



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013  
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

**EFEITO DA TEMPERATURA NO DESENVOLVIMENTO DE FUNGOS CAUSADORES DE  
DOENÇAS PÓS-COLHEITA EM LARANJA.**

Adriane Maria da **Silva**<sup>1</sup>; Daniel **Terao**<sup>2</sup>; Tamiris Lima dos **Santos**<sup>3</sup>; Eliane Aparecida **Benato**<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Faculdade de Engenharia Ambiental – FAJ (drsilva66@gmail.com); <sup>2</sup>Embrapa Meio Ambiente/Semiárido; <sup>3</sup>Faculdade de Engenharia de Alimentos – FAJ; <sup>4</sup>Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL

**Nº 13411**

**RESUMO:** *O mercado consumidor está exigindo alimentos sem a presença de resíduos de agrotóxicos, mas a incerteza quanto à sanidade das frutas tem levado os produtores a utilizar agrotóxicos, no tratamento pós-colheita de forma indiscriminada e excessiva, provocando a contaminação química da fruta e colocando em risco a saúde da população. Assim, o presente trabalho teve como objetivo determinar os binômios de tempos e temperaturas letais ao fungo *Penicillium digitatum*, agente causal do bolor verde, a fim de subsidiar a pesquisa sobre o uso do tratamento térmico, visando disponibilizar uma tecnologia limpa no tratamento pós-colheita de laranja que não deixe resíduos tóxicos. Discos de micélio foram colocados em bolsas de gaze estéril e, após fechados, dispostos no interior de um balão de três bocas, com água à temperatura desejada, com termômetro e um agitador. Após o tempo de tratamento os discos de micélios foram transferidos para água a 20 °C e plaqueados em meio BDA, em seguida incubados em BOD (com temperatura de 25 °C e com luz intermitente 12/12h) para avaliação diária do crescimento micelial do fungo. O fungo *P. digitatum* apresenta elevada termo resistência, mostrando-se como letais os seguintes 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. Observou-se que temperaturas mais elevadas em curtos períodos de tempos apresentaram um controle eficaz do fungo, in vitro.*

**Palavras-chaves:** *Penicillium digitatum*, tratamento hidrotérmico, citros.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013  
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

**ABSTRACT:** *The consumer market is demanding food without the presence of pesticide residues, but the uncertainty about the health of the fruit has led farmers to use pesticides in the post-harvest treatment in indiscriminate and excessive way, causing chemical contamination of fruit and placing endanger the health of the population. Thus, the present study aimed to determine the binomial of times and temperatures lethal *Penicillium digitatum*, the causal agent of green mold in order to subsidize the research on the HWRB – hot-water rinse and brushes to provide a sustainable technology in post-harvest treatment of orange that does not leave toxic residues. Mycelial discs were placed in sterile cheesecloth bags, and after closed, were arranged inside a flask with water at a desired temperature with a thermometer and a beater. After heat treatment the mycelial discs were placed into water at 20 °C and plated on Petri dishes with PDA medium, following incubation in BOD at (25 °C with intermittent light 12/12h) and evaluated daily. The fungus *P. digitatum* has high thermo resistance showing the following binomials as lethal: 50°C/480s; 52 °C/160s; 54 °C/90s; 56 °C/60s; 58 °C/40s; 60 °C/15s and 62 °C/10s. It was observed that higher temperatures during short periods of time showed to be efficient to control the growing of *P. digitatum*, demonstrating that the use of HWRB in a short period of time is a potential alternative method to control the green mold on citrus.*

**Key-words:** *Penicillium digitatum, hydrothermal treatment, citrus.*

## 1. INTRODUÇÃO

A citricultura é um setor altamente organizado e competitivo e uma das mais destacadas agroindústrias brasileiras. O Brasil é responsável por 60% da produção mundial de suco de laranja e também o campeão de exportação do produto. (CITRUS MAPA, 2012)

Os frutos cítricos, em sua maioria, são colhidos manualmente e transportados para o galpão de embalagem, onde são lavados com sanitizantes e fungicidas para proteger contra infecções antes da embalagem. Após o tratamento com etileno para desverdecimento, os frutos são lavados, selecionados por tamanho, maturação aparente e presença de ferimentos na casca, sendo, em seguida, tratados novamente com fungicidas, isoladamente ou em mistura com cera (OLIVEIRA, 2006).

Há muitas perdas dessas frutas devidas principalmente à deficiência no transporte e armazenamento refrigerado dos produtos, manipulação inadequada e tratamentos fitossanitários



## VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013 13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

ineficientes, ocorrendo perdas quantitativas e qualitativas, depreciando as frutas brasileiras nas negociações internacionais (Ventura, 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 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 por *Penicillium digitatum*, é a principal doença em pós-colheita de frutos cítricos em todo o mundo. O primeiro sintoma incitado por *P. digitatum* que se observa é uma lesão com cerca de dois centímetros de diâmetro e que logo fica coberta por uma massa de esporos de coloração verde-oliva, 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, 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 dessas doenças pode ser atribuída à elevada produção de esporos na superfície dos frutos, sendo muito abundantes nos galpões de embalagem, principalmente nos locais de recepção dos frutos. É por essa razão que se recomenda o isolamento deste local em relação às etapas seguintes de beneficiamento (Laranjeira et al., 2005).

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).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da temperatura no desenvolvimento de *P. digitatum* e definir os binômios de temperatura e tempos letais a esse fungo, para subsidiar os trabalhos sobre o controle físico de doenças pós-colheita de citros usando o tratamento térmico.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Discos de micélio foram retirados da borda das colônias fúngicas em crescimento ativo e colocados em bolsas de gaze estéril. Em um balão de três bocas de 500 ml, foram colocados aproximadamente 200 ml de água destilada estéril, inserindo-se em uma das bocas um termômetro digital, em outra o agitador (Modelo: RW 20 DS32) ajustado para 350 rpm e na terceira introduziu-se a bolsa de gaze estéril contendo os discos de micélio. Para o procedimento foram utilizados diferentes combinações de tempo e temperatura: 50 °C (270, 300, 330, 360, 390, 480, 600, 720s); 52 °C (100, 120, 140, 160, 180, 200s); 54 °C (60, 70, 80, 90, 100, 120, 140s); 56 °C (20, 30, 40, 50, 60, 80, 100s); 58 °C (10, 20, 30, 40s); 60 °C (5, 10, 15, 20s); 62 °C (5, 10, 15, 20s).

Imediatamente após o tempo de tratamento, os discos de micélio foram colocados à água 20°C para cessar o efeito do tratamento térmico. Em seguida foram plaqueados em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), e incubados em BOD (com temperatura de 25 °C e com luz intermitente 12/12h) para avaliação diária do crescimento micelial pela medição do diâmetro da colônia em dois sentidos ortogonais, durante 12 dias. As medições foram realizadas com o auxílio de um paquímetro digital.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo *P. digitatum* apresentou elevada termoresistência, com letalidade nas combinações: 50 °C/420s; 52°C/160s; 54 °C/90s; 56 °C/60s; 58 °C/40s; 60 °C/15s ou 62 °C/10s, demonstrando que as temperaturas de 50 a 58 °C são letais ao fungo apenas nos binômios com tempos longos de exposição.

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Conway *et al.* (1999) em maçãs cv. Gala, pré-inoculadas com *Penicillium expansum* onde se constatou um decréscimo no tamanho da lesão à medida que aumentava a duração do tratamento térmico. Resultado semelhante foi obtido por Lunardi *et al.* (2002), trabalhando com maçãs cv. Fuji com o mesmo fitopatógeno, quando verificaram que o aumento da temperatura reduziu a infecção causada por *P.expansum*. Observou-se que temperaturas mais elevadas, em curto período de tempo, foram eficazes no controle do fungo: 60 °C/15s e 62 °C/10s (Figura 1), como descrito por Lurie *et al.*(1998) muitos frutos toleram temperaturas altas entre 50 a 60 °C e exposições por tempos menores que 10 segundos sem causar danos aos frutos.

Provavelmente, a baixa eficiência do tratamento hidrotérmico atualmente utilizado no tratamento pós-colheita de citros, no controle do bolor verde, se deva ao uso de um binômio que



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013  
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

não seja letal ao fungo. Conforme observado em frutas mandora (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*), onde a combinação com maior temperatura e tempo de exposição reduziu a incidência de bolor verde (temperaturas de 56, 59, 62 e 65 °C por 1, 2 e 3 minutos) (KYRIACOU, 2011).

Aplicou-se um modelo matemático baseado em parâmetros cinético capaz de analisar a variação de temperatura necessária para redução, ou inibição do crescimento do microrganismo em um ciclo logarítmico.

Através dos resultados obtidos elaborou-se o gráfico de Log F (log tempo) x temperatura (Figura 2), que fornece a variação de temperatura necessária para degradação de um ciclo logarítmico da população inicial, possibilitando definir diversos binômios de tempo e temperatura letais ao fungo.

### *Penicillium digitatum*

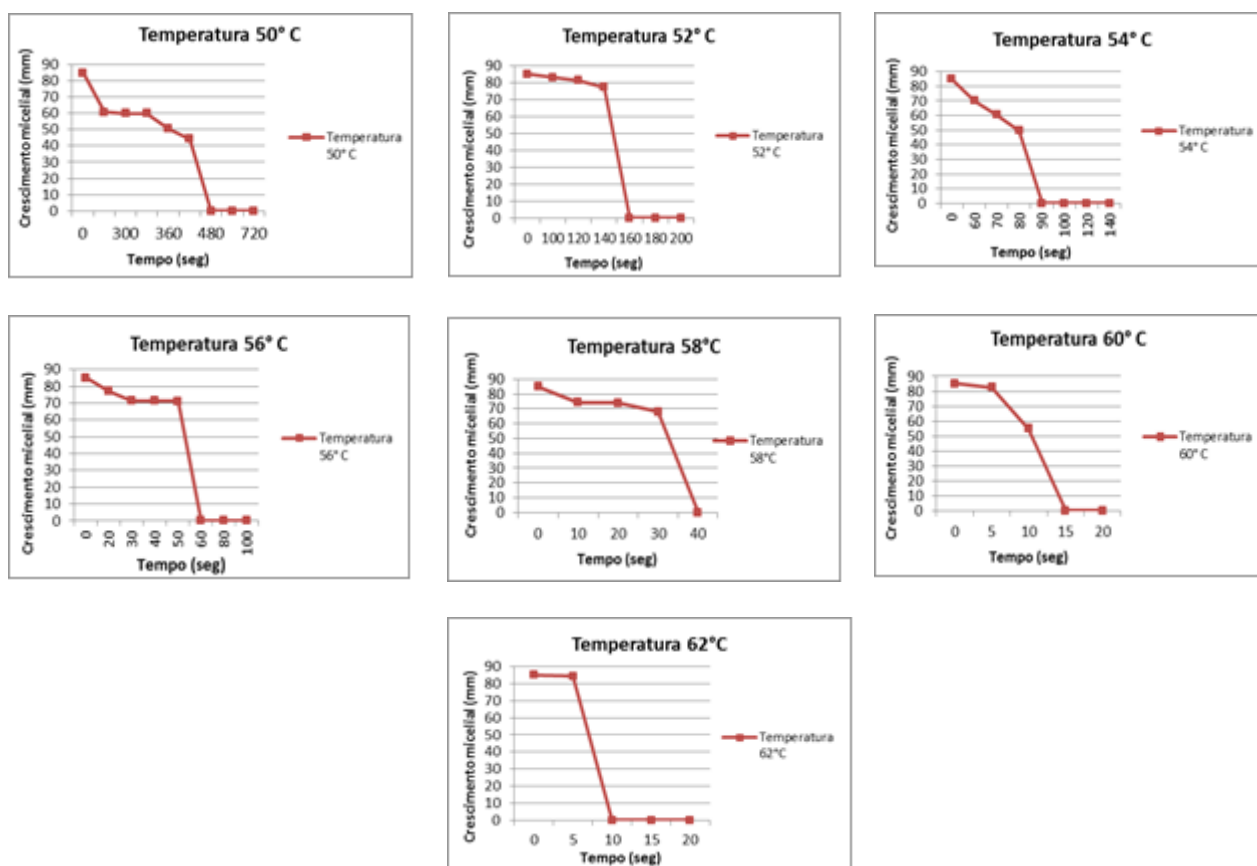
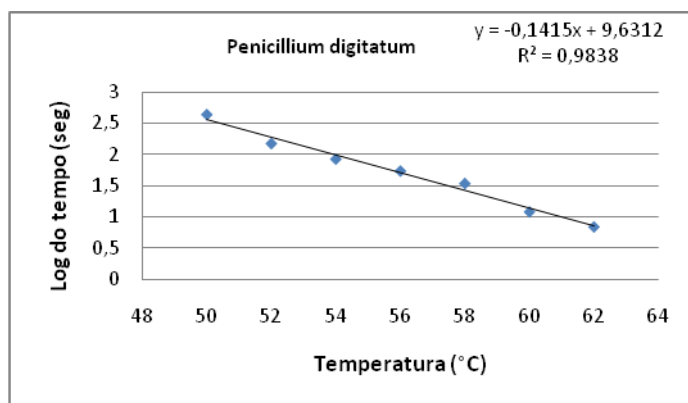


Figura 1. Efeito da combinação de temperaturas com diferentes tempos de exposição no crescimento micelial de *Penicillium digitatum*.



VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013  
13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo



**Figura 2.** Gráfico de letalidade para o fungo *Penicillium digitatum* de combinações de Log do tempo (s) com temperaturas.

#### 4. CONCLUSÃO

Os binômios de temperatura e tempo letais à *P. digitatum* observados foram: 50°C/480s; 52°C/160s; 54°C/90s; 56°C/60s; 58°C/40s; 60°C/15s e 62°C/10s. As combinações de temperaturas mais elevadas por curto período de tempo mostraram-se eficientes no controle do fungo.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP: 2011/23432-8) pelo apoio financeiro para execução do Projeto de Pesquisa e pela concessão da bolsa de treinamento técnico (FAPESP: 2012/19557-2)

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

CITRUS MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA). Estatísticas. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus> > Acesso em: 17/06/2013.

CONWAY, W.S.; JANISIEWICZ, W.J.; KLEIN, J.D.; SAMS, C.E. **Strategy for combining heat treatment, calcium infiltration, and biological control to reduce postharvest decay of 'Gala' apples**. HortScience, Alexandria, v.34, p.700-704, 1999.

KYRIACOU, M. C. Influence of a post-harvest hot water treatment on the development of green mould [*Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc.] and on the quality of 'Mandora' fruit [*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus*



## VII Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2013

13 a 15 de agosto de 2013 – Campinas, São Paulo

*sinensis* (L.) Osbeck]. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 86, n. 4, p. 359-365, 2011.

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 Agrônômico de Campinas e Fundag. 2005. Instituto Agrônômico de Campinas e Fundag. 2005.

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. 1998.

LUNARDI, R.; SANHUEZA, R. M. V.; BENDER, R. **Imersão em água quente no controle pós-colheita da podridão branca em maçãs cv. Fuji**. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v.28, n.4, p.431-434, 2002.

LURIE, S.; FALLIK, E.; KLEIN, J.D. **Postharvest heat treatment of apples to control San Jose scale** (*Quadraspidiotus perniciosus* Comstock) and blue mold (*Penicillium expansum* Link) and maintain fruit firmness. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.123, p.110-114, 1998.

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

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.