

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 10

ISSN 1677-1907
Dezembro, 2003

Fungos Associados a Frutos e Sementes do Sapotizeiro



República Federativa do Brasil

Luís Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio
Presidente

Clayton Campanhola
Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires
Ernesto Paterniani
Hélio Tollini
Luis Fernando Rigato Vasconcellos
Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanhola
Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca
Herbert Cavalcante de Lima
Mariza Marilena T. Luz Barbosa
Diretores-Executivos

Embrapa Agroindústria Tropical

Francisco Férrer Bezerra
Chefe-Geral

Caetano Silva Filho
Chefe-Adjunto de Administração

Levi de Moura Barros
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Francisco Fábio de Assis Paiva
Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios



ISSN 1677-1907

Agosto, 2003

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 10

Fungos Associados a Frutos e Sementes do Sapotizeiro

Francisco Marto Pinto Viana
Armando César Macêdo Saraiva
Maria Nenmaura Gomes Pessoa
Francisco das Chagas Oliveira Freire
Clódion Torres Bandeira
Júlio Cal Vidal

Fortaleza, CE
2003

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270 Pici

Caixa Postal 3761

Fone: (85) 299-1800

Fax: (85) 299-1803

Home page: www.cnpat.embrapa.br

E-mail: sac@cnpat.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: Oscarina Maria da Silva Andrade

Secretário-Executivo: Marco Aurélio da Rocha Melo

Membros: Francisco Marto Pinto Viana, Francisco das Chagas

Oliveira Freire, Heloisa Almeida Cunha Filgueiras,

Edineide Maria Machado Maia, Renata Tiekko Nassu,

Henriete Monteiro Cordeiro de Azeredo

Supervisor editorial: Marco Aurélio da Rocha Melo

Revisão de texto: Maria Emília de Possídio Marques

Normalização bibliográfica: Rita de Cássia Costa Cid

Foto da capa: Cláudio de Norões Rocha

Editoração eletrônica: Arilo Nobre de Oliveira

1ª edição

1ª impressão (2003): 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

CIP - Brasil. Catalogação-na-publicação

Embrapa Agroindústria Tropical

Viana, Francisco Marto Pinto

Fungos associados a frutos e sementes do sapatizeiro/Francisco Marto Pinto Viana [et al...]. - Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003.

?? p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 10).

1.Sapotí - doença - fungo.II.Manilkara zapota. III. Título. IV. Série.

CDD 634.573

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	10
Conclusões	13
Referências Bibliográficas	14

Fungos Associados a Frutos e Sementes do Sapotizeiro

*Francisco Marto Pinto Viana*¹

*Armando César Macêdo Saraiva*²

*Maria Nenmaura Gomes Pessoa*³

*Francisco das Chagas Oliveira Freire*¹

*Clódion Torres Bandeira*¹

*Júlio Cal Vidal*⁴

Resumo

Foram empregados três diferentes métodos para a detecção de fungos associados aos frutos do sapotizeiro (*Manilkara zapota* van Royen): câmara úmida, incubação da casca do fruto em placas com meio BDA + antibiótico e agitação dos frutos em água destilada esterilizada com plaqueamento de uma alíquota da suspensão. Para detecção dos fungos em sementes empregou-se o clássico método "blotter test". Em frutos e sementes foram identificados, respectivamente, apenas seis e nove diferentes gêneros de fungos. *Mucor* sp. foi detectado apenas em frutos, enquanto *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. foram detectados somente em sementes. Excetuando *Trichoderma* sp., que ocorreu com frequência relativa de 2,5%, todos os outros fungos identificados eram potencialmente patogênicos. *Aspergillus* foi o gênero mais comum, sendo encontrado com uma frequência relativa de 16% nas sementes, mas destacando-se também nos frutos. Em sementes, o gênero *Penicillium* ocorreu em 8,0% dos casos, *Pestalotiopsis* sp. e *Cladosporium* sp. ocorreram com frequência de

¹ Eng. Agrôn., Ph. D., Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara. Mesquita, 2270, Bairro Pici, Caixa Postal 3761, CEP 60511-110, Fortaleza, CE. fmpviana@cnpat.embrapa.br

² Eng. Agrôn., Mestrando em Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará - UFC.

³ Eng. Agrôn., Professora do Curso de Agronomia da UFC.

⁴ Eng. Agrôn., B. Sc., Embrapa Agroindústria Tropical.

7,5%, *Alternaria* com 5,0%, *Lasiodiplodia theobromae* e *Fusarium* sp. com 3,5%, e *Rhizopus* sp. com 1,0%. *Lasiodiplodia theobromae* e *Rhizopus* sp. ocorreram com menor frequência tanto em frutos quanto em sementes. Entre os métodos testados para detecção de fungos nos frutos, o plaqueamento da casca foi o mais eficiente, seguido do método de agitação manual. Verificou-se que *L. theobromae* foi facilmente removido da superfície dos frutos por meio de lavagem simples. Também, deduziu-se deste trabalho, que esse fungo infecta a polpa do fruto na qualidade de oportunista, ou seja, penetrando por meio de ferimentos.

Palavras-chave: *Manilkara zapota*, *M. achras*, população fúngica, detecção.

Fungi Associate with Fruits and Seeds of Sapodilla

Abstract

Different methods were applied for detection of associated fungi to sapodilla fruits (*Manilkara sapota* L. van Royen): Humid chamber fruit skin inoculation PDA (Potato Dextrose Agar) plus antibiotics in distilled water with one portion of the suspension. For fungi detection in the seeds, was applied the classic method of blotter test. In fruits and seeds were identified, respectively, only six and nine different fungi genera. *Mucor* sp. was detected only in fruits, even *Rhizopus* sp. *Cladosporium* sp. and *Fusarium* sp. that were detected only in fruits. Instead of *Trichoderma* sp. that has occurred with relative frequency of 2,5 %, all of the identified fungi, were potentially pathogenic. *Aspergillus* was the most common genus, even being found with relative frequency of the 16 % in seeds, but being important in fruits. On the seeds the *Penicillium* genus has occurred in 8% of the cases, *Pestalotiopsis* sp. and *Cladosporium* sp. have occurred with a frequency of the of the 7,5%, *Alternaria* with 5%, *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium* sp. with 3,5% and *Rhizopus* sp. with 1,0%. *L. theobromae* and *Rhizopus* sp. have occurred with higher frequency in fruits or in seeds. Among of the tested methods to the fungi detection in fruits the skin in the Petri dishes method, was the most efficient, followed by the manual agitation method. Was verified that *L. theobromae* is easily removed from the fruits surface by a simple act of to wash them. The results obtained from that work were: this fungus infects the fruit pulp, making its penetration thru the wounded tissues.

Key- words: *Manilkara zapota*, *M. achras*, fungi population, detection.

Introdução

O sapotizeiro (*Manilkara zapota* van Royen [= *Manilkara achras* Fors.] é uma frutífera nativa do Sul do México e da América Central, onde pode ser encontrado em abundância e é muito apreciado, sendo seus frutos considerados excelentes para consumo *in natura* por seu sabor exótico (Bandeira 2000; Lakshiminarayana, 1980; Lakshiminarayana & Subramanyan, 1996; Sundarajan & Rao, 1967). A planta pode ser encontrada por toda a América Tropical, no Caribe e na América do Sul, em áreas quentes da Flórida-EUA e, ainda, no Brasil, onde tem demonstrado excelente adaptação, inclusive, na Região Nordeste, a qual tem grande potencialidade para exploração de frutíferas, haja vista as condições edafoclimáticas ali existentes, propícias para a atividade (Costa, 1998; Simão, 1998)).

No Brasil, o sapotizeiro foi considerado espécie exótica durante muito tempo, limitando-se a algumas poucas regiões do país, tal como a Zona da Mata do Estado de Pernambuco, onde as condições climáticas são bastante favoráveis ao seu desenvolvimento e produção. No Estado do Ceará, quase toda a produção de sapoti concentra-se na Região Metropolitana de Fortaleza, proveniente, em sua maioria, de plantios domésticos antigos (Bandeira, 2000).

Há uma grande demanda pelos subprodutos do sapoti: o látex é utilizado na fabricação de goma de mascar, e a polpa pode ser consumida *in natura*, ou utilizada para a fabricação de geléias, xaropes, refrescos, sorvetes, cremes e musses (Moura et al., 1983; Costa, 1998). Entretanto, o desconhecimento de suas potencialidades, principalmente, e a falta de incentivo e de tecnologias para o processamento de seus frutos fazem o cultivo do sapotizeiro ainda muito reduzido, despertando pouco interesse da agroindústria nordestina.

Segundo Carvalho & Nogueira (1979), para o sucesso da comercialização dos frutos consumidos *in natura*, faz-se necessária a melhoria da qualidade de alguns aspectos visuais como forma, cor e tamanho. Para a indústria, além desses, são fatores indispensáveis a textura, o aroma, a cor e o valor nutritivo.

De acordo com Filgueiras (1981), a presença de agentes patogênicos nas sementes de diversas culturas afeta a germinação, a emergência de plântulas, o vigor e a produção da cultura e, além disso, pode se constituir em um risco para a disseminação de patógenos para cultivos posteriores e para novas áreas.

Comparado com outras frutíferas, como o cajueiro, a mangueira, o mamoeiro e a bananeira, trabalhos científicos sobre o sapotizeiro são escassos, principalmente em se tratando da patologia pós-colheita. Porquanto, este trabalho teve por objetivo subsidiar técnicos, produtores e pesquisadores interessados nessa promissora frutífera, ainda por ser inserida no agronegócio da fruticultura nordestina.

Material e Métodos

- Detecção e identificação da micoflora em frutos do sapotizeiro

Os frutos foram obtidos de plantas do Campo Experimental do Curu, em Paraipaba-CE, pertencente à Embrapa Agroindústria Tropical e conduzidos ao Laboratório de Fitopatologia, onde foram mantidos sob refrigeração a ± 10 °C até a realização dos testes, transcorridos dois dias.

A avaliação dos fungos presentes nos frutos foi realizada de forma qualitativa, ou seja, com base na presença das diferentes colônias fúngicas formadas. Para isso, foram empregados os seguintes métodos:

- Método da câmara úmida (CUm)

Frutos de sapoti, em diferentes estágios de maturação, foram acondicionados em bandejas de PVC de 60 x 30 x 8 cm, lavadas e desinfestadas com hipoclorito de sódio (1,5%). Por ocasião da incubação dos frutos, adicionaram-se a essas bandejas dois copos plásticos contendo chumaços de algodão saturados com 20 ml de água destilada esterilizada. Dez frutos em processo de amadurecimento, sendo cinco previamente lavados durante 30 segundos em água corrente e cinco não lavados, distribuídos, em dois grupos de cinco frutos, eqüidistantes sobre duas bandejas, as quais foram acondicionadas em sacos plásticos transparentes, de modo a elevar a temperatura e a saturação do ar interno com água. Esse material foi incubado em estantes de crescimento por um período de dez dias à temperatura ambiente, cerca de ± 28 °C. Ao final desse período, efetuou-se a repicagem dos crescimentos fúngicos à superfície dos frutos para placas de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA) mais penicilina - Benzetacil - 1200000 U- (B), na proporção de 0,1%.

- Método da lavagem com agitação manual (LAM)

Foram utilizados 10 frutos em estado de pré-maturação, cinco dos quais foram lavados em água corrente por cerca de 30 segundos e postos a secar por dois minutos, constituindo, desse modo, o tratamento “frutos lavados”. Outros cinco constituíram o tratamento “frutos não lavados”. Em seguida, sob condições assépticas, os frutos dos dois tratamentos foram, um por vez, depositados em um frasco plástico esterilizado, com capacidade para 300 ml, no qual havia 200 ml de água destilada e esterilizada. O frasco contendo o fruto na água esterilizada foi vedado com tampa apropriada e, em seguida, foi agitado manualmente por um minuto. À medida que um fruto era agitado e depois retirado do frasco, outro fruto era mergulhado na mesma suspensão e, também, agitado, até que se completasse o grupo de “frutos lavados” e o grupo de “não lavados”. A suspensão obtida de cada grupo de frutos foi, então, filtrada em gaze dupla esterilizada para frascos Erlenmeyers de 250 ml, obtendo-se 200ml de suspensão por cada um dos referidos tratamentos. Em seguida, as suspensões obtidas de cada tratamento foram transferidas, separadamente, na proporção de 100ml para dois outros frascos. Para um dos dois frascos de cada tratamento adicionou-se o espalhante adesivo PBS-Tween® na proporção de 0,05ml, obtendo-se, assim, dois tratamentos, suspensão “com Tween®” e suspensão “sem Tween®”.

Obtidas as suspensões de cada tratamento, alíquotas de 10ml destas foram vertidas em placas de Petri contendo BDA + B e, em seguida, foram homogeneizadas na superfície do meio. Em seguida, as placas foram vedadas com parafilme e incubadas em câmara de crescimento à temperatura de 28 ± 2 °C por um período de oito dias. Após esse período, quando as colônias fúngicas eram distinguíveis por seu aspecto, cor e consistência, foram isoladas em placas de Petri contendo meio BDA.

- Método de plaqueamento da casca do fruto (PC)

Nesse ensaio, foram empregados frutos de sapoti de ambos os tratamentos (lavados e não lavados). Com auxílio de uma pinça e um bisturi devidamente flambado, foram retiradas porções da epiderme do fruto (casca), com cerca de 0,25 cm² e formato retangular, de dois pontos extremos. Essas porções de casca foram transferidas para placas de Petri contendo BDA + B, de modo que a parte externa da casca ficasse em contato direto com o meio de cultura. Em seguida, as placas foram vedadas com parafilme e postas em câmara de cresci-

mento, nas mesmas condições empregadas no método CUm. As observações e repicagem dos fungos desenvolvidos a partir da casca foram realizadas após cinco dias de incubação, como descrito para os métodos anteriores.

- Detecção de fungos associados às sementes do sapoteiro

Os testes foram realizados com sementes obtidas de frutos frescos, colhidos no Campo Experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, em Paraipaba-CE. As sementes foram retiradas dos frutos no Laboratório de Fitopatologia, imediatamente antes da lavagem para realização dos testes. Também, empregaram-se sementes armazenadas em geladeira à temperatura de ± 10 °C havia dois meses, obtidas da mesma fonte.

- Detecção durante a germinação

No teste foram empregados papéis do tipo germiteste, os quais foram, esterilizados e depositados em bandejas plásticas esterilizadas e, então, umedecidos com água destilada e esterilizada. Sobre esses papéis, distribuíram-se 130 sementes que, em seguida, foram cobertas com mais duas camadas do referido papel, também umedecidas. As bandejas, com respectivas sementes, foram recobertas com sacos de polietileno transparente, internamente umedecidos com água destilada e esterilizada, os quais foram fechados hermeticamente, de modo a se obter uma câmara superúmida. As sementes preparadas dessa forma foram incubadas em câmara de crescimento, à temperatura de 28 ± 2 °C e fotoperíodo de 12h claro/12h escuro.

- Método do papel de filtro (blotter test)

Para este experimento, foram empregadas 200 sementes classificadas em dois lotes distintos: o primeiro, constituído de 100 sementes que haviam sido armazenadas por um período de dois meses em geladeira a cerca de 12 ± 1 °C; e o segundo, também constituído de 100 sementes, retiradas de frutos frescos.

As sementes de ambos os lotes foram lavadas com detergente neutro e água corrente, de torneira, enxaguadas com água destilada e postas para secar por cerca de 48 horas em ambiente de laboratório à temperatura de 28 ± 2 °C.

Em caixas de germinação tipo Gerbox esterilizadas, depositaram-se três camadas de papéis-de-filtro esterilizados e previamente umedecidos com água destilada e

esterilizada. As sementes foram distribuídas nas caixas na proporção de 50 unidades por tratamento, os quais se constituíram de: 1- sementes frescas com tegumento; 2- sementes frescas sem tegumento; 3- sementes armazenadas com tegumento e; 4- sementes armazenadas sem tegumento. As unidades experimentais foram constituídas pelas caixas tipo Gerbox, contendo 10 sementes cada uma, com os tratamentos repetidos por cinco vezes. As caixas com as sementes foram incubadas em ambiente de laboratório, à temperatura de 28 °C e fotoperíodo 12 h claro/12 h escuro, por um período de oito dias.

Após a incubação, foram contados e identificados os fungos presentes nas amostras em cada tratamento. Para alguns fungos, a identificação exigiu o isolamento em BDA + B para obtenção de culturas puras.

Resultados e Discussão

- Levantamento de fungos associados a frutos do sapotizeiro

Os resultados da detecção dos fungos associados aos frutos do sapotizeiro após a colheita, por meio dos diferentes métodos testados, possibilitaram a identificação dos seguintes microrganismos: *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp, *Pestalotiopsis* sp., *Trichoderma* sp., *Mucor* sp., e *Lasiodiplodia theobromae*.

A maioria dos fungos detectados pelos diferentes métodos empregados neste trabalho é considerada potencial agente de doença, pois são causadores de perdas pós-colheita de frutos de outras espécies botânicas. É fato conhecido que os fungos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.e *Pestalotiopsis* sp., principalmente, são patógenos pós-colheita de diversas frutas tropicais, como a banana, o mamão, a uva, o pseudofruto do caju e a laranja.

Ribeiro & Bolkan (1981) identificaram *Mucor* sp. induzindo sintomas de podridão em tomate. Também, é comum encontrar-se esse fungo em pimentões expostos em supermercados. *L. theobromae*, por sua vez, tem sido encontrado causando doenças em pré e pós-colheita em diversas frutas tropicais na Região Nordeste e, recentemente, esse fungo foi detectado na Europa, em cocos-verdes exportados a partir do Estado do Ceará, causando uma doença pós-colheita, a podridão-basal (Viana et al., 2001).

Os fungos comuns aos três métodos de detecção testados foram *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Pestalotiopsis* sp. e *Mucor* sp. O fungo *Trichoderma* sp. foi detectado pelos métodos PC e pelo método LAM (Tabelas 1 e 2), enquanto *L. theobromae* foi revelado pelos métodos PC e CUM (Tabelas 2 e 3).

Tabela 1. Detecção de fungos associados a frutos do sapotizeiro pelo método da lavagem da superfície com agitação manual (LAM). Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2001.

Fungo	FL	FLT	FNL	FNLT
<i>Aspergillus</i> spp.	+	-	+	-
<i>Penicillium</i> spp.	+	-	+	-
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	-	-	+	+
<i>Trichoderma</i> sp.	+	-	+	+
<i>Mucor</i> spp.	+	-	+	-

FL - Frutos lavados; FLT - Frutos lavados + Tween-80; FNL - Frutos não lavados; FNLT - Frutos não lavados + Tween-80; (+) Presença de colônias; (-) Ausência de colônias.

Tabela 2. Detecção de fungos associados ao fruto do sapotizeiro pelo método de plaqueamento da casca. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2001.

Fungo	FL	FNL
<i>Aspergillus</i> spp.	+	+
<i>Penicillium</i> spp.	+	+
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	+	+
<i>Trichoderma</i> sp.	-	+
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	-	+
<i>Mucor</i> spp.	+	+

FL - Frutos lavados; FNL - Frutos não lavados; (+) Presença da colônia; (-) Ausência da colônia.

Tabela 3. Detecção de fungos associados a frutos do sapotizeiro pelo método de câmara úmida. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2001.

Fungo	FL	FNL
<i>Aspergillus</i> spp.	+	+
<i>Penicillium</i> sp.	+	+
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	+	+
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	-	+
<i>Mucor</i> spp.	+	+

FL - Frutos lavados; FNL - Frutos não lavados; (+) Presença da colônia; (-) Ausência da colônia.

A partir dos resultados dos testes com frutos, verificou-se que um pequeno número de gêneros fúngicos está presente no fruto do sapotizeiro, o que não reduz o risco potencial de prejuízos, pois o ataque de fungos é, provavelmente, a principal causa de perdas de frutos em pós-colheita, principalmente pela redução na qualidade dos mesmos. Tais perdas são importantes tanto do ponto de vista econômico como nutricional, constituindo um problema que a agricultura não conseguiu resolver ainda (Chitarra & Chitarra, 1990).

Pelos resultados obtidos com o método LAM, apresentados na Tabela 1, verificou-se que, quando foram empregados frutos “não lavados”, uma maior diversidade de fungos foi detectada. Provavelmente, o emprego de frutos “não lavados” possibilitou a permanência daqueles microrganismos aderidos à superfície, o que fez esse método mais eficiente para a detecção dos fungos associados à casca. Resultado semelhante foi obtido por Ribeiro & Bolkan (1981), em relação a *Mucor* sp. e *Pestalotia* sp. aderidos à superfície de banana, empregando método semelhante.

Nos tratamentos em que se adicionou o espalhante-adesivo Tween®, detectou-se menor variedade do microrganismo. Os fungos *Aspergillus* spp., *Penicilium* spp., e *Mucor* sp., por exemplo, não foram recuperados em presença desse aditivo agrícola, o que sugere um efeito inibidor do produto sobre esses fungos. Entretanto, *Trichoderma* sp. e *Pestalotiopsis* sp. foram recuperados em presença de Tween®, nos frutos não lavados, tanto pelo método LAM como pelo método PC, demonstrando não serem afetados pelo aditivo.

No emprego do método PC observou-se a recuperação de cinco daqueles gêneros detectados pelo método da lavagem com agitação manual. Porém, *Lasiodiplodia theobromae* somente foi detectada em cascas de frutos “não lavados”. Como esse fungo tem sido encontrado como agente de podridão em polpa de frutos maduros, esperava-se encontrá-lo mesmo em frutos lavados. Dessa forma, acredita-se que o mesmo deva penetrar a polpa por meio de ferimentos na casca, seja ocasionado por inseto, abrasão de folhas, frutos ou ramos movimentados pelos ventos, durante os tratamentos da cultura ou na colheita e somente após o início da maturação, em decorrência dos fenóis presentes em maior teor nos frutos ainda imaturos. Esse fungo também foi detectado pelo método CUm, porém, somente em frutos não lavados. O fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae* já foi detectado causando podridões em uva, goiaba, laranja, banana (Tavares & Amorim, 1995), mamão, manga (Pizzinato et al., 1983) e diversas outras frutíferas tropicais na Região Nordeste (Viana et al., 2000; Viana et al., 2001).

Trichoderma sp., detectado pelos métodos LAM e PC, não foi revelado pelo método CUm. Embora seja considerado um excelente agente de controle de outros fungos, fitopatógenos habitantes do solo (Mota, 2000), esse gênero tem baixa capacidade competitiva, o que torna viável a hipótese de que o método CUm tenha favorecido o rápido crescimento de fungos saprófitos que, por sua vez, impediram o desenvolvimento do *Trichoderma* sp. detectados nos outros dois métodos já discutidos.

Em todos os métodos testados verificou-se reduzida variedade de fungos, o que confirma a assertiva de Bandeira (2000), o qual considera o sapotizeiro resistente a patógenos. Benato (1999) relaciona a resistência apresentada pelos frutos de sapotizeiro à produção de compostos fenólicos e taninos, bem como a ação de fitoalexinas.

Os índices de ocorrência dos fungos nos frutos em cada método encontra-se representado pela Fig. 1, onde se pode verificar que o melhor método de detecção de fungos em frutos foi a Lavagem com Agitação Manual (LAM), que alcançou índice de detecção de 36,66%, seguido do Plaqueamento da Casca (PC), com 33,33%.

- Levantamento de Fungos Associados às Sementes do Sapotizeiro

O levantamento da microflora fúngica associada às sementes de sapoti permitiu a

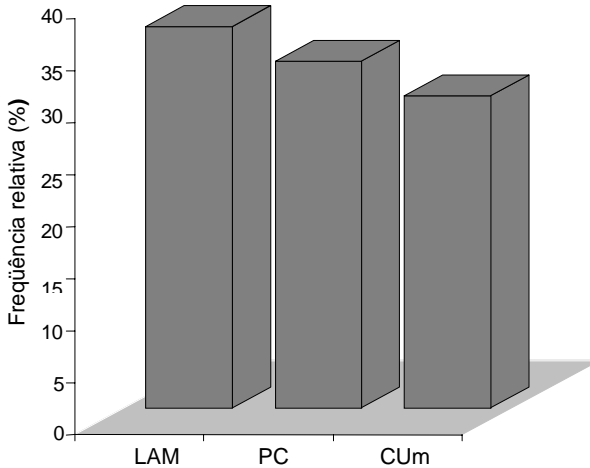


Fig. 1. Frequência relativa dos fungos de diferentes gêneros detectados por meio de câmara úmida (Cum), lavagem com agitação manual (LAM) e plaqueamento da casca (PC). Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2001.

identificação de nove diferentes gêneros. Dentre estes, o gênero *Aspergillus* foi o mais freqüente, atingido índice de 16,0%, seguido de *Penicillium*, com 8%; *Pestalotiopsis* e *Cladosporium*, com 7,5% cada um.

- Levantamento de Fungos Associados às Sementes do Sapotizeiro

O levantamento da microflora fúngica associada às sementes de sapoti permitiu a identificação de nove diferentes gêneros. Dentre estes, o gênero *Aspergillus* foi o mais freqüente, atingido índice de 16,0%, seguido de *Penicillium*, com 8%; *Pestalotiopsis* e *Cladosporium*, com 7,5% cada um.

As informações sobre a qualidade das sementes de sapoti na literatura especializada são escassas, entretanto, verificou-se que os fungos detectados neste trabalho já foram relatados em diversos trabalhos como patogênicos a outras culturas como é o caso das espécies *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium* sp. e *Alternaria* sp., cujas frequências foram de 3,5% , 3,5% e 5,0%, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Frequência geral dos fungos detectados em sementes de sapotizeiro pelo “blotter test”. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2001.

Fungo	Frequência (%)*
<i>Aspergillus</i> spp.	16,0
<i>Penicillium</i> spp.	8,0
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	7,5
<i>Trichoderma</i> sp.	2,5
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	3,5
<i>Alternaria</i> sp.	5,0
<i>Cladosporium</i> sp.	7,5
<i>Rhizopus</i> sp.	1,0
<i>Fusarium</i> sp.	3,5

* Frequência obtida considerando a soma total das colônias nas diferentes bandejas.

Aspergillus spp. e *Penicillium* spp., que ocorreram com elevada frequência, e *Rhizopus* sp., com baixa frequência, embora não sejam primariamente patógenos de sementes, podem comprometer a qualidade das mesmas, sobretudo sob condições inadequadas de armazenamento, como em locais quentes e com elevado teor de umidade. Como nos frutos, em sementes, também foi registrada a presença do fungo antagonico *Trichoderma* sp.

A comparação entre os diferentes métodos de detecção de fungos associados a sementes frescas e armazenadas de sapoti (Tabela 5) revelou que, com sementes armazenadas as frequências foram maiores para quase todos os gêneros detectados em relação às sementes frescas, dentre as quais a presença do tegumento foi importante para a detecção dos fungos. Índices bem inferiores foram verificados nas sementes sem tegumento, cujos percentuais foram de 4,0% e 28,0% para sementes frescas e armazenadas, respectivamente. Esses dados indicam que a maior parte dos fungos da semente do sapoti estão superficialmente associados às mesmas.

Tabela 5. Frequência relativa¹ (%) de fungos associados a sementes de sapotizeiro manipuladas de diferentes formas. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2001.

Fungos	Sementes armazenadas		Sementes frescas	
	T ₀	T ₁	T ₀	T ₁
<i>Aspergillus</i> spp.	4,0	36,0	4,0	20,0
<i>Penicillium</i> sp.	8,0	12,0	-	12,0
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	-	12,0	-	18,0
<i>Trichoderma</i> sp	-	2,0	-	8,0.
<i>L. theobromae</i>	12,0	2,0	-	-
<i>Alternaria</i> sp.	4,0	6,0	-	10,0
<i>Cladosporium</i> sp.	-	18,0	-	12,0
<i>Rhizopus</i> sp.	-	-	-	8,0
<i>Fusarium</i> sp.	-	12,0	-	2,0
Total	28,0	100,0	4,0	86,0

¹ Frequência dos isolados, calculada em relação a 50 sementes por tratamento; T₀- sem tegumento; T₁- com tegumento.

Dentre os fungos detectados, o gênero *Aspergillus* foi o único isolado em todos os tratamentos, sendo-o com maior frequência, em sementes armazenadas e semeadas com o tegumento (36,0%). Por outro lado, a detecção desse fungo em sementes frescas e semeadas sem tegumento foi muito baixa, podendo ser atribuída a contaminações durante a manipulação dessas sementes para a retirada dos tegumentos. É possível que tal resultado se deva a infestações superficiais posterior, dada a distribuição desse gênero no ambiente. Esse mesmo raciocínio pode ser empregado em relação a *Penicillium*, gênero comum em uma ampla gama de ambiente.

L. theobromae por sua vez, teve sua maior incidência registrada em sementes sem tegumento (12,0%), confirmando a transmissão interna do patógeno por esse órgão da planta. Entretanto, não se detectou esse fungo quando as sementes eram frescas, com ou sem tegumento. Nesse caso, é possível que o patógeno, se presente, tenha permanecido em repouso em razão de uma aquiescência endógena.

Fusarium sp., outro importante patógeno de sementes de diferentes culturas, foi recuperado apenas em sementes armazenadas com tegumento. *Trichoderma* sp., assim como nos frutos, foi detectado nas sementes, mas apenas nas sementes com tegumento. Esse fungo, como já mencionado, é um importante antagonista de fungos de solo não sendo conhecida ação patogênica em sementes e frutos de sapoti.

Na Fig. 2, pode-se observar a freqüência relativa desses fungos em relação ao total de colônias (109) detectadas por meio do "blotter test".

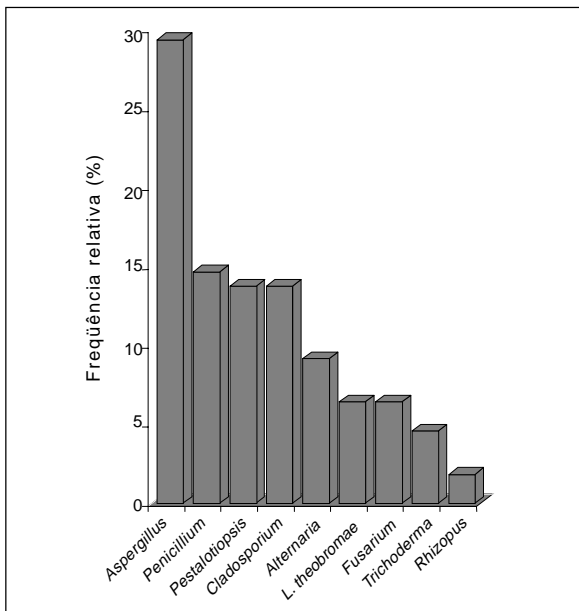


Fig. 2. Frequência relativa dos diferentes gêneros de fungos detectados em sementes.

Verificou-se ainda que os frutos do sapotizeiro têm um menor grau de associação com fungos do que suas sementes, possivelmente em razão da presença de compostos fenólicos naqueles. De um modo geral, pode-se dizer que a população fúngica do fruto do sapotizeiro é bastante reduzida em relação a muitas frutas, o que confirma a informação de que o sapotizeiro é uma planta rústica, resistente a maioria das doenças fúngicas que atacam outras frutíferas tropicais.

Conclusões

Em relação aos testes realizados neste trabalho pode-se dizer que:

1. O método que possibilitou a recuperação de maior diversidade de fungos em frutos foi o plaqueamento da casca (PC).
2. A “não lavagem” permitiu identificar fungos potenciais patógenos dos frutos, mesmo quando estes eram fracamente associados àqueles.
3. O tegumento da semente do sapotizeiro abrigou maior número de espécies de fungos que o fruto.
4. Os gêneros de fungos mais comumente associados aos frutos e às sementes do sapotizeiro foram *Aspergillus*, *Penicillium* e *Pestalotiopsis*.

Referências Bibliográficas

BANDEIRA, C.T. **Produção de sapoti e sapota no litoral do Ceará**: uma nova opção para a fruticultura cearense. Fortaleza: Embrapa - Agroindústria Tropical, 2000. Folder.

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

CARVALHO, V.D. de; NOGUEIRA, D.I.P. Qualidade, maturação e colheita dos citros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.5 n.52 , p. 61-67, 1979.

COSTA, M.L. da. **Caracterização do fruto de sapotizeiro (*Manilkara zapota* (L.) Van Royen) durante o desenvolvimento e o armazenamento:** estudos preliminares. 1998. 17f. Monografia (Bacharelado). Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Rio Grande do Norte.

CHITARRA M.E.F.; CHITARRA, A.B. **Pós colheita de frutos e hortaliças:** fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320p.

FILGUEIRAS, T. S. Seed vigor and productivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.16, p.851-854, 1981.

LAKSHMINARAYANA, S. Sapodilla and Prickly Pear: **Tropical and Subtropical fruits:** Composition, properties and uses. Westport: AVI, 1980. p 415-441.

LAKSHMINARAYANA, S.; SUBRAMANYAN, H. Physical, chemical and physiological changes in sapota fruit (*Achras zapota* (Linn) sapotaceae) during development and ripening. **Journal of Food Science & Technology**, Valencia, v.3 p.151-154, 1996.

MOTA, J.C.O. **Efeito de extratos e óleos vegetais no controle de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maulb "in vitro" e associados às sementes de gravioleira (*Annona muricata* L.).** 2000. 96f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará.

MOURA, R. J. M. de; SILVA, M. A .; CAVALCANTE, A .T. Comportamento de matrizes de sapotizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.5 p.103-112, 1983.

PIZZINATO, M. A.; SOAVE, J.; CIA, E. Patogenicidade de *Botryodiplodia theobromae* Pat. a plantas de diferentes idades e maçãs de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.8, n.2, p.223-228, jun., 1983.

RIBEIRO, W.R.C. ; BOLKAN, H.A. Microflora de frutos de banana (*Musa* sp.) comercializados no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, p.445-450, 1981.

SIMÃO, S. **Tratado de Fruticultura**. São Paulo: Agronômica CERES.1998.760p.

SUNDARAJAN, S.; RAO, V.N.M. Studies on fruit development and fruit quality in some varieties of sapota (*Achras sapota* (L.)). **South Indian Horticulture**, Coimbatore, v.5 p.52-57, 1967.

TAVARES, S. C. C. de H.; AMORIM, L. R. Levantamento de *Botryodiplodia theobromae* em áreas irrigadas do trópico semi-árido brasileiro. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v.20, suplemento, p.326, 1995.

VIANA, F.M.P.; SANTOS, A.A.; ATHAYDE SOBRINHO, C.; FREIRE, F.C.O.; CARDOSO, J.E. Podridão preta: uma nova doença causada por *Lasiodiplodia theobromae* na Região Nordeste. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.25, n.3, p.671, 2000.

VIANA, F.M.P.; FREIRE, F.C.O.; BRAGUIL, B.M.; ALVES, R.E.; VIDAL, J.C. **Podridão basal pós-colheita do coco anão verde no Estado do Ceará**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. 4p. (Embrapa Agroindústria Tropical, Comunicado Técnico, 28).

Embrapa

Agroindústria Tropical

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

