos, e os efeitos da idade de maturação de frutos e da temperatura para detectar estas doenças.

Dentre os fatores ambientais que influenciam a detecção das infecções quiescentes, a temperatura é preponderante, pois afeta todas as fases da infecção (Dodd et al., 1991; Estrada et al., 2000). Apesar de os patossistemas *Colletotrichum* spp. x frutas tropicais serem classificados como problemas sérios, há poucos estudos sobre a influência da temperatura na detecção de infecções quiescentes de *Colletotrichum* spp. No patossistema *C. musae* x banana, já se conhece como a temperatura afeta a detecção de infecções quiescentes (Lapeyre de Bellaire et al., 2000). Apesar da importância, no patossistema *Colletotrichum* spp. x mamão, ainda não existem trabalhos. Portanto, os objetivos desse estudo foram comparar métodos e idade ideal quanto à acurácia na detecção de infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão, bem como avaliar a influência da temperatura de conservação de frutos de mamão na detecção de infecções quiescentes.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1- Métodos de detecção de infecções quiescentes**

De um total de 24 áreas de cultivo selecionaram-se nove (áreas de 1 a 9, Tabela 1), colheram-se 144 frutos, 120 imaturos com idade fisiológica de três semanas antes do ponto de colheita, e 24 no ponto de colheita. Formaram-se grupos de quatro frutos imaturos,

alocado em uma bandeja (unidade experimental), os quais foram submetidos aos tratamentos (Tabela 2).

Após os tratamentos, os frutos de cada unidade experimental foram secos em condições assépticas e depositados em bandejas plásticas (28 x 19 x 11 cm) forradas com quatro camadas de papel toalha umedecidas com 100 mL de água destilada. Cada fruto foi colocado sobre uma tampa de placa de Petri esterilizada, para evitar contato direto com a água. As bandejas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob luz fluorescente (200 lux), a  $25 \pm 2$  °C. Após 8 dias, os frutos foram inspecionados, e as doenças foram identificadas pelo exame, ao microscópio de luz, de lâminas contendo os conídios e/ou pela realização de isolamentos dos patógenos. A incidência foi determinada pelo número de frutos doentes, em relação ao total de frutos de cada unidade experimental.

Os seis tratamentos foram alocados a unidade experimental, com 6 repetições, o que totalizou 36 bandejas por área, por vez, em um delineamento experimental inteiramente casualizado. Na análise dos dados consideraram-se os efeitos das áreas como fixo (um total de 9 áreas x 144 frutos).

## **2.2- Influência da idade dos frutos na detecção de infecções quiescentes**

Após a seleção dos métodos para detecção das infecções quiescentes, avaliou-se a influência da maturidade dos frutos na detecção das infecções. De um total de 24 áreas de cultivo selecionaram-se dez (áreas de 10 a 19, Tabela 1), onde se colheram 128 frutos imaturos, com idades fisiológicas de 3, 4, 5 ou 6 semanas antes do ponto de colheita. Adicionalmente, colheram-se 16 frutos no ponto de colheita. Formaram-se grupos de 4 frutos imaturos, que foram alocados em uma bandeja (unidade experimental), os quais foram submetidos aos tratamentos 2, 4 e 6 (Tabela 2). Os frutos foram submetidos às mesmas condições de incubação e procedimentos de avaliação como descritos no item 2.1.

Os três tratamentos foram alocados a unidade experimental, com 4 repetições o que totalizou 12 bandejas por área, por vez, para cada idade, em um delineamento experimental inteiramente casualizado. Na análise dos dados consideraram-se os efeitos das áreas como fixo (um total de 10 áreas x 144 frutos).

### **2.3- Influência da temperatura de incubação na detecção de infecções quiescentes**

Colheram-se, de um total de 24 áreas, cinco áreas de cultivo de mamoeiro localizadas no Estado da Paraíba (áreas de 20 a 24, Tabela 1). Em cada pomar, colheram-se 160 frutos imaturos, no estágio de três semanas antes da colheita, e 80 frutos em ponto de colheita, os quais foram acondicionados em embalagens plásticas.

Em condições de laboratório, subdividiram-se os frutos imaturos em grupos de 4 frutos cada. Cada grupo correspondente a uma unidade experimental foi submetido aos tratamentos 4 e 5. Os frutos controle foram submetidos ao tratamento 6 (Tabela 2).

Após o tratamento, os frutos de uma unidade experimental foram secos em condições assépticas e depositados em bandejas plásticas (28 x 19 x 11 cm) forradas com quatro camadas de papel toalha umedecidas com 100 mL de água destilada. Cada fruto foi colocado sobre uma tampa de placa de Petri esterilizada, para evitar contato direto com a água. As bandejas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas a 22, 25, 28, 31 e 34 °C.

Após 8 dias de incubação, os frutos foram inspecionados e as doenças foram identificadas pelo exame, ao microscópio de luz, de lâminas contendo os conídios e/ou pela realização de isolamentos dos patógenos. A incidência foi determinada pelo número de frutos doentes, em relação ao total de frutos de cada unidade experimental.

Os três tratamentos tiveram 4 repetições o que totalizou 12 bandejas por área, por vez, para cada temperatura, em delineamento experimental inteiramente casualizado. Na análise dos dados consideraram-se os efeitos das áreas como fixo (um total de 5 áreas x 240 frutos).

## **2.4- Análises dos dados**

### **2.4.1- Determinação de métodos de detecção de infecções quiescentes**

Para análise exploratória dos dados, foram construídos diagramas em caixa (*box-plots*) para cada combinação área-método. Testou-se a hipótese de homogeneidade entre os métodos pelo teste de qui-quadrado, dentro de cada área. Posteriormente, foram realizadas as análises de risco relativo (RR), para cada área (Zhang & Yu, 1998). Esta análise geralmente compara duas probabilidades, ou seja, compara-se o risco de se obter determinada resposta

em duas condições distintas (Della Lúcia et al, 2009). Em termos fitopatológicos, o objetivo dessa análise é comparar a probabilidade de detectar a doença em um método padrão (frutos no ponto de colheita) à probabilidade de detectar em um método alternativo, ou seja, cada método aqui avaliado (Kleinbaum et al., 1982). Para realizar as análises, foi construída uma tabela de dupla entrada para os dados (Agresti, 2002) (Tabela 3). Com base na Tabela 3, tem-se que  $R_1 = \frac{n_{12}}{24}$  é o risco de detecção da doença pelo método padrão (razão entre o total de frutos doentes pelo número total de frutos avaliados); e  $R_2 = \frac{n_{22}}{24}$  é o risco de detectar a doença pelo método alternativo (razão entre o total de frutos doentes pelo número total de frutos avaliados). O risco relativo (RR) é dado por  $RR = \frac{R_1}{R_2} = \frac{n_{12}}{n_{22}}$  (Kleinbaum et al., 1982). A hipótese de nulidade é que as probabilidades (risco) em ambos os métodos são iguais (RR =1). A hipótese alternativa é que a probabilidade é maior (RR >1 - superestimativa) ou menor (RR <1 - subestimativa) no método alternativo. O intervalo de confiança (95%) foi obtido para cada estimativa do risco relativo. Efetuaram-se as análises com o Programa R (versão 2.10.1 for Windows).

#### **2.4.2- Influência da idade dos frutos na detecção de infecções quiescentes**

Para cada método de detecção (Paraquat e Ethrel) realizou-se análise de variância ajustando o modelo:  $y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i\beta_j + e_{ijk}$ , onde  $\mu$ = média,  $\alpha_i$  = efeito da área,  $\beta_j$ = efeito da idade,  $\alpha_i\beta_j$ = interação da área e idade,  $e_{ijk}$ = erro experimental. O teste de Dunnett ( $\alpha = 0,05$ ) foi usado para a comparação das médias (Chew, 1977). As análises foram realizadas com o Programa SAS (versão 9.0 for Windows).

#### **2.4.3-Influência da temperatura de incubação na detecção de infecções quiescentes**

Realizaram-se as análises de variância para os dados de incidência de cada doença em cada local, de acordo com o modelo:  $y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i\beta_j + e_{ijk}$ , onde  $\mu$ = média,  $\alpha_i$  = efeito do método,  $\beta_j$ = efeito das temperaturas,  $\alpha_i\beta_j$  = interação do método e temperaturas,  $e_{ij}$ = erro experimental.

Como no item anterior, para cada área e combinação temperatura-método, calculou-se o risco relativo (RR), por área. As análises foram realizadas com os programas R e SAS.

### **3.Resultados**

#### **3.1- Métodos de detecção de infecções quiescentes**

Para a mancha chocolate, quando se procederam as análises dos diagramas em caixa, a sensibilidade dos métodos foi semelhante à do ponto de colheita. Entretanto, na área 1, os métodos foram mais sensíveis em detectar a incidência da doença, do que os frutos no ponto de colheita (Figura 1). Pelo teste de qui-quadrado, houve homogeneidade entre os métodos de detecção, em 7 áreas (Tabela 4). Em 9 áreas, obteve-se RR=1 para os métodos Paraquat e Ethrel, portanto, esses métodos foram semelhantes ao método do ponto de colheita (padrão) (Tabela 5).

Para a antracnose, nas áreas 1 e 4, os métodos foram mais sensíveis em detectar a doença (Figura 2), do que os frutos no ponto de colheita. Houve homogeneidade entre os métodos em 2 áreas (Tabela 4). Em 7, das 9 áreas, os métodos subestimaram a doença. Entretanto, o método Ethrel em 7 áreas apresentou RR=1 (Tabela 5).

Para a podridão peduncular, na área 7, os métodos foram mais sensíveis em detectar a doença (Figura 3), do que os frutos no ponto de colheita. Pelo teste de qui-quadrado, constatou-se homogeneidade entre os métodos, em todas as áreas (Tabela 4). Independente das áreas, os métodos Paraquat e Ethrel apresentaram RR= 1 (Tabela 5).

#### **3.2- Influência da idade dos frutos na detecção de infecções quiescentes**

Houve efeito das áreas, idades e da interação área\*idade ( $P < 0,0001$ ), para todas as doenças quando detectadas por ambos os métodos (Paraquat e Ethrel).

Para a mancha chocolate, em 8 das 10 áreas amostradas, a incidência em frutos colhidos a 3 semanas antes da maturação não diferiu da incidência estimada em frutos no ponto de colheita. Constatou-se efeito da idade na detecção das infecções quiescentes em frutos tratados com Paraquat; à exceção das áreas 1, 9 e 10, em que a incidência da doença em frutos colhidos de todas as idades, não diferiu da incidência da doença nos frutos no ponto

de colheita (método padrão). Nas áreas 2, 5 e 8, a incidência da doença em frutos da idade 3 não diferiu da estimada pelo método padrão. Nas áreas 3 e 6, frutos nas idades 3, 4 e 5 apresentaram mesma incidência da doença que a verificada no tratamento padrão (Tabela 6). Pelo método do Ethrel, constataram-se efeitos das idades, em todas as áreas. A incidência da doença em frutos colhidos nas idades 4 e 5, na área 1, não diferiu da incidência da doença nos frutos no ponto de colheita. Nas áreas 2, 7, 8 e 10, a incidência da doença em frutos da idade 3 não diferiu da estimada pelo método padrão. Na área 4, frutos nas idades 3, 4 e 6 apresentaram mesma incidência da doença que a verificada no tratamento padrão. Na área 6, frutos na idade 3 e 4, apresentaram mesma incidência da doença que a verificada no tratamento padrão. Na área 9, frutos nas idades 3, 4 e 5 apresentaram mesma incidência da doença que a verificada no tratamento padrão (Tabela 6).

Em 8 áreas, não foi constatada a antracnose, portanto, não se determinou a melhor idade para detecção das infecções quiescentes dessa doença. Para a detecção pelo método Paraquat, constataram-se efeitos das idades apenas na área 2 ( $P < 0,0001$ ). Nas áreas 1 e 2, a incidência média da antracnose foi 4,69% e 17,18%, respectivamente. A incidência da antracnose em frutos da idade 4 na área 1 não diferiu da incidência da doença nos frutos submetidos ao método padrão (ponto de colheita). Pelo método Ethrel, constataram-se efeitos das idades apenas na área 2 ( $P < 0,0001$ ). A incidência da antracnose em 9 áreas foi zero e na área 2, a incidência foi 15,62%. A incidência da doença em frutos de todas as idades, colhidos na área 2, diferiu da incidência da doença nos frutos submetidos ao método padrão (ponto de colheita).

Para a podridão peduncular, a incidência da doença em frutos de todas as idades foi similar à estimada nos frutos no ponto de colheita. Houve efeito de idade na incidência da podridão peduncular apenas na área 5 ( $P = 0,0004$ ), quando a doença foi detectada pelo método Paraquat. A incidência da podridão peduncular em frutos de todas as idades, colhidos em todas as áreas, não diferiu da estimada no método padrão (Tabela 6). Pelo método Ethrel, constataram-se efeitos das idades apenas nas áreas 2 ( $P < 0,0001$ ), 4 ( $P = 0,0034$ ) e 6 ( $P = 0,0167$ ). A incidência da doença em frutos de todas as idades colhidos nas áreas 1, 3, 7, 8, 9 e 10 não diferiu da estimada nos frutos submetidos ao método padrão. Nas áreas 4, 5 e 6, frutos nas idades 3, 4 e 5 apresentaram mesma incidência da doença que a verificada no tratamento padrão. Na área 2, a incidência da doença em frutos das idades 3 e 4 não diferiu da estimada pelo método padrão (Tabela 6).

### 3.3- Influência da temperatura na detecção de infecções quiescentes

Para a mancha chocolate, houve interação significativa entre temperatura e método de detecção, em todas as áreas. Em frutos oriundos das áreas 1, 4 e 5, o método do Ethrel foi mais eficiente em detectar as infecções quiescentes do que os frutos sem tratamento. Nos frutos colhidos das áreas 2 e 3, não se detectaram infecções com Ethrel. A temperatura influenciou o método Ethrel nas áreas 1, 3, 4 e 5. Em frutos provenientes da área 2, não houve efeito da temperatura sobre o método, mas a incidência da doença em frutos no ponto de colheita variou com a temperatura. Nas áreas 1 e 5, observou-se que a 31 °C as estimativas de incidência pelo método do Ethrel foram similares às obtidas com frutos no ponto de colheita (Figura 4). Em 3 das 5 áreas, os métodos Ethrel e os frutos sem tratamento, subestimaram a probabilidade de detectar a doença ( $RR < 1$ ), quando comparados com ao método padrão. Entretanto, o Ethrel nas áreas 1 e 5, apresentou risco relativo  $RR = 1$ , quando os frutos foram mantidos a 31 e 34°C (Figura 5).

Para a antracnose, houve interação entre temperatura e método de detecção, nas áreas 1 ( $P = 0,0139$ ), 3 ( $P = 0,0013$ ), 4 ( $P = 0,0092$ ) e 5 ( $P = 0,0191$ ). Nessas áreas, o método do Ethrel foi mais eficiente em detectar as infecções quiescentes do que os frutos sem tratamento. Não houve detecção da antracnose quando os frutos oriundos da área 2 foram tratados com Ethrel. Novamente, à exceção da área 2, a temperatura influenciou a detecção da doença pelo método Ethrel em frutos obtidos das áreas 1, 3, 4 e 5. A incidência da doença em frutos no ponto de colheita foi influenciada pela temperatura de incubação, nas áreas 1, 2 e 5 (Figura 4). Na área 1, observou-se que a 28 e 31°C, o método do Ethrel se igualou aos frutos no ponto de colheita. Na maioria das áreas, os métodos Ethrel e Sem tratamento, em todas as temperaturas, subestimaram a probabilidade de detectar a doença ( $R < 1$ ), quando comparados ao método padrão. Entretanto, frutos das áreas 1 e 5, tratados com Ethrel apresentaram risco relativo  $R=1$ , a 28 e 31°C (Figura 5).

Para a podridão peduncular, houve interação significativa entre temperatura\*método de detecção, em todas as áreas. Nas áreas 2, 3, 4 e 5, o método do Ethrel foi mais eficiente em detectar as infecções quiescentes do que os frutos sem tratamento (Figura 4). Na área 1, o método do Ethrel permitiu detectar incidência similar à estimada em frutos sem tratamento. A temperatura influenciou o método Ethrel nas áreas 1, 2, 4 e 5. Os frutos no ponto de colheita foram influenciados pela temperatura, nas áreas 1, 2 e 5. Na área 1, os métodos superestimaram a doença, e a 31 °C a incidência em frutos no ponto de colheita foi similar à registrada pelos outros métodos (Figura 4). Em todas as áreas, o método Ethrel, em todas as

temperaturas, superestimou ( $RR > 1$ ) ou apresentou risco igual ( $RR=1$ ) para a probabilidade de detectar a doença quando comparados ao método padrão. O método Sem tratamento subestimou a doença ( $RR < 1$ ), na maioria das áreas (Figura 5).

#### **4. Discussão**

Este foi um estudo pioneiro, conduzido com o objetivo de avaliar a eficiência de diferentes métodos (Hipoclorito, Etanol, Paraquat e Ethrel), e idades (3, 4, 5 e 6 semanas antes da colheita) e de temperaturas (22, 25, 28, 31 e 34 °C) para detectar as infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão. Os métodos Paraquat e Ethrel foram considerados os mais adequados, pois para todas as doenças, as probabilidades de detectar as infecções quiescentes foram iguais ao método padrão. Para a detecção da antracnose, resultados mais satisfatórios foram obtidos com a utilização do Ethrel. A tendência de os dois métodos correlacionarem ou superestimarem as doenças, quando comparados aos frutos no ponto de colheita foi constatado em outros estudos (Barmore & Brown, 1985; Sinclair, 1991; Biggs, 1995; Adaskaveg et al., 2000). Uma possível explicação é que o Ethrel intensifica os processos envolvidos na maturação dos frutos, como aumento na produção de açúcares, da respiração e produção de etileno, redução de compostos pré-formados e ácidos orgânicos favorecendo a expressão das infecções quiescentes nestes frutos (Pessarakli, 2001).

Os métodos de detecção considerados mais adequados neste estudo foram utilizados em vários patossistemas, principalmente em infecções quiescentes em frutos temperados, como maçã e cereja (Biggs, 1995; Valdebenito-Sanhueza et al., 2005; Adaskaveg et al., 2000), mas até o presente estudo não haviam sido avaliados em frutos tropicais. Além desses métodos, existem outros mais sensíveis como o PCR (Parikka & Lemmetty, 2004). Apesar desta vantagem, o PCR ainda não é amplamente acessível, principalmente se os produtores, mesmo aqueles que empregam mais tecnologias, quiserem implementá-lo. Dada a simplicidade e baixo custo quando comparados aos métodos baseados em PCR, os avaliados no presente trabalho permitirão avaliar a incidência da doença mais rapidamente. A avaliação da eficiência de determinada prática de controle ou a previsão de problemas futuros quanto à qualidade fitossanitária em pós-colheita poderão se beneficiar da eficácia dos métodos de detecção baseados no Ethrel e Paraquat. Adicionalmente, destaca-se que mesmo trabalhando com patossistema distinto daqueles em que haviam sido testados, os métodos foram capazes

de detectar as infecções quiescentes, o que demonstra certa versatilidade de uso. É possível que os métodos possam, inclusive, serem utilizados para outras doenças do mamão, como o complexo de podridões pedunculares.

A idade dos frutos influenciou a detecção das infecções causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão. Para a mancha chocolate, observou-se que em ambos os métodos, houve correlação entre a incidência da doença em frutos imaturos, colhidos 3 semanas antes do ponto ideal de maturação, e a incidência em frutos no ponto de colheita. É sabido que, no processo de desenvolvimento e maturação dos frutos ocorrem várias mudanças fisiológicas e bioquímicas (Pessarakli, 2001). Concomitantemente, ocorre a expressão da infecção, para suplantar a fase de quiescência (Verhoeff, 1974; Prusky, 1996). A três semanas antes da colheita, os frutos podem apresentar condições fisiológicas mais próximas às dos frutos no ponto de colheita do que as apresentadas pelos frutos nas idades 4, 5, e 6 (Prusky, 1996; Pessarakli, 2001), o que pode ter favorecido a detecção das infecções quiescentes pelos métodos Paraquat e Ethrel. Como a incidência da antracnose, na maioria das áreas foi zero, não se pode determinar qual a melhor idade para detecção das infecções. Para a podridão peduncular, independentemente da idade, o método foi eficiente em detectar as infecções quiescentes.

Estes resultados têm implicações práticas, pois a maioria dos pequenos produtores de mamão do Estado da Paraíba repassa sua produção para grandes empresas. Estas empresas prezam pela qualidade dos produtos que comercializam logo a utilização de métodos que detectem precocemente as infecções quiescentes são importantes por permitirem avaliar a condição sanitária dos frutos e subsidiarem a tomada de decisão quanto à implementação ou não de medidas de controle. A utilização de métodos que superestimem as infecções, em frutos com 3 semanas antes da colheita, proporcionam segurança adicional para que tratamentos na pós-colheita sejam realizados de forma mais racional.

Na maioria das áreas, a incidência da podridão peduncular foi maior que a das outras doenças, similar ao constatado em outros estudos no mesmo patossistema (Dickman & Alvarez, 1983; Suzuki et al., 2007). As diferenças, com relação à incidência das doenças, podem estar relacionadas à estratégia de infecção, fisiologia do hospedeiro, manejo empregado na cultura, bem como a condições ambientais (Dickman & Alvarez, 1983; Luo & Michailides, 2001; Pessarakli, 2001).

A mancha chocolate ocorreu em maior frequência que a antracnose. Sob condições ainda não bem estabelecidas, o hospedeiro em resposta à infecção por *Colletotrichum* spp. produz substâncias, como a calose. Portanto, a infecção fica restrita às regiões mais

superficiais, resultando em sintomas típicos da mancha chocolate (Ventura et al., 2003). O fato de terem sido colhidos frutos imaturos (3 semanas antes do ponto de colheita) pode ter levado o desenvolvimento de infecções mais superficiais, o que favorecia o desenvolvimento da mancha chocolate. Contudo não se pode descartar o envolvimento de algum mecanismo de defesa do hospedeiro, que impediu as infecções do patógeno (Dickman & Alvarez, 1983; Tatagiba et al, 2002). Ainda existe a influência do manejo e do nível tecnológico das áreas de mamão. Por exemplo, nas pequenas áreas de cultivo, algumas práticas básicas de manejo como a remoção de plantas e folhas contaminadas são negligenciadas. Em contraste, nas grandes empresas estas práticas são adotadas e, além disso, tratamentos pós-colheita em *packing-houses* são procedimentos rotineiros. Estas diferenças entre as áreas de cultivo podem ter colaborado para que a incidência das doenças fosse distinta.

Neste estudo, a eficiência do método do Ethrel foi temperatura-dependente. Houve maior eficiência quando os frutos foram mantidos de 25 a 31 °C. Sob temperaturas extremas, observou-se baixa eficiência do método. Esta faixa de maior eficiência coincide tanto com a temperatura ideal para a ação do etileno (Lapeyre de Bellaire et al., 2000), bem como para o desenvolvimento de *Colletotrichum* spp. em frutos (Pandey et al, 1997). Além disso, com Ethrel detectou-se a doença de forma efetiva, pois a incidência da doença em frutos sem tratamento, submetidos às mesmas condições de incubação, foi menor. Entretanto, dependendo da doença, o Ethrel pode subestimar ou superestimar a probabilidade de detecção. Para a mancha chocolate e a antracnose, na maioria das áreas, este método subestimou a detecção da doença. Porém, para a podridão peduncular a tendência foi diferente, o Ethrel superestimou a doença. É sabido que o Ethrel e Paraquat podem superestimar doenças (Barmore & Brown, 1985; Sinclair, 1991; Biggs, 1995; Adaskaveg et al., 2000). No caso da podridão peduncular, uma das possíveis explicações pode estar relacionada aos processos que ocorrem durante a colheita dos frutos. Geralmente ao destacar o fruto da planta, o mesmo pode ou não conter restos de pecíolo. Algumas vezes, no campo, estes restos são destacados dos frutos com facas, o que causa ferimentos na região do pedúnculo. A ação conjunta desses ferimentos com o Ethrel pode explicar por que o método superestimou a doença, quando se comparou com os frutos no ponto de colheita.

Um método de detecção de infecções deve ser eficiente, de fácil execução e, preferencialmente, correlacionar a um método padrão (Biggs, 1995; Lapeyre de Bellaire et al., 2000). Entretanto, o método pode ser afetado pela época de coleta dos frutos, nível de inoculo do patógeno na área, manejo e nível tecnológico, bem como a variedade de mamão plantada. Considerando todas essas possíveis influências, concluiu-se que, o método Ethrel

atendeu-se consistentemente a todas essas características. Com relação à fase de maturação, é possível amostrar frutos imaturos (3 semanas antes da colheita) e detectar as infecções, pois nesta idade, o patógeno encontra-se estabelecendo as relações parasitárias, e práticas de manejo ainda podem ser adotadas. Entretanto, dependendo da temperatura, a eficiência do Ethrel pode ser comprometida. Portanto, recomenda-se sua utilização, em conjunto com o posterior armazenamento dos frutos de 25 a 31 °C, para que a eficiência do produto seja obtida.

## 5. Referências bibliográficas

Adaskaveg, J.E.; Forster, H.; Thompson, D.F. Identification and etiology of visible quiescent infections of *Monilinia fructicola* and *Botrytis cinerea* in sweet cherry fruit. *Plant Disease* 84: 328-333, 2000.

Agresti, A. Describing two-way contingency tables. In: Agresti, A. *Categorical data analysis*. New York: John Willey & Sons, p. 36-68, 2002.

Alvarez, A.M. & Nishijima, W.T. Postharvest diseases of papaya. *Plant Disease* 71: 681-686, 1987.

Bailey, J.A. & Jeger M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England. 388p.,1992.

Barmore, C.R.; Brown, G.E. Influence of ethylene on increased susceptibility of oranges to *Diplodia natalensis*. *Plant Disease* 69: 228-230, 1985.

Biggs, A.R. Detection of latent infections in apple fruit with paraquat. *Plant Disease* 79: 1062-1067, 1995.

Chew, V. Comparisons among treatment means in an analysis of variance. *Agricultural Research Service*, 64p. 1977.

Della Lúcia, S.M.; Minim, V.P.R.; Silva, C.H.O.; Minim, L.A. Nova alternativa para análise de dados na avaliação da influência da marca na aceitabilidade de alimentos: um estudo com cervejas. *Anais do XVI Encontro Nacional e II Congresso Latino-Americano de Analistas de Alimentos*, 2009.

Dickman, M.B. & Alvarez, A.M. Latent infections of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 67: 748-750, 1983.

Dodd, J.C.; Estrada, A.B.; Matcham, J.; Jeffries, P. & Jeger, M.J. The effect of climatic factors on *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of mango anthracnose, in the Philippines. *Plant Pathology* 40: 568-575, 1991.

Estrada, A.B.; Dodd, J.C.; Jeffries, P. Effect of humidity and temperature on conidial germination and appressorium development of two Philippine isolates of the mango anthracnose pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Pathology* 49: 608-618, 2000.

Ishikawa, S. Method to diagnose latent infection by *Glomerella cingulata* in strawberry plants using ethanol. *Journal of General Plant Pathology* 69: 372-377, 2003.

Ishikawa, S. Simple diagnosis using ethanol immersion of strawberry plants with latent infection by *Colletotrichum acutatum*, *Dendrophoma obscurans*, and *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*. *Journal of General Plant Pathology* 70: 249-255, 2004a.

Ishikawa, S. Correlation between field disease and latent infection by *Glomerella cingulata* of strawberry plants as revealed by a simple diagnostic method using ethanol immersion. *Journal of General Plant Pathology* 70: 333-335, 2004b.

Jarvis, W.R. Latent infections in the pre- and postharvest environment. *Hortscience* 29: 749-751, 1994.

Kleinbaum, D.G.; Kupper, L.L.; Morgenstern, H. *Epidemiologic research: principles and quantitative methods*. New York: Van Nostrand Reinhold, 560p., 1982.

Lapeyre de Bellaire, L.; Chillet, M.; Mourichon, X. Elaboration of an early quantification method of quiescent infections of *Colletotrichum musae* on bananas. *Plant Disease* 84: 128-133, 2000.

Luo, Y. & Michailides, T.J. Factors affecting latent infection of prune fruit by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology* 91: 864-872, 2001a.

Luo, Y. & Michailides, T.J. Risk analysis for latent infection of prune by *Monilinia fructicola* in California. *Phytopathology* 91: 1197-1208, 2001b.

Menezes, M. & Hanlin, R.T. Appressoria of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. causal agent of anthracnose diseases. *Revista de Microbiologia* 27: 247-251, 1996.

Ntahimpera, N.; Driever, G.F.; Felts, D.; Morgan, D.P.; Michailides, T.J. Dynamics and pattern of latent infection caused by *Botryosphaeria dothidea* on pistachio buds. *Plant Disease* 86: 282-287, 2002.

Pandey, R.R.; Arora, D.K.; Dubey, R.C. Effect of environmental conditions and inoculum density on infection of guava fruits by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Mycopathologia* 137: 165-172, 1997.

Parikka, P. & Lemmetty, A. Tracing latent infection of *Colletotrichum acutatum* on strawberry by PCR. *European Journal of Plant Pathology* 110: 393-398, 2004.

Persley, D.M. & Ploetz, R.C. Diseases of papaya. In: Ploetz, R.C. Diseases of tropical fruit crops. CAB International: Wallingford, England. p. 373-412, 2003.

Pessarakli, M. Handbook of plant and crop physiology. New York: Marcel Dekker, 997p., 2001.

Prusky, D.; Fuchs, Y.; Zauberman, G. A method for pre-harvest assessment of latent infections in fruits. *Annals Applied of Biology* 98: 79-85, 1981.

Prusky, D. & Plumbley, R.A. Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: Bailey, J.A. & Jeger M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England. 289-307p., 1992.

Prusky, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Annual Review of Phytopathology* 34: 413-434, 1996.

Sinclair, J.B. Latent infection of soybean plants and seeds by fungi. *Plant Disease* 75: 220-224, 1991.

Suzuki, M.S.; Zambolim, L.; Liberato, J.R. Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. *Summa Phytopathologica* 33: 167-177, 2007.

Swinburne, T.R. Quiescent infections in post-harvest diseases. In: Dennis, C. *Postharvest Pathology of Fruits and Vegetables*. Academic Press: London, New York e Paris. 1-21p., 1983.

Tatagiba, J.S.; Liberato, J.R.; Zambolim, L.; Ventura, J.A.; Costa, H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 27: 186-192, 2002.

Valdebenito-Sanhueza, R.M.; Duarte, V.; Amorim, L.; Porto, M.D.M. Detecção e epidemiologia da podridão branca da maçã. *Fitopatologia Brasileira* 30: 217-223, 2005.

Ventura, J.A.; Costa, H. & Tatagiba, J.S. Manejo das doenças do mamoeiro. In: Martins, D.S.; Costa, A.F.S. (eds.) *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*. Vitória, ES: Incaper, p.229-308, 2003.

Verhoeff, K. Latent infections by fungi. *Annual Review of Phytopathology* 12: 99-110, 1974.

Zhang, J.M.B. & Yu, K.F. What's the relative risk? A method of correcting the Odds ratio in cohort studies of common outcomes. *Jama* 280: 1690-1691, 1998.

Wharton, P.S. & Diéguez-Uribeondo, J. The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61: 3-22, 2004.

**Tabela 1-** Características das áreas de cultivo de mamão no Estado da Paraíba e Pernambuco de onde foram obtidos os frutos utilizados nos experimentos.

Áreas	Fazenda	Município	Variedade	Localização geográfica	Características da área	Mês/Ano
1	Santa Terezinha (Fazenda 4)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 46'27,4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Coleta de frutos e folhas contaminadas Incidência de vírus	Abril/2008
2	Santa Cruz	Mamanguape (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 06°46'43,3" W 035°09'51,7"	Propriedade de pequeno produtor Nenhuma prática de manejo, só pulverização	Maio/2008
3	Santa Terezinha (Fazenda 4)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 46'27,4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Presença de alguns frutos e folhas contaminadas	Maio/2008
4	Santa Terezinha (Fazenda 5)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 27'4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Adubação a cada 3 meses	Junho/2008
5	São José	Alhandra (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07 22'04.6" W 034 55'01.6"	Irrigação por microaspersão Área com incidência de podridão de Phytophthora, varíola e antracnose; Área sem nenhuma capina	Setembro/2008
6	Assentamento Umbu	Itapissuma (PE)	Baixinho de Santa Amália	S 07° 42'32,6" W 034° 56'16,5"	Propriedade de assentamento Nenhuma prática de manejo, só pulverização	Setembro/2008
7	Santa Terezinha (Fazenda 4)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 46'27,4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão	Outubro/2008
8	Santa Terezinha (Fazenda 5)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 27'4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Adubação a cada 3 meses	Outubro/2008'

**Tabela 1- Continuação**

9	Aquarius	Caaporã (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07° 30'18,0" W 034° 56'11,6"	Irrigação por microaspersão Coleta de frutos e folhas contaminadas	Outubro/2008
10	Santa Terezinha (Fazenda 4)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 46'27,4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Coleta de frutos e folhas contaminadas	Outubro/2008
11	Santa Terezinha (Fazenda 5)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 27'4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Adubação a cada 3 meses	Outubro/2008
12	Aquarius	Caaporã (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07° 30'18,0" W 034° 56'11,6"	Irrigação por microaspersão Coleta de frutos e folhas contaminadas	Outubro/2008
13	São José	Alhandra (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07 22'04.6" W 034 55'01.6"	Irrigação por microaspersão Área sem nenhuma capina	Novembro/2008
14	Acaú	Alhandra (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07 24' 19.9" W 034 54' 30.3"	Irrigação por microaspersão Presença de alguns frutos e folhas contaminadas	Novembro/2008
15	Andreza	Pitimbu (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07 21' 25.8" W 034 49'11,3"	Irrigação por microaspersão Área sem nenhuma capina	Novembro/2008
16	São José	Alhandra (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07 22'04.6" W 034 55'01.6"	Irrigação por microaspersão Área sem nenhuma capina	Novembro/2008
17	Acaú	Alhandra (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07 24' 19.9" W 034 54' 30.3"	Irrigação por microaspersão Presença frutos e folhas contaminadas	Novembro/2008
18	Jacaraúna	Santa Rita (PB)	Golden	S 07 00' 26.0" W 034 59'16,8"	Irrigação por microaspersão Presença frutos e folhas contaminadas Área sem capina	Dezembro/2008

**Tabela 1- Continuação**

19	Santa Terezinha (Fazenda 4)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 46'27,4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Coleta de frutos e folhas contaminadas	Dezembro/2008
20	Santa Terezinha (Fazenda 4)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 46'27,4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Coleta de frutos e folhas contaminadas	Março/2009
21	Acaú	Alhandra (PB)	Baixinho de Santa Amália	S 07 24' 19.9" W 034 54' 30.3"	Irrigação por microaspersão Presença de vírus; Área muito adensada Presença de frutos e folhas contaminadas	Março/2009
22	Santa Terezinha (Fazenda 5)	Mamanguape (PB)	Golden	S 06° 27'4" W 035° 08'46,3"	Irrigação por microaspersão Área adubada a poucos dias Presença de frutos e folhas contaminadas	Abril/2009
23	Andreza	Pitimbu (PB)	Baixinho de Santa Amália	S07 21' 25.8" W 034 49'11,3"	Irrigação por microaspersão Presença de frutos e folhas contaminadas	Abril/2009
24	Jacaraúna	Santa Rita (PB)	Golden	S07 00' 26.0" W 034 59'16,8"	Irrigação por microaspersão Presença de frutos e folhas contaminadas	Maió/2009

**Tabela 2-** Tratamentos utilizados para detecção de infecções quiescentes em frutos de mamão. Cada tratamento foi aplicado a 8 frutos imaturos (exceto ao tratamento testemunha e controle).

<b>Tratamento</b>	<b>Descrição</b>
<b>1</b>	Imersão por 4 min em solução de hipoclorito de sódio (1,5% de cloro ativo) + Tween 20 a 0,05%, seguido de duas lavagens em água destilada esterilizada.
<b>2</b>	Imersão por 4 min em solução de hipoclorito de sódio (1,5% de cloro ativo), seguido da imersão por 2 min em solução de paraquat (6ml/L i.a.) + Tween 20 a 0,05%.
<b>3</b>	Imersão por 30 s em solução de etanol (70%), seguido de duas lavagens em água destilada esterilizada.
<b>4</b>	Imersão por 4 min em solução de hipoclorito de sódio (1,5% de cloro ativo), seguido da imersão por 2 min em solução de ethrel 720 (1,2ml/L i.a.) + Tween 20 a 0,05%.
<b>5</b>	Testemunha (sem nenhum procedimento de imersão e/ou lavagem)
<b>6</b>	Controle (frutos no ponto de colheita, sem nenhum procedimento de imersão e/ou lavagem)

**Tabela 3-** Tabela de frequência da incidência das doenças (mancha chocolate, antracnose e podridão peduncular) em frutos de mamão, comparando-se um método padrão (frutos no ponto de colheita) com um método alternativo (frutos imaturos submetidos a diferentes métodos de detecção).

<b>Método</b>	<b>Incidência da doença</b>		<b>Total</b>
	<b>Não</b>	<b>Sim</b>	
Padrão	$n_{11}$	$n_{12}$	24
Alternativo	$n_{21}$	$n_{22}$	24
<b>Total</b>	$n_1$	$n_2$	

**Tabela 4-** Valores de  $\chi^2$  para homogeneidade obtidos da proporção entre os métodos para cada doença e dentro de cada área. Valores entre parênteses representam o valor P.

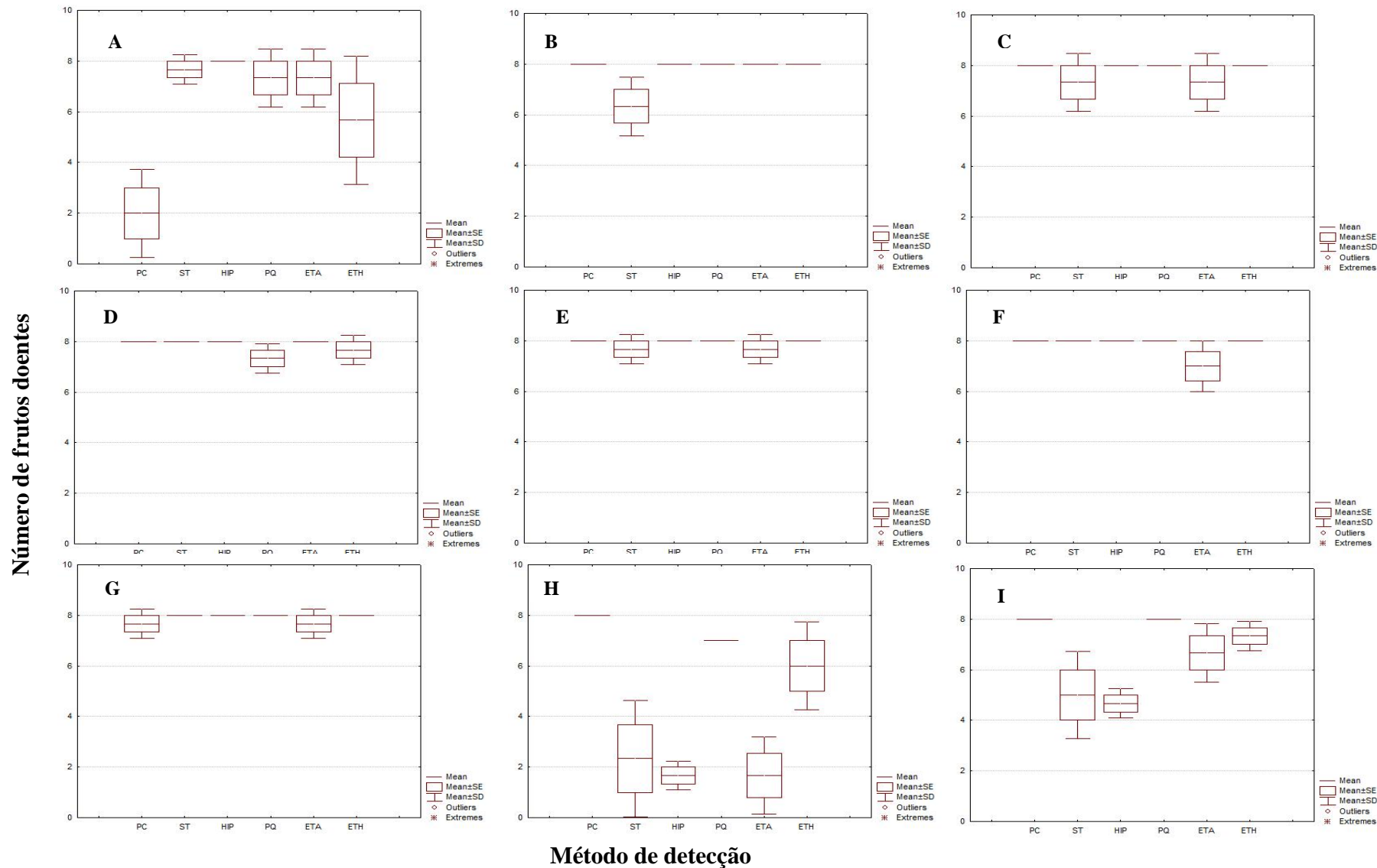
Doenças	Área								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Mancha chocolate</b>	12,56 (0,028)	0,23 (0,999)	0,90 (0,970)	0,15 (1,000)	0,06 (1,000)	0,32 (0,997)	0,06 (1,000)	28 (<0,001)	4,88 (0,430)
<b>Antracnose</b>	25,56 (<0,0001)	8,94 (0,111)	18,81 (0,002)	11,85 (0,037)	12,12 (0,033)	19,18 (0,002)	5,16 (0,397)	48 (<0,001)	50 (<0,001)
<b>Podridão peduncular</b>	0,06 (1,000)	0,06 (1,000)	0,14 (1,000)	2,48 (0,779)	0,21 (1,000)	0,17 (1,000)	0,14 (1,000)	10,88 (0,054)	0,15 (1,000)

**Tabela 5-** Resumo das análises de risco relativo (RR) para mancha chocolate (MC), antracnose (A) e podridão peduncular (PP), realizadas em 9 áreas com a comparação da probabilidade de detecção de cada método (risco) em relação ao controle.

Método	% de vezes com relação ao controle								
	RR >1 (superestimação)			RR =1			RR <1 (subestimação)		
	MC	A	PP	MC	A	PP	MC	A	PP
<b>Testemunha</b>	0	0	0	66,66	22,22	88,88	33,33	77,77	11,11
<b>Hipoclorito</b>	0	0	0	77,77	33,33	88,88	22,22	66,66	11,11
<b>Etanol</b>	0	0	0	100	55,55	100	0	44,44	0
<b>Paraquat</b>	0	0	0	88,88	77,77	100	11,11	22,22	0
<b>Ethrel</b>	0	0	0	77,77	33,33	88,88	22,22	66,66	11,11

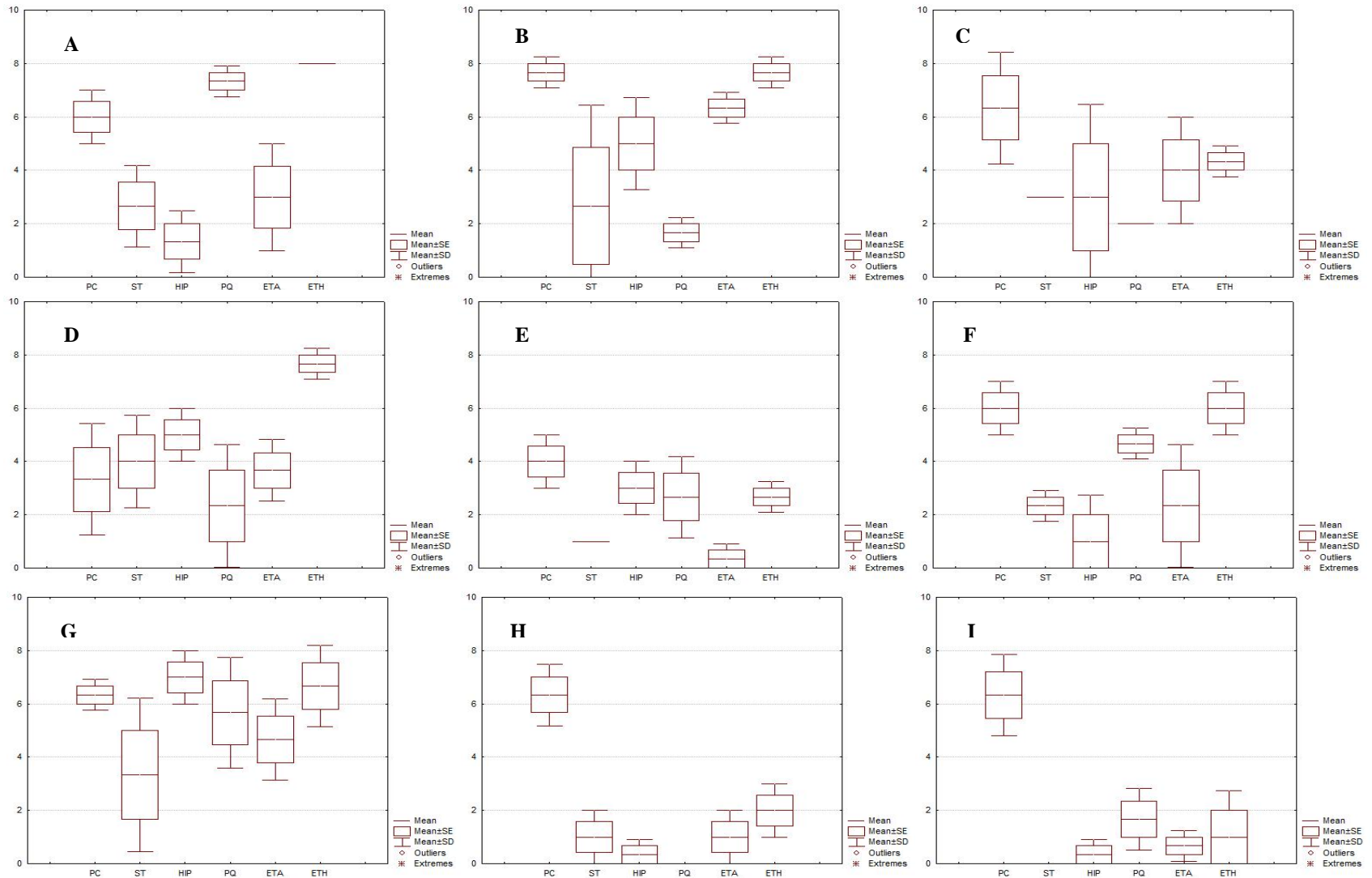
**Tabela 6-** Incidência média (%) da mancha chocolate (MC) e podridão peduncular (PP) em frutos de diferentes idades (3, 4, 5 e 6 semanas antes da colheita), submetidos aos métodos Paraquat (PQ) e Ethrel (ETH) em 10 áreas de cultivo. Valores na linha inferior representam a incidência estimada de frutos no ponto de colheita (controle). Valores em negrito indicam diferença significativa (5% de probabilidade) em relação ao controle, de acordo com o teste de Dunnet.

Áreas	Idades															
	3		4				5				6					
	MC		PP		MC		PP		MC		PP		MC		PP	
	PQ	ETH	PQ	ETH	PQ	ETH	PQ	ETH	PQ	ETH	PQ	ETH	PQ	ETH	PQ	ETH
1	93,75	<b>100</b>	100	100	93,75	31,25	100	93,75	75	56,25	100	100	62,50	6,25	87,50	93,75
	56,25	56,25	100	100	56,25	56,25	100	100	56,25	56,25	100	100	56,25	56,25	100	100
2	100	93,75	100	100	<b>43,75</b>	<b>56,25</b>	100	87,50	<b>25</b>	6,25	87,50	<b>43,75</b>	<b>31,25</b>	6,25	93,75	<b>18,75</b>
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	56,25	100	100	100	56,25	100	100
3	87,50	<b>37,50</b>	100	87,50	93,75	<b>12,50</b>	100	93,75	75	0	100	87,50	<b>18,75</b>	6,25	100	87,50
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
4	<b>93,75</b>	18,75	100	81,25	<b>81,25</b>	<b>50</b>	68,75	87,50	<b>81,25</b>	0	87,50	75	<b>56,25</b>	6,25	68,75	<b>31,25</b>
	12,50	12,50	93,75	93,75	12,50	12,50	100	93,75	12,50	12,50	100	93,75	12,50	12,50	100	93,75
5	68,75	<b>12,50</b>	93,75	50	<b>25</b>	<b>0</b>	<b>18,75</b>	68,75	<b>12,50</b>	0	75	81,25	<b>31,25</b>	6,25	68,75	<b>37,25</b>
	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75	93,75
6	93,75	100	93,75	93,75	75	68,75	100	87,50	62,50	25	93,75	93,75	<b>25</b>	0	87,50	<b>68,75</b>
	93,75	93,75	100	100	93,75	93,75	100	100	93,75	93,75	93,75	100	93,75	93,75	93,75	100
7	<b>100</b>	62,50	100	100	<b>100</b>	<b>93,75</b>	100	100	<b>100</b>	100	100	100	<b>100</b>	100	100	100
	50	50	93,75	93,75	50	50	93,75	93,75	50	50	93,75	93,75	50	50	93,75	93,75
8	68,75	37,75	93,75	81,25	<b>18,75</b>	<b>6,25</b>	68,75	87,50	<b>12,50</b>	0	68,75	75	<b>18,75</b>	0	93,75	75
	68,75	68,75	93,75	93,75	68,75	68,75	93,75	93,75	68,75	68,75	93,75	93,75	68,75	68,75	93,75	93,75
9	100	75	100	100	100	68,75	100	100	81,25	68,75	100	100	87,50	50	100	100
	87,50	87,50	100	100	87,50	87,50	100	100	87,50	87,50	100	100	87,50	87,50	100	100
10	87,50	62,50	100	100	62,50	<b>31,25</b>	100	93,75	56,25	31,25	100	93,75	75	0	100	93,75
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100



**Figura 1-** Diagramas em caixa do número de frutos com mancha chocolate, em 9 áreas de cultivo, submetidos a diferentes métodos (PC=ponto de colheita, ST=sem tratamento, HIP= hipoclorito, PQ= paraquat, ETA= etanol, ETH= ethrel). Painéis de A a I, áreas 1 a 9, respectivamente. Barras representam o desvio padrão da média.

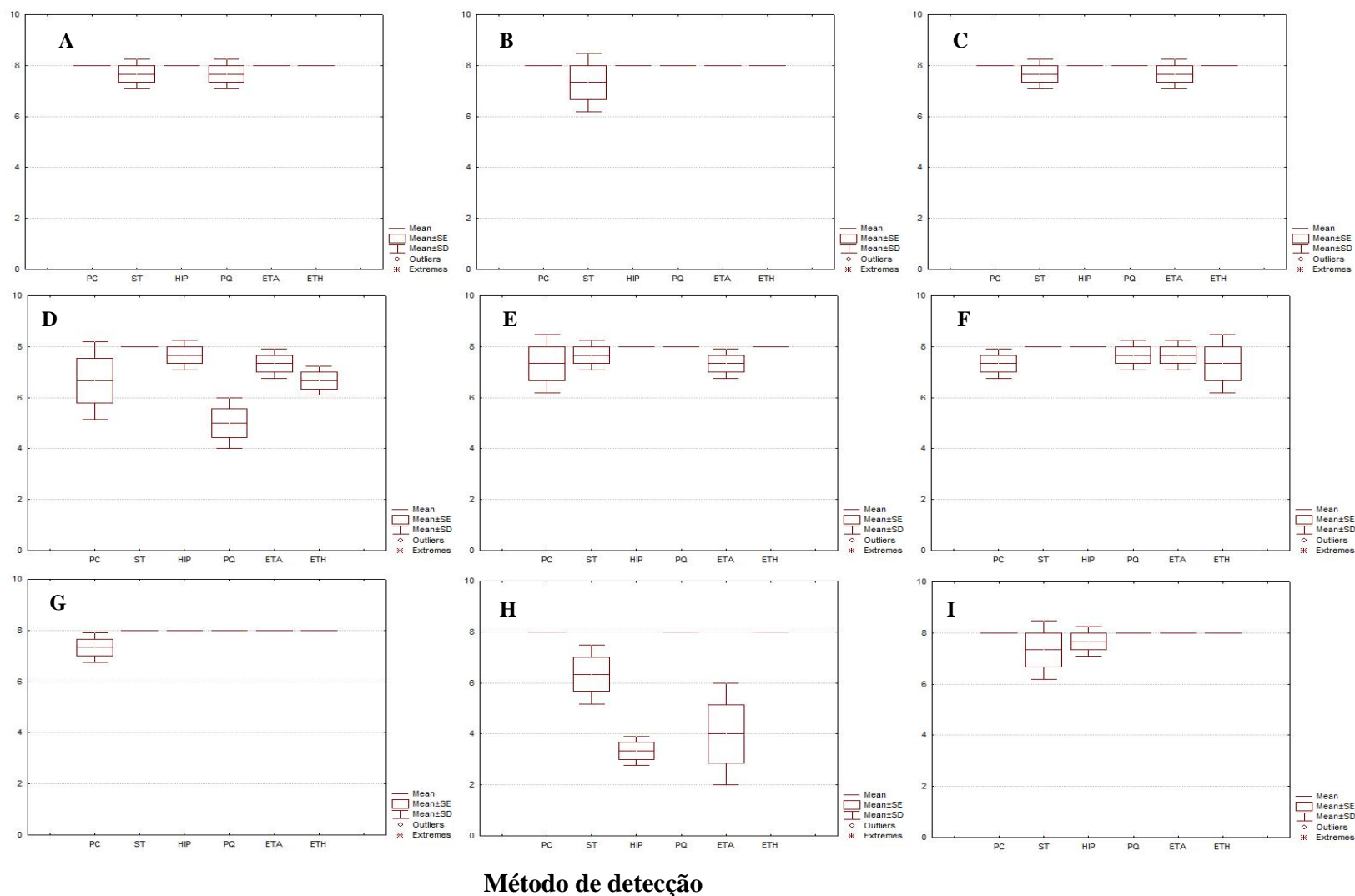
Número de frutos doentes



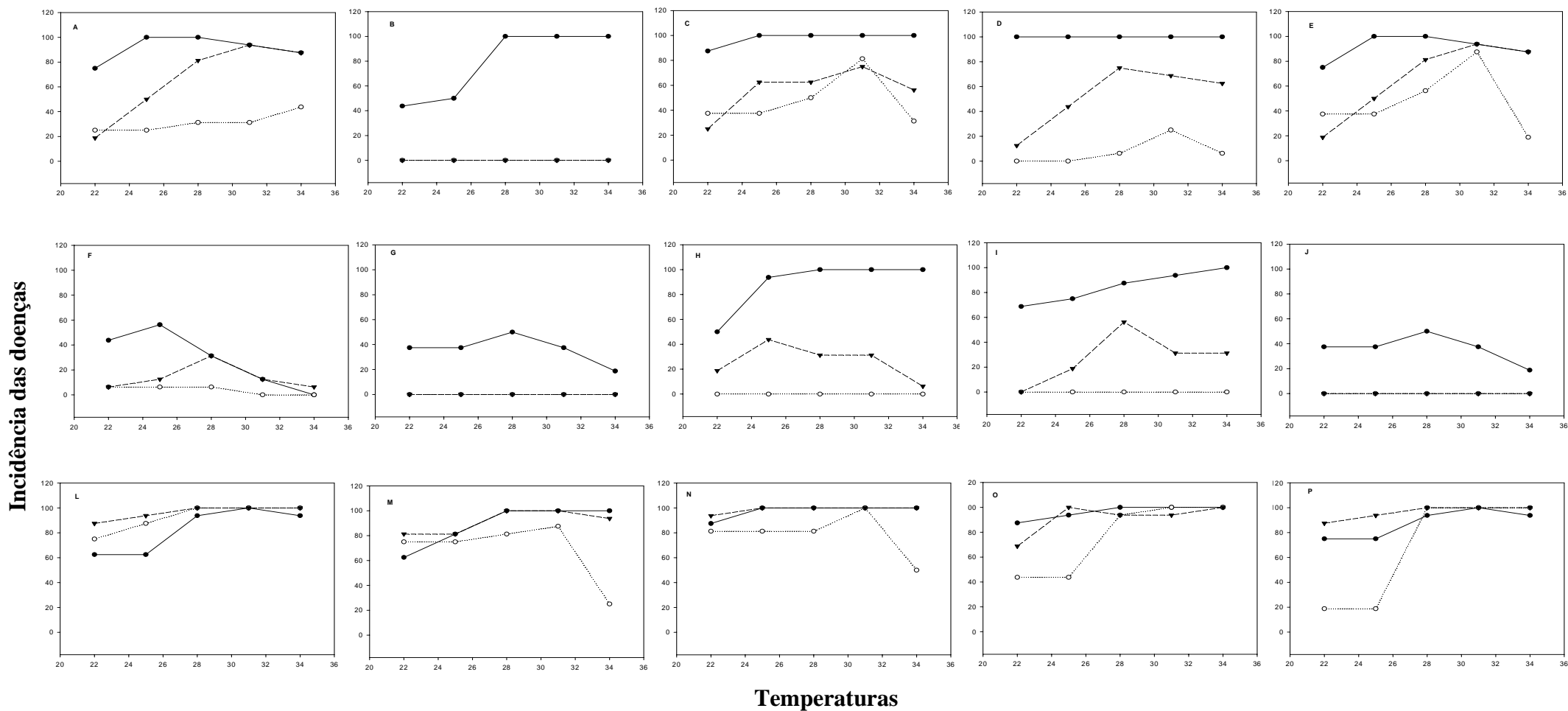
### Método de detecção

**Figura 2-** Diagramas em caixa do número de frutos com antracnose, em 9 áreas de cultivo, submetidos a diferentes métodos (PC=ponto de colheita, ST=sem tratamento, HIP= hipoclorito, PQ= paraquat, ETA= etanol, ETH= ethrel). Painéis de A a I, áreas 1 a 9, respectivamente. Barras representam o desvio padrão da média.

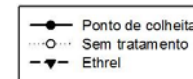
Número de frutos doentes

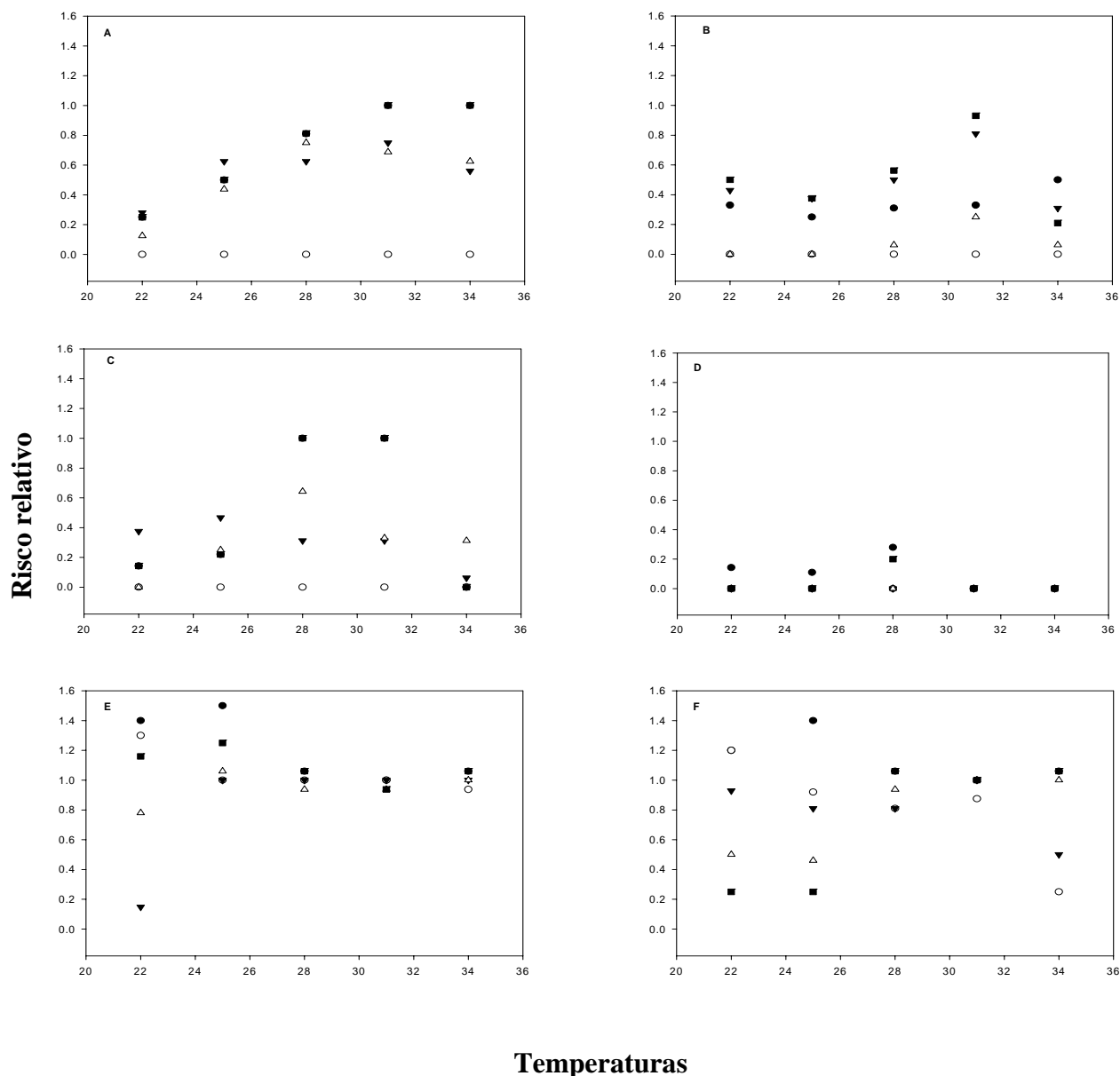


**Figura 3-** Diagramas em caixa do número de frutos com podridão peduncular, em 9 áreas de cultivo, submetidos a diferentes métodos (PC=ponto de colheita, ST=sem tratamento, HIP= hipoclorito, PQ= paraquat, ETA= etanol, ETH= ethrel). Painéis de A a I, áreas 1 a 9, respectivamente. Barras representam o desvio padrão da média.

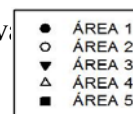


**Figura 4-** Efeito da temperatura na incidência das doenças pelo método Ethrel e “Sem tratamento”, em relação a frutos no ponto de colheita, para detecção de infecções quiescentes de *Colletotrichum* spp.. Painéis A a E: risco relativo em cada temperatura para detecção de mancha chocolate em frutos provenientes de cinco áreas de cultivo (1 a 5); F a J: antracnose; L a P: podridão peduncular.





**Figura 5-** Risco relativo das infecções quiescentes de *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão, nas cinco áreas, sob a influência de diferentes temperaturas. Se  $RR=1$ , a probabilidade de um método detectar a infecção é similar à do método padrão; se  $RR < 1$  ou  $RR > 1$ , a probabilidade de um método subestimar ou superestimar a doença, com relação ao método padrão, respectivamente. Painéis A, C e E referem-se à mancha chocolate, antracnose e podridão peduncular em frutos tratados com Ethrel, respectivamente. B, D e F: mancha chocolate, antracnose e podridão peduncular, em frutos não tratados, respectivamente;



## CAPÍTULO 2

### **Distribuição espacial e tamanho de amostras para detecção de infecções de *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão**

Christiana F.B. Silva, Sami J. Michereff, Luiz A. Maffia & Eduardo S.G. Mizubuti

#### **1- Introdução**

No mamoeiro, grandes perdas são ocasionadas pelas doenças: antracnose, mancha chocolate e podridão peduncular, causadas por *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. & Von Schrenk [anamorfo: *Colletotrichum* spp. (Penz) Penz & Sacc] (Bailey & Jeger, 1992; Alvarez & Nishijima, 1987). *Colletotrichum* spp. pode permanecer em estado de quiescência no fruto imaturo, até que as condições sejam favoráveis ao desenvolvimento dos sintomas (Sommer, 1982; Prusky, 1996). A ocorrência de infecção quiescente dificulta a realização de estudos epidemiológicos como os voltados para estabelecimento de relação densidade de inóculo – intensidade de doença; determinação do período latente; e principalmente trabalhos de amostragem, para o estabelecimento de métodos e tamanho de amostras.

A amostragem, no contexto do estudo de epidemias de doenças de plantas, é uma das atividades mais importantes (Campbell & Madden, 1990; Campbell & Neher, 1994; Neher & Campbell, 1997). Com um tamanho de amostras adequado, estimativas representativas das características de uma doença numa população de plantas podem ser obtidas (Campbell & Madden, 1990). Para desenvolver um plano de amostragem, é necessário conhecer o patossistema a ser amostrado, definir que dados serão obtidos, o grau de precisão desejado e utilizar racionalmente o tempo e/ou os recursos financeiros disponíveis (Cochran, 1963; Campbell & Duthie, 1989; Campbell & Neher, 1994). Além disso, é necessário adequar requerimentos biológicos e estatísticos (Campbell & Duthie, 1989; Campbell & Neher, 1994). Com relação a metodologias para o estabelecimento de tamanho das amostras, primeiramente deve-se ajustar uma distribuição estatística aos dados obtidos. Posteriormente, com os índices de dispersão calculados e distribuição ajustada, o tamanho das amostras pode ser obtido coerentemente por meio de equações utilizando o coeficiente de variação ou distribuições de probabilidade (Campbell & Madden, 1990; Madden et al., 2007).

Poucos são os estudos em Fitopatologia que contemplam uma metodologia coerente para determinação do tamanho das amostras para doenças (Madden & Hugges, 1999). Há estudos em que se determinaram tamanhos das amostras para detecção de doenças utilizando as distribuições de probabilidade (Turechek & Madden, 1999; Wheeler et al., 2000). Em outros casos, o tamanho de amostras foi determinado especificando a confiabilidade (Czermainski & Valdebenito-Sanhueza, 2001). Além da obtenção do tamanho das amostras em um determinado momento, o estudo da dinâmica das doenças em épocas diferentes pode contribuir para melhor entendimento de epidemias (Wu et al., 2001; Wheeler et al., 2000). Porém, na pós-colheita, trabalhos para determinação do tamanho de amostras ainda são escassos, principalmente quando infecções quiescentes ocorrem. Os objetivos desse estudo foram identificar o padrão de distribuição espacial das doenças causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão, nas épocas chuvosa e seca e propor o tamanho da amostra ideal para viabilizar a utilização do método de detecção de infecções quiescentes.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1- Áreas e esquema de amostragem**

De julho a dezembro de 2009, foram realizadas amostragens de frutos em cinco áreas de cultivo em três microrregiões do Estado da Paraíba (Figura 1), nas épocas: chuvosa (julho a setembro) e seca (outubro a dezembro).

Em cada área, foi delimitada uma subárea de aproximadamente 2 ha (100 x 200m), localizada no centro do talhão. Em cada subárea, amostrou-se uma linha de plantio, saltaram-se três e assim sucessivamente, até que seis linhas fossem amostradas, por subárea. Em cada linha amostraram-se cinco plantas contíguas (unidade amostral que constituía um *quadrat*), saltaram-se 10 plantas e assim sucessivamente até amostrarem-se cinco *quadrats* por linha. Em cada subárea, amostraram-se 30 *quadrats*. Em cada planta, coletaram-se dois frutos imaturos a 3 semanas antes da colheita, totalizando 10 frutos por *quadrat* (Figura 2). Os frutos de cada planta foram acondicionados em sacos plásticos e levados ao laboratório.

## **2.2- Tratamento dos frutos e avaliação das doenças**

Em condições de laboratório, os 10 frutos imaturos de cada quadrat, foram submetidos ao método de detecção do Ethrel. O tratamento consistiu em imersão dos frutos por 4 min em solução de hipoclorito de sódio (1,5% de cloro ativo), seguido da imersão por 2 min em solução de Ethrel 720 (1,2 ml/L i.a.) + Tween 20 a 0,05%. O tratamento foi aplicado 24 h após a colheita.

Após o tratamento, os frutos foram secos em condições assépticas e depositados em bandejas plásticas (28 cm x 19 cm x 11 cm) forradas com quatro camadas de papel toalha e embebidas com 100 mL de água destilada. Cada fruto foi colocado sobre uma tampa de placa de Petri esterilizada, para evitar contato direto com a água.

As bandejas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas sob luz fluorescente (200 lux) a  $25 \pm 2$  °C. Após oito dias, os frutos foram inspecionados e as doenças identificadas pelo exame ao microscópio de luz, de lâminas contendo os conídios e/ou pela realização de isolamentos dos patógenos. A incidência das doenças foi determinada pelo número de frutos doentes, em relação ao total de frutos amostrados por quadrat.

## **2.3. - Incidência da mancha chocolate e antracnose**

Para cada doença, plotaram-se histogramas da frequência de número de frutos doentes em cada classe de incidência. Para a mancha chocolate as classes foram: 0, 10-20, 21-40, 41-60, 61-80 e > 81%. Para a antracnose as classes foram: 0, 10-20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60 e > 61%.

Para a incidência das duas doenças, compararam-se os efeitos das áreas, nas épocas chuvosa e seca. Posteriormente, para cada área, compararam-se as duas épocas. As comparações entre áreas e épocas nos quadrats foram realizadas com o teste t-Student ( $\alpha = 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas com o Programa R (versão 2.10.1).

## 2.4- Distribuição espacial das doenças

O padrão de distribuição das doenças, aleatório ou agregado, foi inferido com base em índices de dispersão (Griffiths, 1973; Hugges & Madden, 1993; Madden & Hugges, 1995; Krebs, 1998; Copes et al., 2001), conforme descrito a seguir:

**a) Relação variância/média** se  $r > 1$ , o padrão da doença é assumido ser agregado; se  $r = 1$  o padrão é aleatório; e  $r < 1$  o padrão é regular.

**b) Índice de Lloyd (LI)** =  $\left( \frac{\bar{x}}{s^2} \right)$  e **Índice de “Patchiness” de Lloyd (LIP)** =  $\frac{LI}{\bar{x}}$ : Quando o

valor de LIP for  $> 1$ , o padrão da doença é assumido ser agregado; se  $LIP = 1$  o padrão é aleatório; e se  $LIP < 1$  o padrão é regular.

Também se ajustaram as distribuições de Poisson, Beta-binomial ou Binomial negativa aos dados pelo método da máxima verossimilhança e estimaram-se os parâmetros de cada distribuição. O ajuste das distribuições Poisson e Binomial negativa aos dados foram verificados pelo teste de qui-quadrado (Krebs, 1998). Para a Beta-binomial, utilizou-se o teste de máxima verossimilhança (Hugges & Madden, 1993). Todos os testes foram realizados a 5% de significância e as análises foram realizadas utilizando-se o Programa R (versão 2.10.1).

**c) Índice de agregação (K) para distribuição binomial negativa:** estimado pelo método da máxima verossimilhança. Quando o valor de K for  $> 1$ , o padrão da doença é agregado; se  $k = 1$  o padrão é aleatório; e se  $k < 1$  o padrão é regular.

**d) Índice de agregação para a distribuição Beta-binomial:** estimado pelo método da máxima verossimilhança. Quando o valor do índice de agregação for maior que zero, o padrão da doença é agregado; valores menores que zero indicam padrão aleatório.

A partir do ajuste da melhor distribuição, foi calculado o tamanho da amostra ideal para mancha chocolate e antracnose. O tamanho da amostra foi calculado com baseado no coeficiente de variação e na probabilidade associada a uma distribuição z.

**e) Confiabilidade definida pelo coeficiente de variação (CV)**

Definiram-se, *a priori*, dois níveis de confiança P=0,10 e P=0,20. Para a antracnose e mancha chocolate, o tamanho das amostras foi calculado da seguinte maneira (Madden et al, 2007):

$$N = \frac{\hat{k} + \bar{Y}}{\hat{Y}kCV^2} \text{ Binomial negativa}$$

$$N = \frac{[(1 - \bar{y})(deff)]}{(n\bar{y}CV^2)} \text{ Beta-binomial}$$

$$N = \frac{1}{(\bar{Y}CV^2)} \text{ Poisson}$$

Onde:

$\hat{k}$  = estimador do índice de dispersão para a distribuição binomial negativa;

$\bar{Y}$  = incidência média da doença

CV = coeficiente de variação (CV = 0,10 ou 0,20)

$\bar{y}$  = proporção da incidência média da doença

$deff = 1 + \rho(n - 1)$ ;  $\rho = \left(\frac{\theta}{\theta + 1}\right)$ ;  $\theta$  = índice de agregação para a distribuição beta-binomial

n = número de observações

**f) Confiabilidade definida por probabilidades associadas (z)**

Definiram-se, *a priori*, dois níveis de precisão P =0,80 e P =0,90, associados a uma distribuição z e, para cada distribuição, por doença, as seguintes fórmulas foram utilizadas (Madden et al, 2007):

$$N = \left( \left( \frac{1}{\bar{Y}} \right) + \left( \frac{1}{k} \right) \right) \left( \frac{z_{\alpha/2}}{H} \right)^2 \text{ Binomial negativa}$$

$$N = \left[ \frac{((1 - \bar{y})(deff))}{n\bar{y}} \right] \left( \frac{z_{\alpha/2}}{H} \right)^2 \text{ Beta-binomial}$$

$$N = \left( \frac{1}{\bar{Y}} \right) \left( \frac{z_{\alpha/2}}{H} \right)^2 \text{ Poisson}$$

Onde:

$z_{\alpha/2}$  = probabilidade bilateral (Pc = 0,80, z = 1,29; Pc = 0,90, z = 1,65)

H = proporção da média a 10 e 20%

## 2.5- Incidência da podridão peduncular

Para a incidência da podridão peduncular, foram construídos histogramas da frequência do número de frutos doentes. Para tal, delimitaram-se as seguintes classes de incidência: 0, 10-60; 61-70; 71-80; 81-90 e > 91%. Contudo, não se ajustou uma distribuição aos dados, uma vez que os valores de incidência geralmente variaram de 90 a 100% nos quadrats, em quatro das cinco áreas. Considerou-se que a distribuição uniforme foi adequada, mas os dados não foram analisados para o tamanho de amostras.

Obteve-se a incidência por quadrat, por área, e a incidência média total da área amostrada. Realizou-se a comparação entre as áreas em cada época, chuvosa e seca, e, posteriormente, a comparação foi realizada entre as épocas dentro de cada área. As comparações entre áreas e épocas nos quadrats foram realizadas com o teste t-Student ( $\alpha = 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas utilizando-se o Programa R (versão 2.10.1).

## 3. Resultados

### 3.1- Incidência, distribuição e tamanho da amostra para mancha chocolate

Nas áreas 1, 2, 4 e 5 a incidência da mancha chocolate foi significativamente maior na época chuvosa que na seca (Tabela 1, Figura 3). Na área 3, a incidência média da mancha chocolate na época chuvosa foi menor que na época seca (Tabela 1).

Considerando a relação variância/média, o padrão da doença foi agregado, na maioria das áreas. As únicas áreas onde se obteve padrão aleatório foram as áreas 2 na época chuvosa; e, 3 na época seca. O mesmo padrão foi verificado quando o índice de Lloyd foi calculado (Tabela 2).

As distribuições binomial negativa e Beta-binomial foram as que melhor se ajustaram aos dados de incidência da mancha chocolate. Na maioria das áreas, as estimativas dos parâmetros  $K$  (binomial negativa) e  $\alpha, \beta$  (Beta-binomial) foram consistentes com o padrão de distribuição agregado. Pelo índice de agregação para a distribuição binomial negativa ( $K$ ), o padrão foi agregado para a maioria das áreas, exceto para a área 2, na época seca. O índice da distribuição Beta-binomial, na maioria das áreas, foi maior que zero, indicando padrão agregado da mancha chocolate no campo. Não foi possível calcular os índices de dispersão da doença para a área 5, na época seca, pois não houve incidência da mancha chocolate (Tabela 2). Entretanto, nas áreas 1 nas duas épocas; 3, na época seca; 4 na época chuvosa e 5 na época chuvosa, a distribuição de Poisson também se ajustou aos dados.

A incidência da mancha chocolate foi maior na época chuvosa e o tamanho da amostra para esta época foi menor do que o estimado para a época seca. Na área 3, os resultados foram opostos ao observado nas demais áreas, com maior incidência da mancha chocolate na época seca. Por essa razão, maior tamanho de amostra foi necessário para a época chuvosa. Na área 5, não foi observada incidência da mancha chocolate na época seca (Figura 4). Independente do modo como foi calculado, coeficiente de variação ou por distribuições de probabilidade, quando se utilizou a confiabilidade de 20% obteve-se menores tamanho de amostras, quando comparadas com a confiabilidade de 10%. Como foi possível ajustar uma distribuição estatística aos dados, preferiu-se utilizar o tamanho de amostras calculado através de distribuições de probabilidade.

### **3.2- Incidência, distribuição e tamanho da amostra para antracnose**

A incidência da antracnose foi maior na época chuvosa, que na época seca, à exceção da área 3, em que a incidência foi maior na época seca (Tabela 1 e Figura 3). Não houve diferença entre as épocas quando se analisaram as áreas 1 e 4. Os valores de probabilidade (valor de  $P$ ) para as comparações entre as épocas chuvosa e seca, nas áreas 2 e 5 foram 0,0012 e 0,0881, respectivamente.

Para a antracnose, a relação variância/média indicou padrão agregado em todas as áreas. O mesmo padrão foi verificado, quando o índice de Lloyd foi calculado (Tabela 2).

O resultado do ajuste de distribuição e os cálculos de tamanho de amostras (Figura 5) tiveram tendências similares aos descritos para a mancha chocolate em 3.1. Entretanto, nas áreas 2, na época chuvosa e 4, na época seca, a distribuição Poisson também se ajustou aos dados.

### 3.3- Incidência da podridão peduncular

Não houve diferença na incidência da podridão peduncular nas épocas chuvosa e seca, à exceção da área 5. Quando se compararam as áreas amostradas em cada época, observou-se que na época chuvosa não houve diferenças entre as áreas. Na época seca, a incidência foi maior na área 1 do que na 4 ( $P= 0,0381$ ) e do que na 5 ( $P= 0,0013$ ), maior na 2 do que 5 ( $P= 0,0019$ ), maior na 3 do que na 5 ( $P= 0,0019$ ) e, maior na 4 do que na 5 ( $P= 0,0311$ ).

## 4. Discussão

Este foi o primeiro trabalho em que se estudou o padrão de distribuição das doenças causadas por *Colletotrichum* spp em frutos de mamão e se propôs um tamanho de amostras adequado a estudos epidemiológicos. É sabido que as infecções quiescentes são fator complicador para o manejo das doenças causadas por *Colletotrichum* spp. em mamão. Neste tipo de infecção, as avaliações do nível de inóculo e estimativas da incidência da doença normalmente ocorrem somente na fase de maturação (Williamson, 1994; Lapeyre de Bellaire & Mourichon, 1997; Ishikawa, 2004b). Entretanto, a implementação tardia destas ações pode resultar em interpretações errôneas ou atrasadas e as consequências para a tomada de decisão quanto ao controle das doenças podem ser danosas.

No presente estudo, constatou-se que a incidência das doenças variou de acordo com a área e época do ano. Vários fatores podem ter contribuído para este resultado, os mais prováveis seriam: variações no tipo de infecção, fatores de ambiente e práticas de manejo da cultura. Diferenças, com relação à incidência da mancha chocolate, antracnose e podridão peduncular nas áreas amostradas podem estar relacionadas ao tipo de infecção. Em todas as áreas, a mancha chocolate ocorreu em maior frequência que a antracnose. Sob condições ainda não bem estabelecidas, *Colletotrichum* spp. apresenta infecções mais superficiais resultando em sintomas típicos da mancha chocolate (Ventura et al., 2003). O fato de terem sido colhidos frutos imaturos (3 semanas antes do ponto de colheita) pode ter dificultado o estabelecimento de infecções mais profundas, o que levaria ao desenvolvimento da mancha chocolate. Não se pode descartar, também, o envolvimento de mecanismos de defesa do hospedeiro, como a calose, que podem ter impedido o desenvolvimento das infecções do patógeno (Dickman & Alvarez, 1983; Tatagiba et al, 2002).

Com relação às diferenças na incidência em épocas distintas, fatores relacionados ao ambiente podem ter influenciado os resultados. Os fatores ambientais, principalmente a água, têm papel fundamental na determinação da intensidade das doenças (Prusky et al., 1993; Luo & Michailides, 2001a, b; Ntahimpera et al., 2002). No presente estudo, houve efeito da estação chuvosa na infecção por *Colletotrichum* spp.. Maiores incidências da mancha chocolate foram verificadas na presença da água. Vários estudos ressaltam a importância da água como principal forma de dispersão dos conídios (Hartung et al., 1981; Dodd et al., 1991; Pascholati et al., 1993; Hindorf, 2000), na produção do acérvulo (Hindorf, 2000), bem como na germinação dos conídios de espécies de *Colletotrichum* (Hartung et al., 1981).

O padrão espacial das doenças causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão foi agregado em todas as áreas e épocas do ano. Para estas doenças, este padrão espacial era esperado, pois os conídios de *Colletotrichum* spp. são dispersos pela água, formando agregados de doença no campo. Na época seca, como ocorre redução na precipitação pluviométrica, esperava-se arranjo distinto da doença no campo. Entretanto, como as épocas chuvosa e seca não foram tão definidas durante a condução do trabalho e isso explica, ao menos em parte, os resultados obtidos neste estudo.

Como o padrão espacial das doenças foi agregado, a principal variável que influenciou no tamanho das amostras foi à incidência das doenças. Na maioria das áreas, a incidência média na época seca foi menor e houve maior agregação, do que na época chuvosa. Estes resultados influenciaram o tamanho das amostras, ou seja, quanto mais forte foi a agregação, maior o número de amostras necessárias (Campbell & Madden, 1990). Além disso, estes resultados podem estar relacionados com a forma de disseminação da doença, nas diferentes épocas. Na época chuvosa, os respingos de água colaboram para maior dispersão dos conídios (Hartung et al., 1981; Dodd et al., 1991; Pascholati et al., 1993; Hindorf, 2000). Enquanto que, na época seca, apenas plantas vizinhas, ou seja, agregados de plantas apresentaram-se doentes.

No Nordeste Brasileiro, a maioria da produção de mamão nas pequenas propriedades é destinada a grandes empresas. Como essas empresas precisam assegurar a qualidade de seus produtos para a comercialização, o monitoramento da incidência de doenças que apresentam infecções quiescentes é de importância fundamental. Entretanto, estudos sobre a distribuição das doenças pós-colheita e obtenção do tamanho de amostras em campo, ainda são escassos, principalmente para as infecções quiescentes. As informações obtidas neste estudo irão contribuir para o manejo efetivo dessas doenças, nas condições do Nordeste, em condições de campo.

## 5. Referências bibliográficas

Alvarez, A.M. & Nishijima, W.T. Postharvest diseases of papaya. *Plant Disease* 71: 681-686, 1987.

Bailey, J.A. & Jeger M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International, Wallingford, England. 388p.,1992.

Campbell, C.L.; Duthie, J.A. Sampling for disease assessment. *Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases: St. Paul*, v.4, p.5-8, 1989.

Campbell, C.L. & Madden, L.V. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley and Sons: New York. 532p., 1990.

Campbell, C.L.; Neher, D.A. Estimating disease severity and incidence. In: Campbell, C.L.; Benson, D.M. (Eds.). *Epidemiology and management of root diseases*. Berlin : Springer-Verlag. p.117-142,1994.

Cochran, W.G. *Sampling techniques*. John Wiley & Sons, Inc: New York, 1963.

Copes, W.E.; Scherm, H. & Ware, G.O. Sequential sampling to assess the incidence of infection by *Monilinia vaccinii-corymbosi* in mechanically harvested rabbiteye blueberry fruit. *Phytopathology* 91:348-353, 2001.

Czermainski, A.B.C.; Valdebenito-Sanhueza, R.M. Método de amostragem para estimar incidência de frutos com infecções latentes de *Glomerella cingulata* e *Botryosphaeria dothidea* em pomares de macieira. *Comunicado Técnico 41: Embrapa Uva e Vinho*.4p., 2001.

Dickman, M.B. & Alvarez, A.M. Latent infections of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 67: 748-750, 1983.

Dodd, J.C.; Estrada, A.B.; Matcham, J.; Jeffries, P. & Jeger, M.J. The effect of climatic factors on *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of mango anthracnose, in the Philippines. *Plant Pathology* 40: 568-575, 1991.

Griffiths, D.A. Maximum likelihood estimation for the beta-binomial distribution and an application to the household distribution of the total number of cases of a disease. *Biometrics* 29: 637-648, 1973.

Hartung, J.S.; Burton, C.L. & Ramsdell, D.C. Epidemiological studies of blueberry anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology* 71: 449-453, 1981.

Hindorf, H. *Colletotrichum* spp. causing anthracnose of tropical crops. *Acta Horticulturae* 531: 275-282, 2000.

Hughes, G. & Madden, L.V. Using the beta-binomial distribution to describe aggregated patterns of disease incidence. *Phytopathology* 83: 759-763, 1993.

Ishikawa, S. Correlation between field disease and latent infection by *Glomerella cingulata* of strawberry plants as revealed by a simple diagnostic method using ethanol immersion. *Journal of General Plant Pathology* 70: 333-335, 2004b.

Krebs, C.J. *Ecological methodology*. University of British Columbia: 620p., 1998.

Lapeyre de Bellaire, L. & Mourichon, X. The pattern of fungal contamination of the banana bunch during its development and potential influence on incidence of crown-rot and anthracnose disease. *Plant Pathology* 46: 481-489, 1997.

Luo, Y. & Michailides, T.J. Factors affecting latent infection of prune fruit by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology* 91: 864-872, 2001a.

Luo, Y. & Michailides, T.J. Risk analysis for latent infection of prune by *Monilinia fructicola* in California. *Phytopathology* 91: 1197-1208, 2001b.

- Madden, L.V. & Hughes, G. Plant Disease Incidence: distributions, heterogeneity, and temporal analysis. *Annual Review of Phytopathology* 33: 529-564, 1995.
- Madden, L.V. & Hughes, G. Sampling for plant disease incidence. *Phytopathology* 89: 1088-1103, 1999.
- Madden, L.V.; Hughes, G.; Van den Bosh, F. The study of plant disease epidemics. The American Phytopathological Society: St Paul, Minnesota, USA. 421p., 2007.
- Neher, D.A.; Campbell, C.L. Determining sample size. In: Francl, L.J.; Neher, D.A. (Eds.). Exercises in plant disease epidemiology. St. Paul : The American Phytopathological Society. p.12-15, 1997.
- Ntahimpera, N.; Driever, G.F.; Felts, D.; Morgan, D.P.; Michailides, T.J. Dynamics and pattern of latent infection caused by *Botryosphaeria dothidea* on pistachio buds. *Plant Disease* 86: 282-287, 2002.
- Pascholati, S.F.; Deising, H.; Leite, B.; Anderson, D.; Nicholson, R.L. Cutinase and non-specific esterase activities in the conidial mucilage of *Colletotrichum graminicola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 42: 37-51, 1993.
- Prusky, D.; Gat, Z.; Burd, P. Effect of relative humidity during mango growth on the incidence of quiescent infections of *Alternaria alternata*. *Plant Disease* 77: 249-252, 1993.
- Prusky, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Annual Review of Phytopathology* 34: 413-434, 1996.
- Sommer, N.F. Postharvest handling practices and postharvest diseases of fruit. *Plant Disease* 66: 357-364, 1982.
- Tatagiba, J.S.; Liberato, J.R.; Zambolim, L.; Ventura, J.A.; Costa, H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 27: 186-192, 2002.

Turechek, W.W. & Madden, L.V. Spatial pattern analysis and sequential sampling for the incidence of leaf spot on strawberry in Ohio. *Plant Disease* 83: 992-1000, 1999.

Ventura, J.A.; Costa, H. & Tatagiba, J.S. Manejo das doenças do mamoeiro. In: Martins, D.S.; Costa, A.F.S. (eds.) *A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção*. Vitória, ES: Incaper, p.229-308, 2003.

Wheeler, T.A.; Madden, L.V.; Rowe, R.V. & Riedel, R.M. Effects of quadrat size and time of year for sampling of *Verticillium dahliae* and lesion nematodes in potato fields. *Plant Disease* 84: 961-966, 2000.

Williamson, B. Latency and quiescence in survival and success of fungal plant pathogens. In: Blakeman, J.B. & Williamson, B. *Ecology of Plant Pathogens*. 187- 207, 1994.

Wu, B.M.; Van Bruggen, A.H.C.; Subbarao, K.V. & Pennings, G.G.H. Spatial analysis of lettuce downy mildew using geostatistics and geographic information systems. *Phytopathology* 91: 134-142, 2001.

**Tabela 1** – Valores médios da incidência (%) das doenças causadas por *Colletotrichum* spp. registradas em diferentes áreas de cultivo localizadas no Estado da Paraíba nas épocas chuvosa e seca. O valor da probabilidade apresentado (Valor de P) indica a significância da diferença entre épocas numa mesma área de acordo com o teste t-Student.

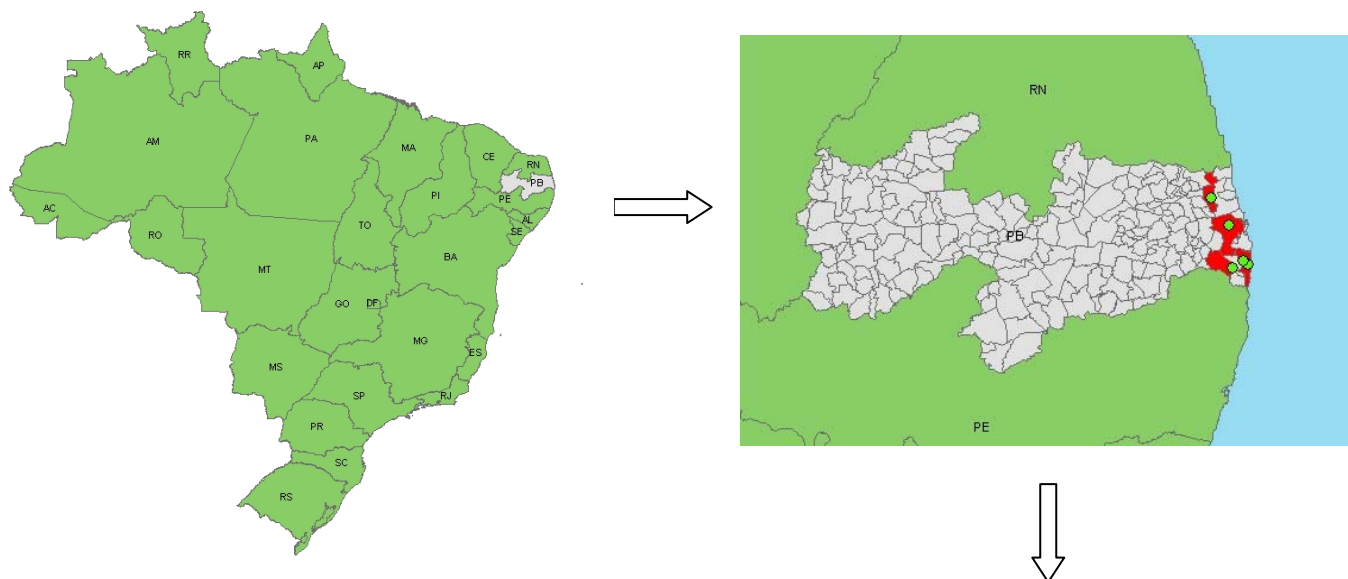
Áreas	Doenças								
	Mancha chocolate			Antracnose			Podridão peduncular		
	Chuvosa	Seca	Valor de P	Chuvosa	Seca	Valor de P	Chuvosa	Seca	Valor de P
<b>1</b>	45	24	0,0025	13,67	7,67	0,1296 ns	99	99,67	0,3097 ns
<b>2</b>	59	18	<0,0001	18,67	5,00	<0,0001	98	99,33	0,2760 ns
<b>3</b>	41	60	0,0011	0,67	14,67	<0,0001	99,33	99,33	1,000 ns
<b>4</b>	32	16	0,0025	7,33	5,33	0,5526 ns	99,33	97,00	0,0937 ns
<b>5</b>	19	0	<0,0001	2,67	0	0,0881 ns	99,33	91,00	0,0019

**Tabela 2** – Índices de dispersão da Mancha chocolate e da Antracnose em diferentes áreas e épocas de cultivo do mamão no Estado da Paraíba.

Índices/Distribuição	Doenças	Chuvosa					Seca				
		Áreas					Áreas				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5*
<b>**VM</b>	<b>Mancha chocolate</b>	1,1	0,5	1,1	1,7	1,0	1,6	3,9	0,6	1,4	
	<b>Antracnose</b>	1,9	1,1	2,0	3,2	2,5	2,4	5,2	1,7	1,7	
<b>**LI</b>	<b>Mancha chocolate</b>	4,6	5,4	4,2	3,8	1,8	3,3	4,7	5,5	1,9	
	<b>Antracnose</b>	2,3	2,0	0,0	3,0	1,8	2,1	4,7	2,1	1,3	
<b>LIP</b>	<b>Mancha chocolate</b>	1,0	0,9	1,0	1,2	1,0	1,2	2,6	0,9	1,2	
	<b>Antracnose</b>	1,7	1,0	1,0	4,1	6,8	2,8	9,4	1,4	2,4	
<b>K</b>	<b>Mancha chocolate</b>	26,7	344,7	49,5	4,5	75,7	3,8	0,4	336,9	2,8	
	<b>Antracnose</b>	1,10	12,60	0,02	0,55	0,12	0,50	0,10	1,69	0,72	
<b>θ</b>	<b>Mancha chocolate</b>	0,12	0,04	0,10	-0,2	0,02	-0,12	0,69	0,05	-0,2	
	<b>Antracnose</b>	-0,2	0,04	-0,2	0,20	0,24	0,20	0,70	0,13	0,09	

\*Incidência da doença:0%,

\*\*VM: relação variância média, LI: índice de Lloyd



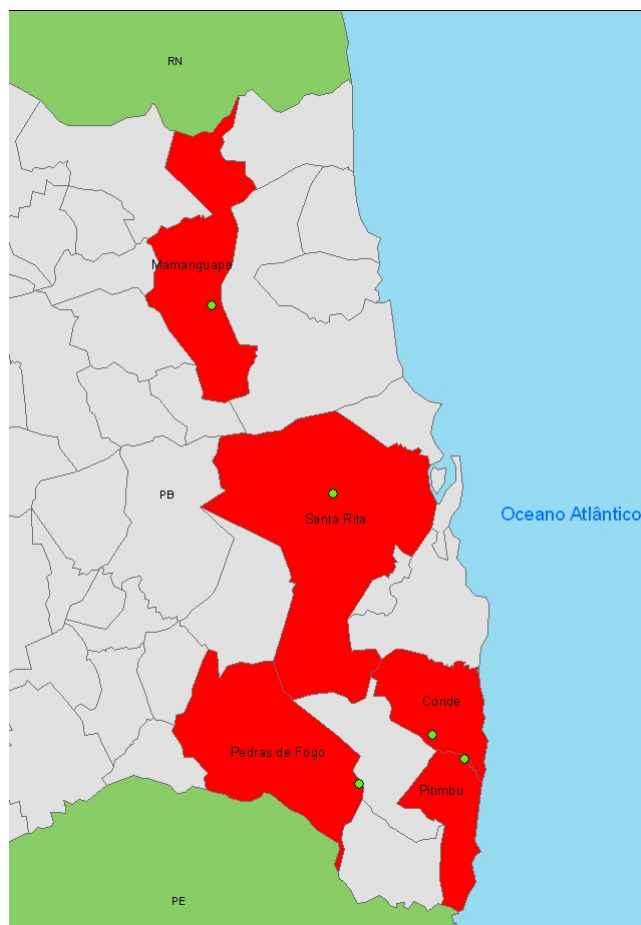
**Mamanguape**  
 Área 1: Fazenda 5 (Doce Mel)  
 Coordenadas: S 06° 46'27,4", W035° 08'46,3"  
 Variedade Golden  
 Área: 13,14 ha  
 Amostragem: Julho a Outubro (2009)

**Santa Rita**  
 Área 2: Fazenda Jacaraúna  
 Coordenadas: S07 00' 26.0", W034 59'16,8"  
 Variedade Papaya Alto  
 Área: 3 ha  
 Amostragem: Agosto a Outubro (2009)

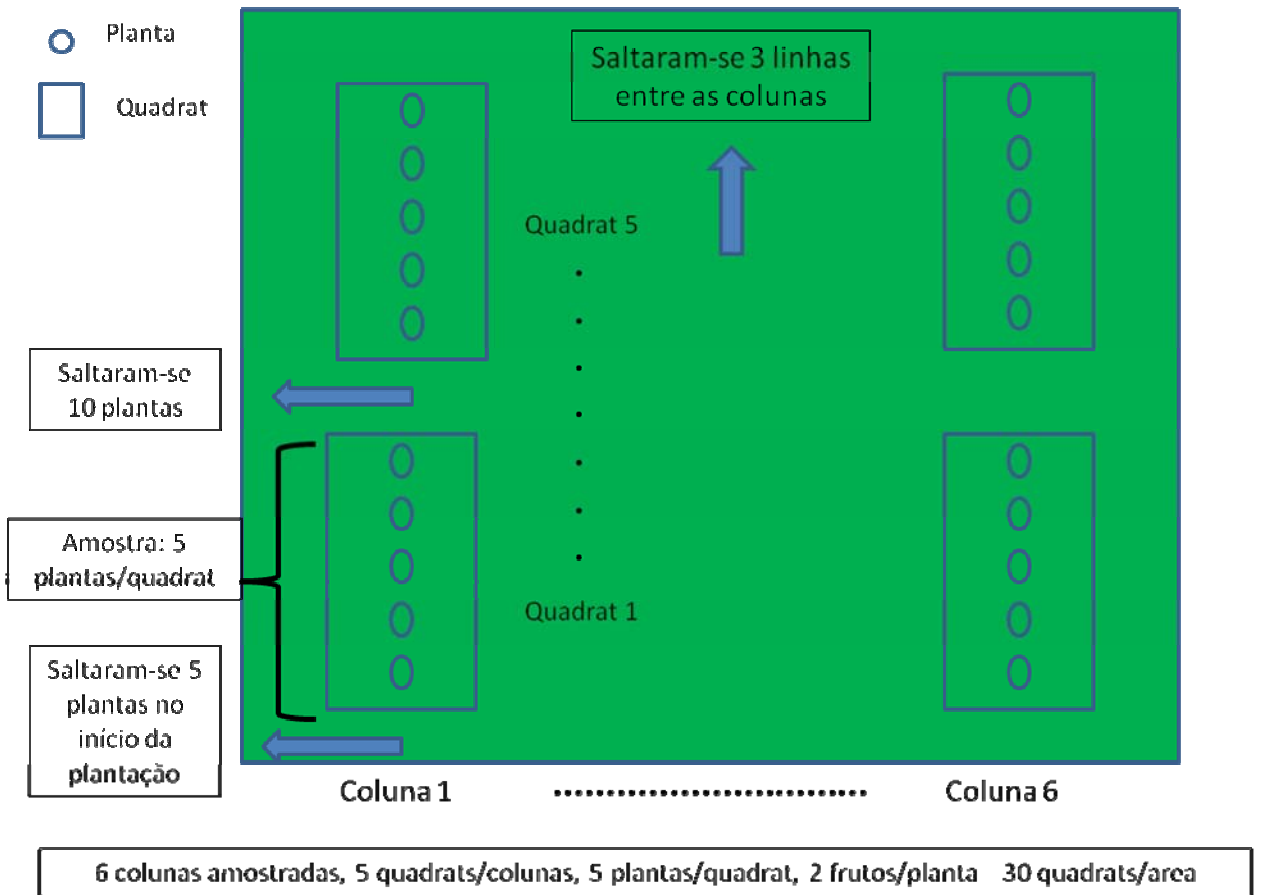
**Pitimbu**  
 Área 3: Fazenda Andrezza  
 Coordenadas: S07 21' 25.8", W 034 49'11,3"  
 Variedade Baixinho de Santa Amália  
 Área: 2 ha  
 Amostragem: Agosto a Outubro (2009)

**Pedras de Fogo**  
 Área 4: Fazenda Águas Lindas  
 Coordenadas: S07 23' 28.8", W 034 57'25,6"  
 Variedade Baixinho de Santa Amália  
 Área: 3,5 ha  
 Amostragem: Setembro a Novembro (2009)

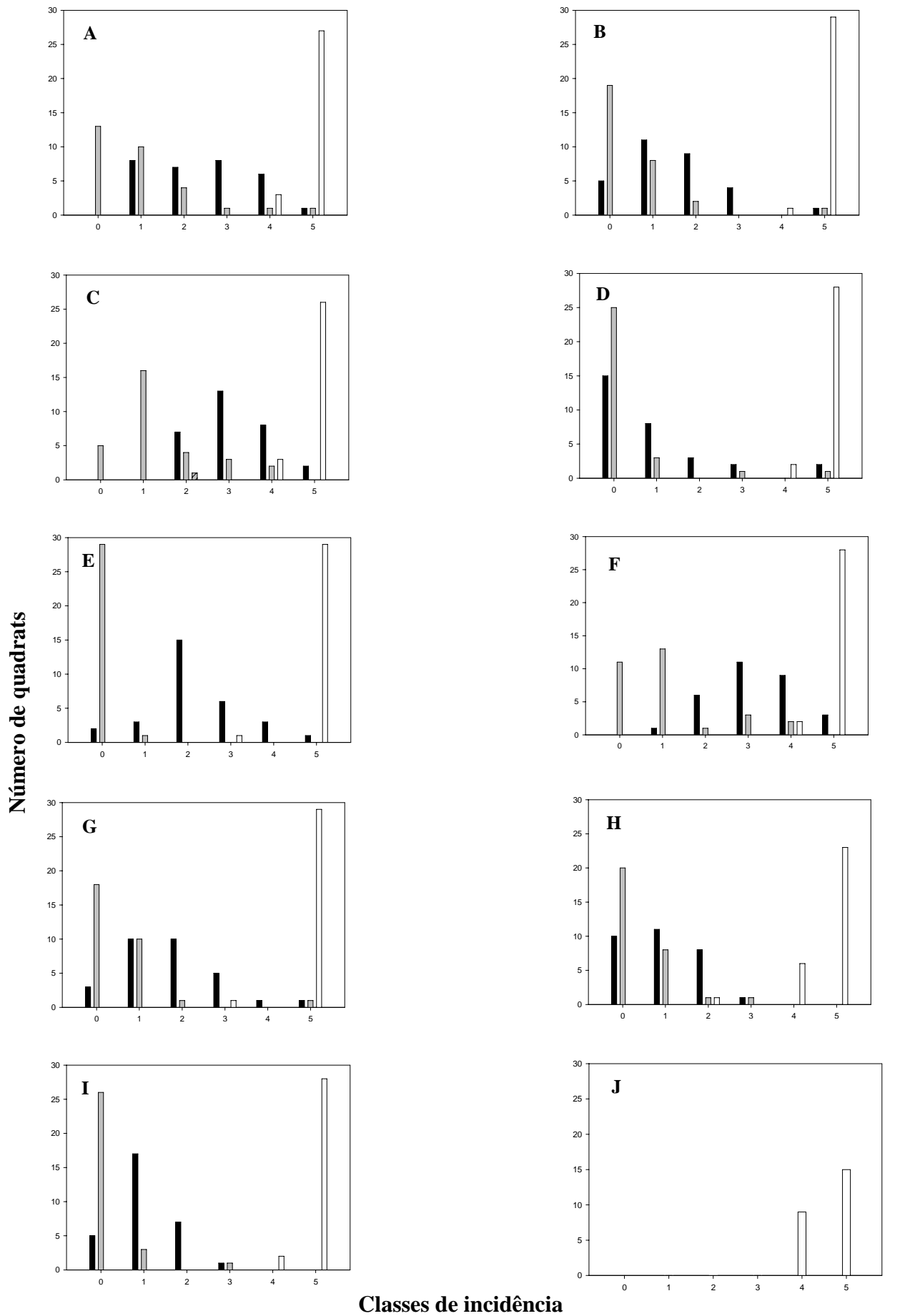
**Conde**  
 Área 5: Fazenda Mucatu-Namastê  
 Coordenadas: S07 19' 46.8", W 034 51,01'7"  
 Variedade Baixinho de Santa Amália  
 Área: 4,5 ha  
 Amostragem: Setembro a Dezembro (2009)



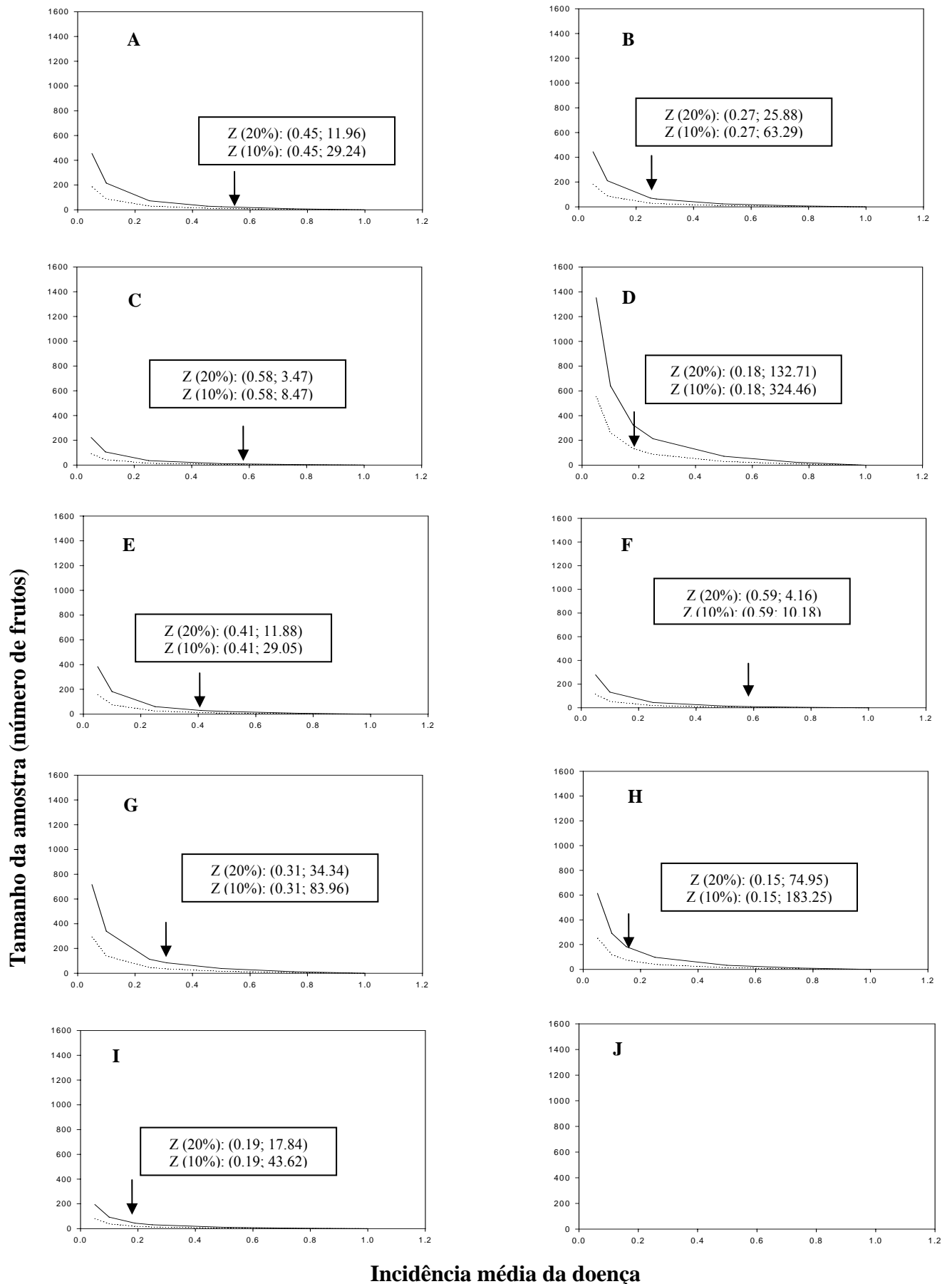
**Figura 1** – Áreas de cultivo do Estado da Paraíba, onde se colheram frutos para o estudo



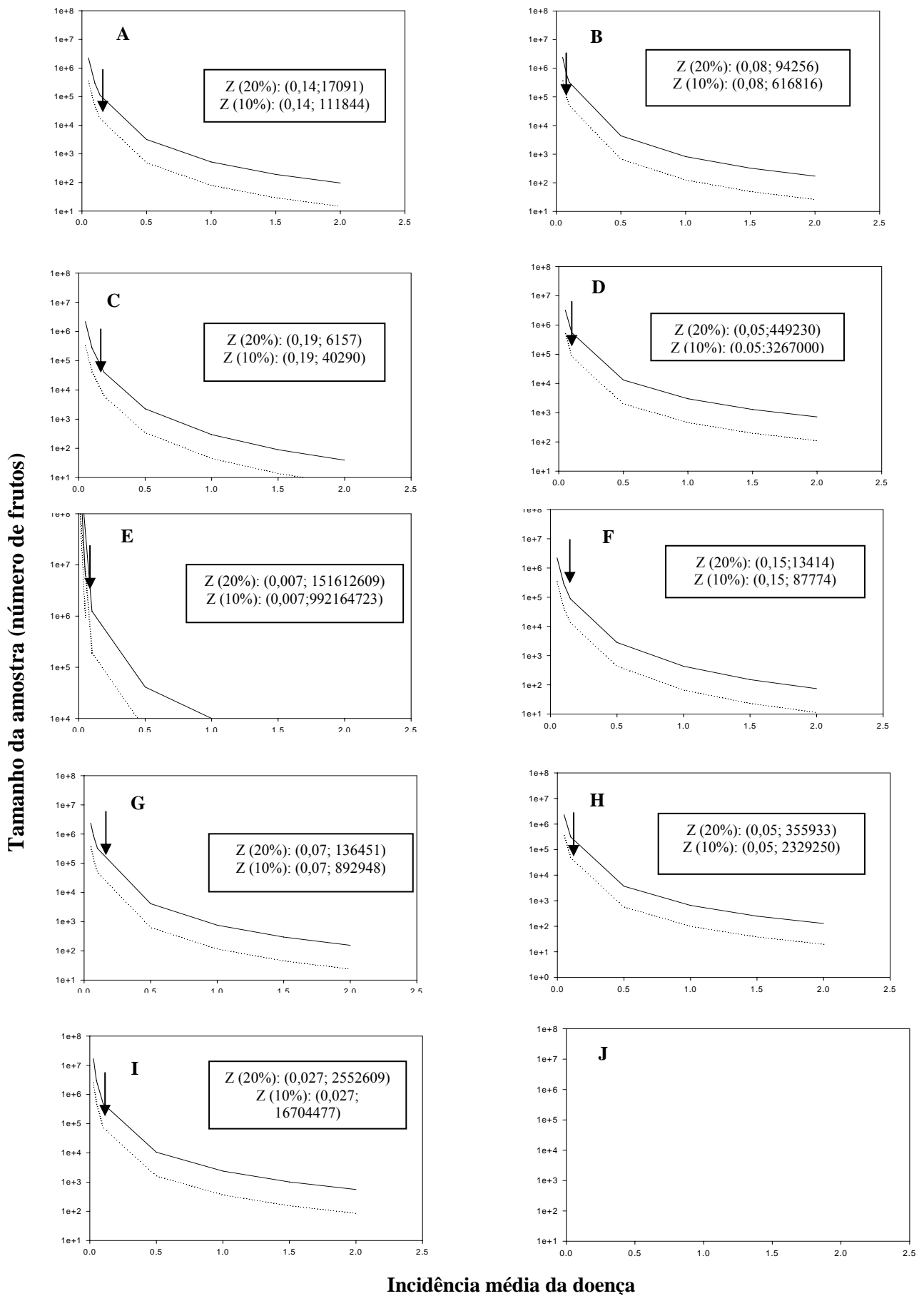
**Figura 2** – Esquema da amostragem de coleta dos frutos de mamão.



**Figura 3-** Frequência de quadrats em diferentes classes da incidência das doenças causadas por *Colletotrichum* spp. em 5 áreas e 2 épocas (chuvosa e seca) no Estado da Paraíba. Painéis A, C, E, G e I época chuvosa; B, D, F, H e J, época seca (áreas 1 a 5), respectivamente.



**Figura 4-** Tamanho da amostra (número de frutos), baseado na probabilidade associada (10% e 20% de erro) da mancha chocolate em 5 áreas e 2 épocas no Estado da Paraíba (valores nos boxes representam o tamanho da amostra obtidos no estudo). Painéis A, C, E, G e I época chuvosa; B, D, F, H e J, época seca (áreas 1 a 5), respectivamente.



## CONCLUSÕES GERAIS

1- Para a mancha chocolate e podridão peduncular, os métodos do Paraquat e Ethrel foram similares ou superestimaram a intensidade das doenças, comparados ao método padrão, qual seja, frutos no ponto de colheita. Para a antracnose, apenas o Ethrel foi similar ou superestimou a intensidade da doença, comparado ao método padrão. No geral, o método do Ethrel foi mais eficiente em detectar as infecções causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos de mamão.

2- Para mancha chocolate a detecção de infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em frutos com 3 semanas antes da colheita não diferiu da detecção em frutos no ponto de colheita. Para podridão peduncular, frutos de todas as idades não diferiram dos frutos no ponto de colheita. Não foi possível determinar a idade ideal para a antracnose, pois a incidência da doença na maioria das áreas foi zero.

3- A temperatura influenciou os métodos de detecção. Com a utilização do Ethrel, o armazenamento dos frutos deverá ocorrer de 25 a 31 °C.

4- A mancha chocolate e a antracnose apresentaram arranjo agregado. Entretanto, a agregação é mais acentuada para a antracnose. Os maiores tamanhos de amostras foram obtidos na época seca, do que na época chuvosa;

5- Para detectar as infecções quiescentes causadas por *Colletotrichum* spp. em mamão, deve-se amostrar frutos com 3 semanas antes da colheita, tratá-los com solução de Ethrel e incubá-los entre 25 a 31 °C. Para monitoramentos em época chuvosa, da mancha chocolate o menor tamanho de amostra é 3 frutos, enquanto na época seca deve-se amostrar, no mínimo, 4 frutos. Para antracnose, em época chuvosa o menor tamanho da amostra é de 6157 frutos, enquanto na época seca deve-se amostrar no mínimo 13414 frutos, para uma probabilidade de 20%.