



INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA RADIAÇÃO UV-C NO CRESCIMENTO MICELIAL E NA GERMINAÇÃO DE *Penicillium digitatum*

Monica Pirola **Viecelli**¹; Adriane Maria da **Silva**²; Mayara Silva **Ponte**³; Rosely dos Santos **Nascimento**⁴; Daniel **Terao**⁵

Nº 15421

RESUMO - As doenças pós-colheita provocam perdas significativas na citricultura, sendo que na exportação de frutas frescas existe grande restrição para os resíduos químicos. Nesse contexto, existe demanda por tratamentos na pós-colheita que não utilizem fungicidas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da temperatura e da radiação da luz ultravioleta C (UV-C) no crescimento micelial e na inibição de esporos de *Penicillium digitatum*, fungo causador da podridão pós-colheita em laranja. Avaliaram-se as temperaturas: 50°C, 55°C e 60°C em períodos de 15 s e 30 s e as doses de luz UV-C: 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 kJ.m⁻², nas avaliações de inibição de esporos e 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 10 kJ.m⁻², nos estudos de crescimento micelial. De maneira geral, a radiação UV-C diminuiu o desenvolvimento de *P. digitatum*, pois, apesar de não ser letal, todos os tratamentos apresentaram a área abaixo da curva do crescimento micelial menor que a testemunha, não diferindo entre eles. Observou-se que a radiação UV-C é altamente eficiente na inibição de germinação de esporos sendo que doses baixa de 0,25 kJ.m⁻² inibiu acima de 85% e os melhores resultados foram obtidos a partir de 1,0 kJ.m⁻². Com relação ao tratamento hidrotérmico, observou-se que o esporo de *P. digitatum* é sensível a temperaturas elevadas. O binômio de 50°C por 30 s inibiu a germinação de 99,48% não diferindo da combinação de 55°C por 15 s, que inibiu completamente. Conclui-se que existe potencialidade de uso do tratamento hidrotérmico e de radiação UV-C na pós-colheita de laranja como alternativa aos fungicidas.

Palavras-chaves: Bolor verde, citros, tratamento hidrotérmico, radiação UV-C.

¹ Autor, Bolsista EMBRAPA: Graduação em Engenharia de Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP; moviecelli@hotmail.com

² Colaborador, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia Ambiental, FAJ; drisilva@gmail.com

³ Colaborador Bolsista Embrapa: Graduação em Ciência dos Alimentos, ESALQ/USP; spmayara@yahoo.com.br

⁴ Colaborador: Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; rosely.nascimento@embrapa.br

⁵ Orientador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; daniel.terao@embrapa.br



ABSTRACT- *Postharvest diseases can cause significant losses on citriculture and for exportation of fresh fruit, there is great restriction for chemical residues. In this context, there is demand for postharvest treatments that do not use fungicides. This study aimed to evaluate the efficiency of temperature and ultraviolet light C radiation (UV-C) on mycelial growth and inhibition of *Penicillium digitatum* spores, causal agent of postharvest rot on orange. The evaluated temperatures were: 50°C, 55°C and 60°C during 15 to 30 s and UV-C light doses: 0.25; 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 kJ.m⁻², on spores inhibition evaluations and 1.0; 2.0; 4.0; 8.0 and 10 kJ.m⁻², on studies of mycelial growth. In general, the UV-C radiation reduced the development of *P. digitatum*, although not lethal, all treatments showed the area under the curve of mycelial growth lower than the control, and did not differ among them. It was observed that UV-C radiation is highly effective on spore germination inhibition showing that low doses around 0.25 kJ.m⁻² inhibited above 85% and the best results were obtained from 1.0 kJ.m⁻². Concerning to the hydrothermal treatment, it was noted that *P. digitatum* spores is sensitive to high temperatures. The binomial 50°C for 30 s inhibited the germination around 99.48% and did not differ from the combination of 55°C for 15 s, which inhibited completely. We concluded that there is potential use of the hydrothermal treatment and UV-C radiation on postharvest treatment of orange as an alternative to fungicides.*

Key-words: Green mold, citrus, hydrothermal treatment, UV-C radiation.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca por ser um dos maiores produtores e exportadores de laranja. Em 2013 produziu cerca de 16,3 milhões de toneladas (t) de laranja em uma área de 762 mil hectares (ha). Sua exportação em volume foi de 23.208 kg e em receita U\$ 9.996.726(FOB) (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2014, 2014).

Há muitas perdas dessas frutas devido principalmente à deficiência no transporte e armazenamento refrigerado dos produtos, manipulação inadequada e tratamentos fitossanitários ineficientes, ocorrendo perdas quantitativas e qualitativas, depreciando as frutas brasileiras nas negociações internacionais (VENTURA et al., 2007).

Para reduzir essas perdas, ocorre utilização de agrotóxicos, acarretando sérios problemas ao meio ambiente, homem e animais, desencadeando contaminação de águas superficiais e subterrâneas, solo, atmosfera e resíduos tóxicos nos alimentos. Tudo isso tem levado à procura de



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

produtos livres de contaminantes, provenientes de agricultura limpa, produtos esses cada vez mais valorizados por consumidores do mundo inteiro (BARKAI-GOLAN, 2001).

O bolor verde, causado pelo *Penicillium digitatum*, é a principal doença em pós-colheita de frutos cítricos em todo o mundo. E os primeiros sintomas que se observam é uma lesão encharcada, com cerca de 2 cm de diâmetro, e que logo fica coberta por uma massa de esporos de coloração verde, característica do patógeno. Um anel de micélio branco circunda a área correspondente à zona de esporulação, e todo o conjunto é envolto por um halo de aspecto aquoso. Em estágio final, a fruta apresenta-se toda recoberta pelos esporos do patógeno, os quais são prontamente disseminados pelo vento (OLIVEIRA et al., 2006).

A germinação dos esporos na superfície dos frutos depende da presença de ferimentos na casca, decorrentes do manuseio inadequado na colheita e na pós-colheita. A elevada incidência dessa doença pode ser atribuída à grande produção de esporos na superfície dos frutos, sendo muito abundante nos galpões de embalagem, principalmente nos locais de recepção dos frutos (LARANJEIRA et al., 2005).

O controle de doenças pós-colheita deve ser iniciado ainda no campo, na fase de desenvolvimento dos frutos, para evitar a sua contaminação e posterior aparecimento de podridões (RITZINGER, 2000).

A moderna agricultura requer redução no uso de pesticidas na produção de alimentos, havendo uma necessidade crescente de estratégias de controle alternativas (LAPEYRE DEBELLAIRE & MOURICHON, 2000). Dentre algumas alternativas destacam-se o tratamento térmico e a radiação ultravioleta (UV-C).

O tratamento térmico tem sido utilizado como agente esterilizante há muitos anos, mas, apenas a partir do fim da década de 60, tem recebido atenção para controlar podridões pós-colheita de frutos (EDNEY; BURCHILL, 1967). Diversos trabalhos têm comprovado a eficiência do tratamento hidrotérmico do controle doenças pós-colheita de frutas como a maçã, a manga e outras espécies frutícolas (BARTINICK et al., 2011; LIMA et al., 2007; BRUTON; DUTHIE, 1996).

O tratamento com radiação UV-C na dose adequada, além do controle direto do fungo, pode induzir resistência a patógenos no tecido vegetal e, assim, reduzir a incidência de doenças pós-colheita (STEVENS et al., 2005)

Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar a eficiência da temperatura e da radiação da luz ultravioleta C (UV-C) no crescimento micelial e esporulação de *P. digitatum*, fungo causador da podridão pós-colheita em laranja.



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

2. MATERIAIS E METODOS

Os experimentos foram realizados na Embrapa Meio Ambiente avaliando-se o efeito da temperatura e da radiação ultravioleta C (UV-C) no desenvolvimento e na inibição de esporos do *Penicillium digitatum*.

No estudo de inibição de esporos, o inóculo foi obtido através do cultivo do fungo em placas de Petri com meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e após o período de incubação, as placas com as colônias foram inundadas com 10mL água destilada esterilizada (ADE) e raspada com uma alça esterilizada e a suspensão de esporos ajustada na concentração de 10^3 conídios.mL⁻¹.

O tratamento hidrotérmico constituiu na adição de 100 µl da suspensão de conídios em tubos de ensaio contendo 900 µl de ADE aquecida na temperatura desejada, imersos em banho-maria. As temperaturas aplicadas foram 50 °C, 55 °C e 60 °C em períodos de 15 s e 30 s. Após o tempo, cada tubo de ensaio foi transferido para um banho com gelo (≈ 3 °C), para deter a exposição das estruturas as altas temperaturas. Para o tratamento com radiação UV-C foram preparadas placas de Petri de 5 cm de diâmetro contendo 3 mL da suspensão de esporos, as quais, abertas, foram expostas à radiação UV-C pelo período de 67 s, 134 s, 268 s, 402 s e 536 s, que corresponderam às doses de: 0,25; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 kJ/m², respectivamente. Após os tratamentos hidrotérmicos e radiação UV-C, alíquotas de 0,1mL foram transferidas e espalhadas em placas de Petri contendo o meio BDA, onde ficaram incubadas a 23 ± 1 °C, e após 72 h foi feita a avaliação, pela da contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC).

Para a avaliação do efeito da radiação UV-C no crescimento micelial do fungo, discos de micélio de BDA, obtido da borda de crescimento ativo do fungo foram depositados no centro de placas de Petri, contendo meio BDA. Estas placas foram abertas no irradiador e receberam as doses estudadas de luz UV-C: 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 10 kJ/m². Avaliou-se diariamente o desenvolvimento do fungo pela medição do crescimento micelial em dois sentidos ortogonais, com o auxílio de um paquímetro digital.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições e os dados obtidos foram expressos em porcentagem de controle e submetidos à análise de variância e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Observou-se que a aplicação da radiação UV-C diminuiu o desenvolvimento de *P. digitatum*, pois, apesar de não ser letal, todos os tratamentos apresentaram a área abaixo da curva do



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

crescimento micelial (AACCM) menor que a testemunha, não diferindo entre eles. Indicando que mesmo uma elevação na dose até 10 kJ/m^2 não resultou em um decréscimo significativo na taxa de crescimento micelial do fungo.

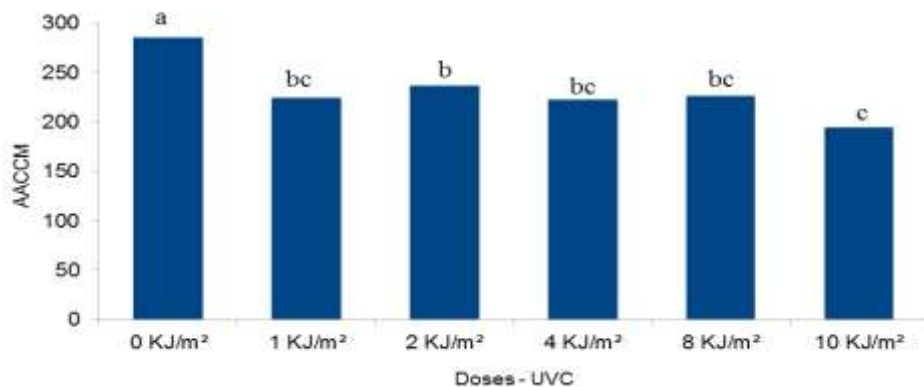


Figura 1. Área abaixo da curva do crescimento micelial (AACCM) de *Penicillium digitatum* submetido a doses de luz ultravioleta C (UV-C).

Por outro lado, observou-se que a radiação UV-C é altamente eficiente na inibição de germinação de esporos de *P. digitatum*, conforme observado na Tabela 1. Dose bastante baixa de $0,25 \text{ kJ/m}^2$ inibiu acima de 85% na germinação de esporos. Os melhores resultados foram obtidos a partir de $1,0 \text{ kJ/m}^2$, que diferiu dos tratamentos $0,25$ e $0,5 \text{ kJ/m}^2$ e não diferiu de $1,5$ e $2,0 \text{ kJ/m}^2$.

Estes resultados estão em concordância com Nascimento et al. (2014), que observaram comportamentos semelhantes dos fungos, *Alternaria alternata*, *Fusarium pallidoroseum*, *Myrothecium roridum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae*, em que, de maneira similar, o efeito na inibição de esporos foi sempre superior à diminuição no crescimento micelial para as mesmas doses de luz UV-C, sendo que os melhores resultados foram obtidos nas doses de $0,66 \text{ kJ/m}^2$ para *A. alternata*, *F. Pallidoroseum* e *M. roridum* e $0,333 \text{ kJ/m}^2$ para *L. theobromae*, enquanto que para *C. gloeosporioides* somente a dose de $1,32 \text{ kJ/m}^2$ foi capaz de inibir 96,1% da germinação de esporos.



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

Tabela 1. Controle (%) de unidades formadoras de colônias (UFC's) e do crescimento do micélio de *Penicillium digitatum* submetidos à Radiação UV-C.

Tratamentos	Controle de UFC (%)	
0,25 kJ.m ⁻²	85.59	c
0,5 kJ.m ⁻²	93.48	b
1,0 kJ.m ⁻²	98.33	a
1,5 kJ.m ⁻²	99.24	a
2,0 kJ.m ⁻²	99.69	a
F p/ tratamentos	51,38	
CV (%)	1,51	

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Média de três repetições, cada uma constituída por duas placas com colônias. Média de três repetições, cada uma composta por uma placa com três discos de micélio.

Com relação ao tratamento hidrotérmico, observou-se que o esporo de *P. digitatum* é sensível a temperaturas elevadas. O binômio de 50 °C por 30 s inibiu a germinação de 99,48% de esporos, não diferindo da combinação de 55 °C por 15 s que inibiu completamente a germinação (Tabela 2).

Tabela 2. Controle (%) de unidades formadoras de colônias (UFC's) e do crescimento do micélio de *Penicillium digitatum* submetidos aos Tratamentos Hidrotérmicos.

Tratamentos	Controle de UFC (%)	
50°C/15s	89.74	c
50°C/20s	93.33	b
50°C/30s	99.48	a
55°C/15s	100	a
55°C/20s	100	a
55°C/30s	100	a
60°C/15s	100	a
60°C/20s	100	a
60°C/30s	100	a
F p/ tratamentos	166.00	
CV (%)	0.52	

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Média de três repetições, cada uma constituída por duas placas com colônias. Média de três repetições, cada uma composta por uma placa com três discos de micélio.

De maneira similar ao efeito da radiação UV-C, Silva et al. (2013) verificaram que *P. digitatum* apresenta elevada termoresistência na inibição do crescimento micelial, sendo que



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

apenas os binômios: 50 °C/480 s; 52 °C/160 s; 54 °C/90 s; 56 °C/ 60 s; 58 °C/40 s; 60 °C/15 s e 62 °C/10 s foram letais ao fungo, contrastando com a elevada sensibilidade do esporo ao tratamento hidrotérmico, observado no presente trabalho.

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que *P. digitatum*, agente causal do bolor verde em citros é sensível ao tratamento hidrotérmico e à radiação UV-C, sendo que o efeito na inibição de germinação de esporos é mais eficiente que no crescimento micelial. Portanto, existe potencialidade no uso destas tecnologias no tratamento pós-colheita como alternativa ao uso de fungicidas.

5. BIBLIOGRAFIA

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2014, Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2014.136p.(Frutas do Brasil; 11)

BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Development and Control**. Amsterdam: Elsevier, 2001. 432p.

BARTINICK, V.A.; Valdebenito-Sanhueza, R.M.; Amarante, C.V.T.; Castro, L.A.S.; Rizzatti, M.R.; Souza, J.A.V. et al. **Água aquecida e radiação UV-C no controle pós-colheita de *Cryptosporiosis perennans* em maçãs**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.45, n2, p. 124-131, 2010.

BRUTON, B.D.; DUTHIE, J.A. fusarium rot. In: Zitter, T.A.; Hopkins, D.L.; Thomas, C.E. (Eds.) **Compendium of cucurbit diseases**. Saint Paul. APS Press. 1996. p.50-51.

EDNEY, K. L.; BURCHILL, R. T. **The use of heat to control the rotting of Cox's Orange Pippin apples by *Gloeosporium* spp.** *Annals of Applied Biology*, Kent, v.59,n.3,p.389-400, 1967

LAPEYRE DE BELLAIRE, L. de & MOURICHON, X. **The biology of *Colletotrichum musae*** (Berk. et Curt.) Arx and its relation to control of banana anthracnose. *Acta Horticulturae* 490:287-303. 2000

LARANJEIRA, F.F., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., AGUILAR-VILDOSO, C.I. & DELLA COLLETA FILHO, H. **Fungos, procariotos e doenças abióticas**. In: Mattos Junior, D., De Negri, J.D., Pio, R.M. & Pompeu Junior, J. (Eds.) *Citros*. Campinas SP. Instituto Agrônomo de Campinas e Fundag. 2005. Instituto Agrônomo de Campinas e Fundag. 2005.

LIMA, L.C.; Dias, M.S.C.; Castro, M.V.; Ribeiro Junior, P.M.; silva, E.B. **Controle da antracnose e qualidade de mangas (*Mangifera indica* L.) cv. Haden, após tratamento hidrotermico e armazenado refrigerado em atmosfera modificada**. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.31, n.2, p.298-304, 2007.



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

NASCIMENTO, F.V.; SANTOS, M.C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; BARTINICK, V.A. **Hidrotermia e radiação UV-C no controle de patógenos de manga e melão.** Summa Phytopathologica, Botucatu, v.40, n.4, p. 313-317, 2014.

OLIVEIRA, S.; TERAQ, D; DANTAS, S.A.F.; TAVARES, S.C.C. de H. **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais.** 1. ed. Brasília, DF: Embrapa informação tecnológica, 2006, 855 p.

RITZINGER, C.H.S.P. et al. **Mamão Fitossanidade.** Cruz das almas, Ba: Embrapa mandioca e fruticultura, 2000. 91 p.

SILVA, M.A.; TERAQ, D.; SANTOS, L.T.; BENATO, A.E.; **Efeito da temperatura no desenvolvimento de fungos causadores de doenças pós-colheita em laranja.** In: Congresso de Interinstitucional de Iniciação Científica, 7, 2013, Campinas-SP. Anais eletrônicos...Campinas: IAC. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/ciiciac/resumo2013/RE13411.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2015.

STEVENS, C.; KHAN, V.A.; WILSON, C.L. **The effect of fruit orientation of postharvest commodities following low dose ultraviolet light-C treatment on host induced resistance to decay.** Crop Protection, Ames, v.24, n.8, p.756-759, 2005.

VENTURA, J.A., ZAMBOLIM, L., COSTA, H. **Patologia pós-colheita: doenças do mamão, banana e abacaxi.** In: Simpósio Brasileiro de Pós-colheita de Frutas, Hortaliças e Flores (2.: 2007: Viçosa, MG) Palestras e resumos / II simpósio brasileiro de pós-colheita de frutas, hortaliças e flores, UFV, Viçosa, MG, 24 a 27 de abril de 2007; editores Maria Aparecida Nogueira Sedyama... [et al.]. – Viçosa, MG, 2007 p. 149 a 166.