UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL

VINÍCIUS ADÃO BARTNICKI

UTILIZAÇÃO DE TRATAMENTOS FÍSICOS PARA O CONTROLE PÓS-COLHEITA DE *Cryptosporiopsis perennans* EM MAÇÃS

LAGES – SC
2010

VINÍCIUS ADÃO BARTNICKI

UTILIZAÇÃO DE TRATAMENTOS FÍSICOS PARA O CONTROLE PÓS-COLHEITA DE *Cryptosporiopsis perennans* EM MAÇÃS

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Ph.D. Cassandro Vidal Talamini do Amarante
Coorientadores: Dra. Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza
Dr. Cristiano André Steffens

LAGES – SC

2010

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14ª Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

Bartnicki, Vinícius Adão.
Utilização de tratamentos físicos para o controle pós-colheita de *Cryptosporiopsis perennans* em maçãs / Vinícius Adão Bartnicki; orientador: Ph.D. Cassandro Vidal Talamini do Amarante. – Lages, 2010.
49f.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Departamento de Agronomia, Lages, 2010. / Vinícius Adão Bartnicki – Lages, 2010.

1. Maçã. 2. Maçã – Doenças e pragas. 3. Fungos – Controle. 4. Fungos – *Cryptosporiopsis perennans*. I. Amarante, Cassandro V. T. II. Título.

CDD – 634.11

VINÍCIUS ADÃO BARTNICKI

UTILIZAÇÃO DE TRATAMENTOS FÍSICOS PARA O CONTROLE PÓS-COLHEITA DE *Cryptosporiopsis perennans* EM MAÇÃS

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Banca Examinadora:

_____
Prof. Ph.D. Cassandro Vidal Talamini do Amarante – UDESC/Lages – SC

_____
Dra. Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza
PROTERRA / Vacaria – RS

_____
Prof. Dr. Cristiano André Steffens
UDESC/Lages – SC

_____
Dra. Andréia Hansen Oster
Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza – CE

Homologado por:

_____
Prof. Dr. Luciano Colpo Gatiboni
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias

_____
Prof. Dr. Léo Rufato
Coordenador Técnico do Curso de Mestrado em Produção Vegetal

_____
Prof. Dr. Cleimon E. do Amaral Dias
Diretor Geral do Centro de Ciências Agroveterinárias

Lages – SC, 28/05/2010

Aos meus amados pais
Maria e Luiz e a minha
namorada *Rafaela*.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar o meu caminho.

À Pesquisadora Rosa Maria Valdebenito-Sanhueza e ao professor Cassandro Vidal Talamini do Amarante, pela orientação e confiança.

Ao professor Cristiano André Steffens, por sua contribuição neste trabalho.

Ao CAV/UDESC, pela oportunidade de realização do mestrado.

Aos professores do mestrado em Produção Vegetal pelos ensinamentos transmitidos.

Aos funcionários e estagiários da Estação Experimental de Fruticultura Temperada/Embrapa Uva e Vinho, da Proterra Engenharia Agronômica, da Empresa Rasip Agropastoril e da Embrapa Clima Temperado, pela amizade e ajuda na realização dos experimentos.

Ao projeto INOVAMAÇÃ, à Embrapa Uva e Vinho, à Proterra Engenharia Agronômica e à Empresa Rasip Agropastoril pelos recursos e infra-estrutura disponibilizados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de Bolsa de Mestrado.

Ao Grupo de Física das Radiações – TECNOPUC – PUCRS – em especial aos pesquisadores Mara Regina Rizzatti e João Antônio Vargas de Souza pela parceria.

À Embrapa Clima Temperado, em especial à Dra. Ângela Diniz Campos e ao pesquisador Luis Antônio Suíta de Castro pela colaboração.

Enfim, a todos os colegas e amigos que me incentivaram.

RESUMO

BARTNICKI, Vinícius Adão. **Utilização de tratamentos físicos para o controle pós-colheita de** *Cryptosporiopsis perennans* **em maçãs**. 2010. 49 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal – Área: Biologia e Tecnologia Pós-Colheita) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Lages, 2010.

O Brasil é um dos principais produtores mundiais de frutos, mas grande parte da produção é perdida devido à elevada incidência de podridões pós-colheita. O controle com fungicidas vem sofrendo restrições pelos consumidores e pelos países importadores de frutos. O benefício e a viabilidade do uso da aspersão do fruto com água aquecida e da radiação UV-C foi demonstrada no exterior e também no Brasil no controle de podridões em maçãs causadas por *Penicillium expansum* e *Botryosphaeria dothidea*. Este projeto visou determinar o efeito do tratamento térmico e/ou com radiação UV-C para o controle pós-colheita da podridão olho-de-boi em maçãs, causada por *Cryptosporiopsis perennans*, e avaliar equipamentos para a execução destes tratamentos. Em laboratório, foi avaliada a sensibilidade dos conídios do patógeno ao tratamento térmico nas temperaturas de 28, 45, 50 e 55ºC, por 15 e 30 segundos, e à radiação UV-C, nas doses de 0,018 x 10^4, 0,037 x 10^4, 0,075 x 10^4, 0,150 x 10^4, 0,375 x 10^4, 0,750 x 10^4, 1,500 x 10^4 e 3,000 x 10^4 ergs mm^{-2}. Ocorreu redução superior a 99% na viabilidade dos conídios de *C. perennans* tratados com temperatura igual ou superior a 50ºC por 15 segundos, e com radiação UV-C na dose igual ou superior a 0,75 x 10^4 ergs mm^{-2}. Posteriormente, foram avaliadas combinações de tempos de exposição ao tratamento térmico e à radiação UV-C em maçãs previamente inoculadas com *C. perennans* numa linha de seleção experimental. Neste caso, a aspersão de água aquecida, na temperatura de 50ºC por 15 segundos, e o tratamento com radiação UV-C, na dose de 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2}, mostraram-se eficientes no controle da população epífita de *C. perennans* em maçãs 'Gala', 'Fuji' e 'Pink Lady'. Por fim, avaliou-se o efeito dos tratamentos, aplicados numa linha de seleção comercial, na incidência da podridão olho-de-boi em maçãs inoculadas e com infecção natural, com diferentes períodos de armazenamento em condição de atmosfera controlada (AC). Em maçãs 'Fuji' armazenadas por um, quatro e oito meses em AC, e 'Gala' armazenada por cinco meses em AC, o uso da aspersão de água aquecida a 50ºC durante 12 segundos e/ou da radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2} reduziu em mais de 45% a incidência da podridão olho-de-boi. Assim, os tratamentos físicos testados reduzem as perdas pós-colheita ocasionadas pela podridão olho-de-boi em maçãs, proporcionando ao setor ganho em competitividade.

Palavras-chave: *Malus domestica*. Podridão olho-de-boi. Pós-colheita. Tratamento térmico. Radiação UV-C.

ABSTRACT

BARTNICKI, Vinícius Adão. **Use of physical treatments for postharvest control of** *Cryptosporiopsis perennans* **on apples**. 2010. 49 f. Dissertation (Masters in Plant Science – Area: Postharvest Biology and Technology) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Graduation Program in Agrarian Sciences, Lages, 2010.

Brazil is one of the main world producers of fruit, but much of the production is lost due to the high incidence of postharvest rots. The control with fungicides has been suffering restrictions by consumers and fruit importing countries. The benefits and viability of hot water spraying and UV-C radiation was shown in other countries and in Brazil to control rots caused by *Botryosphaeria dothidea* and *Penicillium expansum* on apples. This project aimed to assess the effect of heat treatment and/or UV-C radiation to control at postharvest bull's-eye rot caused by *Cryptosporiopsis perennans* on apples, and to evaluate equipments for the implementation of these treatments. In the laboratory, the sensitivity of conidia of the pathogen to heat treatment was evaluated at temperatures of 28, 45, 50 and 55ºC, for 15 and 30 seconds, and to UV-C radiation at doses of 0.018 x 10^4, 0.037 x 10^4, 0.075 x 10^4, 0.150 x 10^4, 0.375 x 10^4, 0.750 x 10^4, 1.500 x 10^4 and 3.000 x 10^4 ergs mm^{-2}. There was a reduction of more than 99% in the viability of conidia of *C. perennans* treated at or above 50°C for 15 seconds, and with UV-C radiation at doses ≥0.75 x 10^4 ergs mm^{-2}. The combinations between heat treatment exposure time and UV-C radiation were also evaluated on apples inoculated with *C. perennans* in an experimental packing line. In this case, the spraying of hot water at 50°C for 15 seconds, and the treatment with UV-C radiation at the dose of 0.375 x 10^4 ergs mm^{-2}, were effective in controlling the epiphytic population of *C. perennans* on 'Gala', 'Fuji' and 'Pink Lady' apples. Apples inoculated and naturally infected with the pathogen, after different periods of cold storage under controlled atmosphere (CA), were assessed for the effects of physical treatments to control bull's-eye rot in a commercial packing line. On 'Fuji' apples, stored for one, four and eight months under CA, and 'Gala', stored for five months under CA, the spraying of hot water at 50ºC for 12 seconds and/or treatment with UV-C radiation at 0.0069 x 10^4 ergs mm^{-2} reduced in more than 45% the incidence of bull's-eye rot. Therefore, the physical treatments tested reduced the postharvest losses on apples caused by bull's-eye rot, providing competitiveness gain to the industry.

Keywords: *Malus domestica*. Bull's-eye rot. Postharvest. Heat treatment. UV-C radiation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de unidades formadoras de colônias (UFC) obtidas a partir das suspensões de *Cryptosporiopsis perennans* submetidas a diferentes tratamentos com água aquecida, e controle (%) destes tratamentos em relação à testemunha.....16

Tabela 2 - Número de unidades formadoras de colônias (UFC) obtidas a partir das suspensões de *Cryptosporiopsis perennans* submetidas a diferentes doses de radiação UV-C, e controle (%) destas doses em relação à testemunha. Resultados obtidos em dois experimentos.....18

Tabela 3 - Unidades formadoras de colônias (UFC) de *Cryptosporiopsis perennans* e seu controle (% em relação à testemunha) na superfície de três cultivares de maçãs, com seis meses de armazenamento em condição de AC, inoculadas e submetidas a tratamentos com aspersão de água aquecida ou radiação UV-C na linha de seleção.....25

Tabela 4 - Incidência (%) e controle (%) da podridão olho-de-boi (POB) em maçãs 'Fuji', com um e oito meses de armazenamento em condição de AC, inoculadas, e submetidas aos tratamentos com aspersão de água aquecida e radiação UV-C na linha de seleção comercial.....34

Tabela 5 - Incidência (%) e controle (%) da podridão olho-de-boi (POB) em maçãs 'Fuji', com um, quatro e oito meses de armazenamento em condição de AC, com infecção natural, e submetidas aos tratamentos com aspersão de água aquecida e radiação UV-C na linha de seleção comercial.....35

Tabela 6 - Unidades formadoras de colônias (UFC) de *Cryptosporiopsis perennans* e seu controle (% em relação à testemunha), incidência (%) e controle (%) da podridão olho-de-boi (POB) em maçãs 'Gala' com 5 meses de armazenamento em AC, inoculadas e submetidas aos tratamentos físicos na linha de seleção comercial.....37

Tabela 7 - Incidência (%) e controle (%) da podridão olho-de-boi (POB) em maçãs 'Gala' com 5 meses de armazenamento em AC, com infecção natural, e submetidas aos tratamentos físicos na linha de seleção comercial.....37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....09

2 SENSIBILIDADE DE CONÍDIOS DE *Cryptosporiopsis perennans* **EM SUSPENSÕES AQUOSAS AO TRATAMENTO TÉRMICO E À RADIAÇÃO UV-C**.....12

2.1 RESUMO.....12
2.2 INTRODUÇÃO.....12
2.3 MATERIAL E MÉTODOS.....13
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....15
2.5 CONCLUSÃO.....19

3 CONTROLE DE *Cryptosporiopsis perennans* **COM MÉTODOS FÍSICOS EM MAÇÃS INOCULADAS**.....21

3.1 RESUMO.....21
3.2 INTRODUÇÃO.....21
3.3 MATERIAL E MÉTODOS.....23
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....24
3.5 CONCLUSÃO.....26

4 ASPERSÃO DE ÁGUA AQUECIDA E RADIAÇÃO UV-C PARA O CONTROLE DA PODRIDÃO OLHO-DE-BOI EM MAÇÃS INOCULADAS E COM INFECÇÃO NATURAL, APÓS DIFERENTES PERÍODOS DE ARMAZENAMENTO.....28

4.1 RESUMO.....28
4.2 INTRODUÇÃO.....29
4.3 MATERIAL E MÉTODOS.....31
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....33
4.5 CONCLUSÃO.....40

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....41

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....42

1 INTRODUÇÃO GERAL

A maçã (*Malus domestica* Borkh.) é o fruto de clima temperado mais importante entre os comercializados para consumo 'in natura', no contexto nacional e internacional (MELLO, 2004). A produção brasileira de maçã está concentrada na Região Sul, que é responsável por 99,8% da produção nacional. Na safra 2008/2009 foram produzidas 1.121.288 toneladas de maçã, sendo 562.989 toneladas provenientes do Estado de Santa Catarina e 514.537 toneladas do Rio Grande do Sul (ABPM, 2010).

As doenças que se manifestam em pós-colheita são responsáveis por volumes expressivos de perdas de frutos. Estas doenças resultam de infecções latentes ou quiescentes iniciadas durante o período de crescimento dos frutos e/ou das infecções resultantes de danos ocorridos durante a colheita e manuseio (BRUTON, 1994).

No Brasil, os patógenos que causam as maiores perdas pós-colheita em maçãs são aqueles que causam as doenças de verão, ou seja, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. e Sacc. (fase imperfeita) e *C. acutatum* J. H. Simmonds (causadores de podridão amarga), *Botryosphaeria dothidea* (Moug.: Fr.) Ces & De Not (sinn. *B. berengeriana*) (causador de podridão branca) e *Cryptosporiopsis perennans* (Zeller & Childs) Wollenweber (Kienholz, 1939) (causador de podridão olho-de-boi), além de patógenos que iniciam a infecção após o período de colheita dos frutos, que incluem, em ordem decrescente de importância, *Penicillium expansum* (Link ex Fries) Thom, *Botrytis cinerea* (Pers ex Fries) e *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2002).

Os métodos de controle de patógenos causadores de doenças pós-colheita em maçãs são bem conhecidos no Brasil, e incluem medidas que asseguram a menor suscetibilidade dos frutos às infecções e a menor pressão de inóculo. Estas medidas incluem: 1) a colheita do fruto no estádio de maturação adequado para a cultivar; 2) medidas de higiene nas sacolas de colheita, nas embalagens e nas instalações onde se manuseia o fruto; 3) a desinfecção com produtos químicos da água de lavagem e do ambiente de classificação e acondicionamento; 4) o controle dos patógenos que colonizam a superfície das maçãs e das estruturas que estão suspensas na água, com uso da radiação UV-C; e 5) a utilização de fungicidas em pré e pós-colheita e a armazenagem dos frutos sob condições de atmosfera controlada (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991, 1996; VALDEBENITO-SANHUEZA & MAIA, 2001).

Infecções latentes causadas por *C. perennans*, causador de podridão olho-de-boi, vêm aumentando em importância. Nos levantamentos desta doença, têm sido constatadas perdas de até 16% dos frutos frigorificados, não se dispondo de práticas adequadas para reduzir a infecção do patógeno (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2001). Conforme Valdebenito-Sanhueza et al. (2006), o patógeno pode infectar os frutos durante todo o ciclo, mas concentra-se na fase próxima da maturação de colheita, verificando-se as maiores perdas durante e após a frigorificação. Assim, a inoculação dos frutos pelos conídios de *C. perennans* ocorre nos períodos de chuva antes da colheita (KIENHOLZ, 1951), ao passo que o processo de infecção e o desenvolvimento dos sintomas ocorrem durante o armazenamento dos frutos em atmosfera controlada (GROVE et al., 1992).

Dentre os métodos alternativos ao controle químico de patógenos em pós-colheita, os mais pesquisados são o tratamento dos frutos com calor (termoterapia) e com radiação (radioterapia), além da associação de métodos físicos, biológicos e de insumos permitidos pelas Normas da Produção Orgânica de Maçãs (LEVERENTZ et al., 2000; CONWAY et al., 2005).

O tratamento de frutos com escovação e aspersão de água aquecida a 55ºC por 12 segundos mostrou-se efetivo no controle de podridões ocasionadas por *B. cinerea* e *A. alternata* (FALLIK et al., 1999). Conforme Maxin et al. (2005), para inibir a podridão olho-de-boi em maçãs, a temperatura da água deve ser próxima de 50ºC, com tempo de imersão entre 60 e 180 segundos. A menor percentagem de podridões ocasionadas por *P. expansum* em maçãs 'Golden Delicious' foi obtida com o tratamento dos frutos com aspersão de água aquecida a 55ºC durante 15 segundos, sobre escovas acopladas a máquina do tratamento (FALLIK et al., 2001). O controle de *B. dothidea* em maçãs 'Fuji' foi demonstrado no Brasil, quando feita a aspersão dos frutos com água aquecida a 53-58°C durante 30 ou 60 segundos (OSTER, 2004).

Resultados de pesquisas têm mostrado o efeito germicida e da indução de resistência em frutos e hortaliças através do tratamento com radiação UV-C (253,7 nm). De acordo com Stevens et al. (2005), o tratamento de maçãs 'Golden Delicious' com radiação UV-C (na dose de 7,5 x 10^4 ergs mm^{-2}) foi efetivo na redução de podridões durante o armazenamento refrigerado dos frutos. A exposição de maçãs por certo período a radiação UV-C promoveu o incremento no conteúdo de ácido ascórbico e aumento na resistência dos frutos a podridão por Alternaria (STEVENS et al., 1991). No Brasil, os resultados obtidos em condições de manejo comercial mostraram que em maçãs 'Fuji', com alta contaminação de *P. expansum*, quando

tratadas com radiação UV-C na dose de 5,9 x 10^4 ergs mm^{-2}, o controle da contaminação superficial variou de 90 a 100% (VALDEBENITO-SANHUEZA & MAIA, 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade ‘in vitro’ dos conídios de *C. perennans* aos tratamentos com água aquecida e radiação UV-C, bem como os efeitos dos mesmos no controle do patógeno em maçãs 'Gala' e 'Fuji' e 'Pink Lady' em linha de seleção experimental e comercial.

2 SENSIBILIDADE DE CONÍDIOS DE *Cryptosporiopsis perennans* EM SUSPENSÕES AQUOSAS AO TRATAMENTO TÉRMICO E À RADIAÇÃO UV-C

2.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade 'in vitro' de conídios de *Cryptosporiopsis perennans* ao tratamento térmico e à radiação UV-C. Conídios do patógeno foram tratados em suspensão aquosa nas temperaturas de 45, 50 e 55ºC, por 15 e 30 segundos, e com radiação UV-C, nas doses de 0,018 x 10^4, 0,037 x 10^4, 0,075 x 10^4, 0,150 x 10^4, 0,375 x 10^4, 0,750 x 10^4, 1,500 x 10^4 e 3,000 x 10^4 ergs mm^{-2}, com duas fontes de irradiância (1,25 e 25 watts m^{-2} s^{-1}). Alíquotas de 0,1 mL das suspensões foram plaqueadas em meio de cultura e incubadas a 22ºC, e após sete dias avaliou-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC) desenvolvidas. Os resultados mostraram que todos os tratamentos testados reduziram a sobrevivência do patógeno. Houve redução superior a 99% na viabilidade dos conídios tratados com 50 e 55ºC, por 15 e 30 segundos, e com radiação UV-C nas doses entre 0,75 x 10^4 e 3,00 x 10^4 ergs mm^{-2}. Os métodos físicos testados foram eficientes no controle de *C. perennans* 'in vitro'.

Palavras-chave: *Malus domestica*. *Cryptosporiopsis perennans*. Tratamento térmico. Radiação UV-C.

2.3 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de fungos causadores de podridões em frutos e vegetais, durante o armazenamento e transporte, é a maior causa de perdas pós-colheita nestes produtos (MARQUENIE et al., 2002). Na maioria dos casos o controle dos patógenos é feito com desinfetantes e fungicidas. Porém, a restrição no uso de fungicidas vem estimulando a busca de métodos alternativos para este fim (WILSON et al., 1991). O tratamento térmico e a radiação ultravioleta (253,7 nm) têm sido propostos como métodos viáveis para desinfecção e desinfestação da superfície dos frutos (BARKAI-GOLAN & PHILLIPS, 1991; DE CAL & MELGAREJO, 1999).

O efeito do tratamento térmico sobre o patógeno é usualmente constatado pela redução na viabilidade da germinação do esporo ou no crescimento micelial (LURIE, 1998). A inativação, pela ação da elevada temperatura, das estruturas dos fungos presentes na

superfície do fruto e/ou causando infecção quiescente, depende de diversos fatores, tais como: natureza do patógeno, temperatura, tempo de tratamento, idade e conteúdo de umidade do esporo, fase da germinação, entre outros (BAKER & SMITH, 1969). Estudos 'in vitro' têm mostrado que conídios de muitos fungos são inativados quando expostos a temperatura de 60ºC por cinco a 10 minutos (BAKER & SMITH, 1969; CIVELLO et al., 1997). Entretanto, para descontaminação da superfície dos frutos recém colhidos, o tratamento térmico deveria ser menos severo, para evitar perda de turgor e qualidade em geral (MARQUENIE et al., 2002).

A inativação dos esporos pelo calor é o resultado da combinação da temperatura e duração do tratamento (LURIE, 1998). Assim, Barkai-Golan & Phillips (1991) observaram que os esporos de *Alternaria alternata* podem ser inativados tanto a 48ºC durante dois minutos como a 46ºC durante quatro minutos. Maxin et al. (2005) observaram, em maçãs cv. Topaz com infecção natural, controle de podridão olho-de-boi (*Cryptosporiopsis perennans*), através do tratamento por imersão em água, na temperatura próxima de 50ºC, por 60 e 180 segundos. Os mesmos autores verificaram que a imersão dos frutos durante 180 segundos em água aquecida a 53ºC não comprometeu a qualidade dos mesmos após quatro meses de armazenamento a 2ºC.

A radiação ultravioleta com comprimento de onda próximo de 254 nanômetros (UV-C) possui efeito germicida (STEVENS et al., 1996), agindo pela destruição de estruturas do patógeno, inibição da germinação ou retardo no desenvolvimento do fungo pela desnaturação protéica e desorganização da membrana plasmática (WOLFE, 1990). As propriedades de descontaminação da radiação UV-C são bem conhecidas, mas o potencial dela para desinfecção dos frutos e vegetais tem sido pouco estudado (AYLOR & SANOGO, 1997; ISLAM et al., 1998; STEVENS et al., 1998). Doses baixas de radiação UV-C, em adição ao efeito letal ao patógeno (NIGRO et al., 1998; SHAFFER et al., 1999), podem induzir uma reação fisiológica benéfica no produto exposto, caracterizada como indução de resistência, a qual pode inibir o desenvolvimento de alguns fungos (STEVENS et al., 1998).

Dados prévios de sensibilidade à radiação UV-C e à água aquecida de *C. perennans* 'in vitro' não foram encontrados na literatura.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos tratamentos térmico e com radiação UV-C sobre conídios de *C. perennans*.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

O isolado *Cp* 5 de *Cryptosporiopsis perennans* foi obtido a partir de maçãs cv. Fuji com sintomas típicos da podridão olho-de-boi, no Laboratório de Fitopatologia da Estação Experimental de Fruticultura Temperada - Embrapa Uva e Vinho - em Vacaria, RS. O isolado foi transferido para placas de Petri contendo meio de cultura batata – dextrose – ágar (BDA) e cultivado em câmara de crescimento BOD a 22°C sob luz fluorescente contínua (tipo luz do dia), sendo usadas colônias de 15 dias para obtenção das suspensões de conídios. A colônia foi inundada com água destilada esterilizada (ADE) e Tween 80 (0,001%), ajustando a concentração desejada de conídios com auxílio do hemacitômetro.

Para o tratamento com água aquecida foi utilizado um banho-maria. Aos tubos de vidro com 3 mL de água, nas temperaturas desejadas, foi transferida uma suspensão de 0,1 mL, contendo 1 x 10^5 conídios mL^{-1}, sendo que alterasse a temperatura do tratamento. Os tratamentos utilizados foram: 1) 28ºC - 15 segundos (testemunha); 2) 45ºC - 15 segundos; 3) 45ºC - 30 segundos; 4) 50ºC - 15 segundos; 5) 50ºC - 30 segundos; 6) 55ºC - 15 segundos; e 7) 55ºC - 30 segundos. Após cada tratamento, os tubos foram colocados em água a 1-2°C para cessar a ação do tratamento térmico. Alíquotas de 0,1 mL de cada tubo foram transferidas para placas com BDA ácido (pH 4,5 ajustado com ácido lático 85%), incubando-as a 22ºC por sete dias sob luz fluorescente contínua (tipo luz do dia).

Para avaliação das doses de exposição à radiação UV-C foram conduzidos dois experimentos, submetendo-se suspensões de 3 mL com 5 x 10^2 conídios mL^{-1} de *C. perennans* em placas de Petri de mesmo tamanho à diferentes doses. No primeiro experimento foram avaliadas diferentes doses numa câmara germicida com irradiância de 1,25 watts m^{-2} s^{-1}. As doses avaliadas foram 0,018 x 10^4 ergs mm^{-2}; 0,037 x 10^4 ergs mm^{-2}; 0,075 x 10^4 ergs mm^{-2}; e 0,150 x 10^4 ergs mm^{-2}. No segundo experimento avaliaram-se diferentes doses num equipamento com irradiância de 25 watts m^{-2} s^{-1}. As doses testadas foram 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2}; 0,750 x 10^4 ergs mm^2; 1,500 x 10^4 ergs mm^{-2}; e 3,000 x 10^4 ergs mm^{-2}. Em ambos os experimentos, o tratamento testemunha não recebeu radiação UV-C. Antes da exposição das amostras, a radiação UV-C foi aferida conforme sugerido por Souza (2005), onde se obteve as irradiâncias espectrais das fontes monocromáticas, segundo normas técnicas NBR IEC 60335-2-27:2000 e NBR ISO/IEC 17025:2005 (ABNT, 2000; 2005). A irradiância foi medida com o radiômetro manual UVX e o espectrorradiômetro RPS 900, sendo a validação da calibração feita com o espectrorradiômetro IL2000, e a dose calculada pelo período de exposição à radiação utilizada. Após cada tratamento, alíquotas de 0,1 mL de cada placa foram transferidas para placas com BDA ácido (pH 4,5 ajustado com ácido lático 85%), incubando-as a 22ºC por sete dias sob luz fluorescente contínua (tipo luz do dia).

Para avaliação dos tratamentos térmicos e das doses de radiação UV-C, foi determinada a sobrevivência de conídios nas placas, estimada pelo número de unidades formadoras de colônias (UFC).

Foram utilizados os delineamentos inteiramente casualizados, com seis repetições para os tratamentos térmicos e três repetições para os tratamentos com radiação UV-C, sendo a unidade experimental representada por um tubo ou uma placa. Os dados de número de UFC foram transformados por $\sqrt{x+1}$ e submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o programa SAS (SAS INSTITUTE, 2002). As médias de tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey ($P<0,05$). Para a relação entre nível de controle (% em relação à testemunha) das UFC, em função da dose de radiação UV-C, foi ajustado modelo não linear, através da utilização do procedimento PROC REG do programa SAS.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo da sensibilidade ‘in vitro’ de *C. perennans* ao tratamento térmico, todos os tratamentos com água aquecida diminuíram a sobrevivência dos conídios quando comparados à testemunha (28ºC - 15 segundos) (Tabela 1). Na temperatura de 45ºC, a elevação no tempo de exposição de 15 para 30 segundos diminuiu a sobrevivência de conídios. Nas temperaturas de 50 e 55°C, independente do tempo de exposição (15 ou 30 segundos), o controle dos conídios foi superior a 99%. Resultados semelhantes foram reportados por Marquenie et al. (2002), os quais observaram maior inativação dos conídios de *Botrytis cinerea* e *Monilinia fructigena* Honey com o aumento da temperatura e na duração do tratamento.

Tabela 1 - Número de unidades formadoras de colônias (UFC) obtidas a partir das suspensões de *Cryptosporiopsis perennans* submetidas a diferentes tratamentos com água aquecida, e controle (%) destes tratamentos em relação à testemunha.

Tratamento	UFC [1]	Controle (%)
Testemunha	74,22a [2]	0,00
45ºC - 15 segundos	31,31b	57,81
45ºC - 30 segundos	13,47c	81,85
50ºC - 15 segundos	0,46d	99,38
50ºC - 30 segundos	0,00d	100,00
55ºC - 15 segundos	0,09d	99,88
55ºC - 30 segundos	0,00d	100,00
C.V. (%)	19,59	

[1] Médias de seis repetições. [2] Dados seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Oster (2004) observou inibição na sobrevivência de conídios de *Botryosphaeria dothidea*, submetidos ao tratamento na temperatura de 58ºC, durante 60 segundos. A maior sensibilidade de conídios de *C. perennans* ao calor, quando comparado com *B. dothidea*, pode ser devida às diferenças nas características genéticas entre estes dois patógenos ou ao maior tamanho dos conídios de *B. dothidea* (5-8 x 15-29 µm), quando comparado ao de *C. perennans* (1-2 x 5-8 µm) (BOGO et al., 2008). Segundo Barkai-Golan & Phillips (1991), as diferenças genéticas dos fungos podem ser expressas pela considerável variação na sensibilidade às altas temperaturas. Estes mesmos autores relataram que a resposta do patógeno ao calor pode ser influenciada pelo conteúdo de umidade dos esporos, atividade metabólica do patógeno, concentração e idade do inóculo. Karabulut et al. (2002) relataram que, enquanto o crescimento micelial de *M. fructicola* (G. Winter) Honey foi completamente inibido pela exposição a 50°C durante 10 segundos, o crescimento micelial de *P. expansum* só foi inibido através da exposição a 60°C durante 20 segundos. Conforme Lurie (1998), a eficácia do tratamento térmico é medida pela redução na viabilidade do patógeno, tanto no crescimento micelial como na germinação do esporo. Neste último caso, o tratamento com calor teria efeito direto através da inibição ou retardamento da elongação do tubo germinativo, ou ainda, inativando os esporos (FERGUSON et al., 2000).

Neste trabalho foi demonstrado que uso de água aquecida a 50ºC durante 15 segundos é eficaz na redução da sobrevivência dos esporos do patógeno *C. perennans*. Este tratamento térmico pode ser usado para descontaminar maçãs, visto que diversos autores têm

recomendado tratamentos com aspersão de água aquecida, com temperaturas iguais ou maiores a 50ºC, e períodos de exposição de até 3 minutos, para o controle de podridões, sem observarem efeitos prejudiciais à qualidade dos frutos (FALLIK et al., 1999 e 2001). Maçãs 'Golden Delicious' tratadas com aspersão de água a 55ºC, durante 15 segundos, antes do armazenamento, apresentaram menor incidência de podridões e mantiveram a qualidade após quatro meses de armazenamento refrigerado (FALLIK et al., 2001). Oster (2004) não detectou alteração na qualidade de maçãs 'Fuji' submetidas ao tratamento térmico por aspersão, na temperatura de 58ºC, durante 60 segundos, e armazenadas por 3 e 5 meses a 0-1ºC.

A radiação UV-C, em todas as doses avaliadas, reduziu a sobrevivência dos conídios (Tabela 2). No primeiro experimento, as doses de 0,037 x 10^4 a 0,150 x 10^4 ergs mm^{-2} diminuíram em mais de 70% a sobrevivência dos conídios do patógeno, em relação à testemunha. No segundo experimento, as doses de 0,75 x 10^4 a 3,00 x 10^4 ergs mm^{-2} reduziram em mais de 99% a sobrevivência dos conídios em relação à testemunha. A exposição à dose de 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2} foi menos eficiente em relação às doses maiores, mas ainda assim apresentou controle de 86,4% em relação à testemunha. Conforme Marquenie et al. (2002), o número de conídios de *B. cinerea* e *M. fructigena* sobreviventes diminuiu linearmente com o incremento na dose de radiação UV-C utilizada, de 0,1 x 10^4 a 15 x 10^4 ergs mm^{-2}. Moy (1983) verificou que a radiação UV-C na dose de 1,10 x 10^4 ergs mm^2 é suficiente para reduzir a viabilidade de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. 'in vitro'. De acordo com Camili et al. (2004), a dose de 0,84 x 10^4 ergs mm^{-2} apresentou efeito germicida sobre esporos de *B. cinerea*, sendo que doses de 0,2 x 10^4 a 0,6 x 10^4 ergs mm^{-2} retardaram e diminuíram a germinação destas estruturas. Percebeu-se que as doses de radiação UV-C eficientes para o controle dos esporos de *R. stolonifer*, *B. cinerea* e *C. perennans* são similares, o que facilitaria a implementação de um equipamento para o tratamento de maçãs em pós-colheita para o controle destes patógenos.

Tabela 2 - Número de unidades formadoras de colônias (UFC) obtidas a partir das suspensões de *Cryptosporiopsis perennans* submetidas a diferentes doses de radiação UV-C, e controle (%) destas doses em relação à testemunha. Resultados obtidos em dois experimentos.

Dose de radiação UV-C (x 10^4 ergs mm^{-2})	UFC [1]	Controle (%)
Experimento 1		
0,000 (testemunha)	154,13a [2]	0,00
0,018	82,48b	46,50
0,037	36,49c	76,30
0,075	9,60d	93,80
0,150	3,00e	98,10
C.V. (%)	3,55	
Experimento 2		
0,000 (testemunha)	44,86a [2]	0,00
0,375	6,11b	86,40
0,750	0,30c	99,30
1,500	0,00c	100,00
3,000	0,00c	100,00
C.V. (%)	12,89	

[1] Médias de três repetições. [2] Dados seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Considerando os dados dos dois experimentos, foi possível ajustar um modelo de Michaelis-Menten para a relação entre doses de radiação UV-C e controle de *C. perennans* (Figura 1). Neste modelo, y = (a*x)/(b+x), onde a = $V_{máx}$ (valor máximo de y, ou seja, valor máximo de controle do patógeno) e b=constante de Michaelis-Menten (K_m, ou seja, dose de radiação UV-C correspondente a metade do valor máximo de controle do patógeno). O modelo ajustado mostra que na dose de 0,0148 x 10^4 ergs mm^{-2} tem-se 50% de controle de *C. perennans* (Figura 1). Observa-se grande aumento no controle do patógeno com o incremento nas doses de radiação UV-C até ~0,25 x 10^4 ergs mm^{-2}, seguido de uma estabilização, com valores muito próximos de 100% de controle.

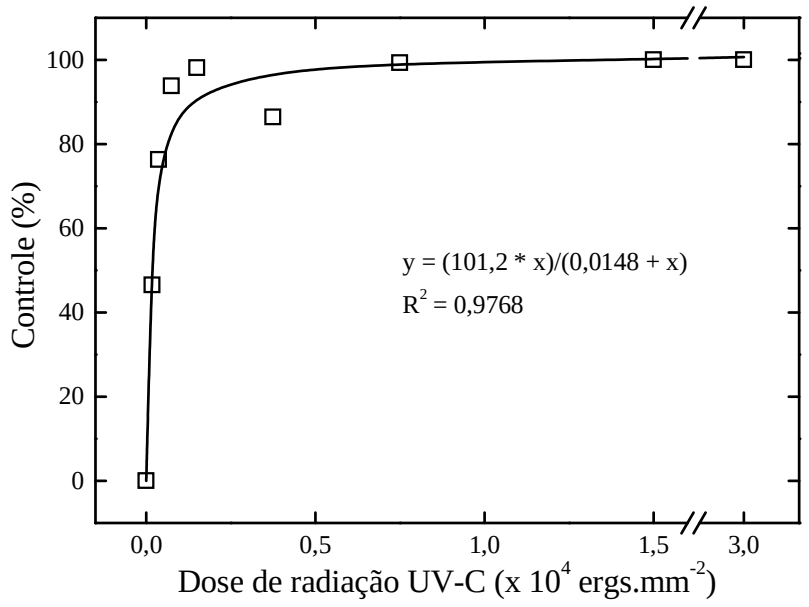

Figura 1 - Curva de regressão para o efeito das doses de radiação UV-C no controle de *Cryptosporiopsis perennans*. Modelo de regressão ajustado utilizando dados dos experimentos 1 e 2.

Estes resultados são importantes do ponto de vista prático, pois para a implementação do tratamento com radiação UV-C na linha de seleção de frutos, a exposição ao tratamento com radiação UV-C deve ocorrer durante curto período. Isto pode ser obtido com baixas doses de radiação UV-C, entre 0,500 x 10^4 e 0,750 x 10^4 ergs mm^{-2}, as quais propiciam efetivo controle de *C. perennans*.

Os resultados obtidos com radiação UV-C no controle de *C. perennans* confirmam informações publicadas por outros autores que relatam o controle de outros patógenos de frutas temperadas. Maçãs 'Golden Delicious', com infecção natural, tratadas com radiação UV-C na dose de 7,5 x 10^4 ergs mm^{-2}, apresentaram redução significativa na incidência da podridão parda (*Monilinia* spp.), podridão de Alternaria (*Alternaria* spp.) e podridão mole (*Erwinia* spp.), após 30 dias de armazenamento (STEVENS et al., 1991). Adicionalmente ao efeito germicida citado em frutos, relatos de pesquisas feitas com batata, cebola, tangerina e maçã, demonstram que a radiação UV-C também pode induzir nos tecidos vegetais reações de resistência aos patógenos, diminuindo o desenvolvimento das podridões (BROWN et al., 2001; STEVENS et al, 2004; YAUN et al., 2004; STEVENS et al., 2005).

2.6 CONCLUSÃO

Todos os tratamentos com água aquecida ou radiação UV-C diminuíram a sobrevivência dos conídios. Os tratamentos com água aquecida a 50ºC, durante 15 segundos, e com radiação UV-C, na dose de 0,750 x 10^4 ergs mm^{-2}, promovem reduções de mais de 99% na sobrevivência de conídios de *C. perennans* presentes em suspensão aquosa.

3 CONTROLE DE *Cryptosporiopsis perennans* COM MÉTODOS FÍSICOS EM MAÇÃS INOCULADAS

3.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da água aquecida e da radiação UV-C no controle de *Cryptosporiopsis perennans* em maçãs inoculadas. Maçãs das cvs. Gala, Fuji e Pink Lady foram inoculadas por aspersão com uma suspensão de 1 x 10^7 conídios mL^{-1} de *C. perennans* e incubados na temperatura de 22ºC por 24 horas. Em seguida, as maçãs foram submetidas aos tratamentos na linha de seleção: 1) aspersão de água a 20ºC por 30 segundos (testemunha); 2) aspersão de água a 50ºC por 15 segundos; 3) aspersão de água a 50ºC por 30 segundos; 4) radiação UV-C na dose de 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2}; 5) radiação UV-C na dose de 0,750 x 10^4 ergs mm^{-2}. Cada tratamento foi composto de seis repetições de três frutos, os quais foram lavados por sonicação e alíquotas de 0,1 mL da água da lavagem foram plaqueadas em meio de cultura e incubadas a 22ºC. Após sete dias, avaliou-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC) desenvolvidas. Os tratamentos físicos testados reduziram a sobrevivência do patógeno presente na superfície das maçãs inoculadas. O tratamento com aspersão de água aquecida a 50ºC por 15 segundos e a radiação UV-C na dose de de 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2} controlaram acima de 83 e 79%, respectivamente, os conídios presentes nos frutos.

Palavras-chave: *Malus domestica*. *Cryptosporiopsis perennans*. Tratamento térmico. Radiação UV-C.

3.2 INTRODUÇÃO

As maçãs apresentam elevadas perdas pós-colheita, ocasionadas especialmente por infecção de fungos, pois fazem parte do grupo de microorganismos de maior freqüência e atividade (BOOTH & BURDEN, 1986), responsável por 80 a 90% do total de perdas causadas por agentes microbianos (GULLINO, 1994). As doenças de pós-colheita reduzem a extensão da vida de armazenamento e limitam a rentabilidade do negócio da maçã no Brasil (SCHIRRA et al., 2000). A suscetibilidade dos frutos a doenças pós-colheita aumenta durante o armazenamento, como resultado de mudanças fisiológicas que favorecem a atividade dos patógenos (ECKERT & OGAWA, 1988).

Os fungicidas constituem a ferramenta mais eficaz para combater doenças pós-colheita. Contudo, estes podem tornar-se ineficientes, pela seleção de patógenos-alvo resistentes, e a presença de resíduos no fruto coloca em risco a saúde pública, além de ocasionarem contaminação do meio ambiente (PUSEY et al., 1993). Como resultado disso, pesquisadores têm procurado novas alternativas para controle de doenças pós-colheita nos vegetais, destacando-se os métodos físicos (WILSON & PUSEY, 1985; LU et al., 1987; SCRIVEN et al., 1988).

Os tratamentos físicos mais estudados para controle de doenças pós-colheita de vegetais utilizam água aquecida e radiação ultravioleta-C (UV-C), de baixo comprimento de onda (253,7 nm), e podem ser aplicados na linha de seleção dos produtos, através da aspersão ou imersão em água a diversas temperaturas e com exposição a diferentes doses de radiação.

Burchill (1964) controlou podridão de *Gloeosporium* spp. (sinn. *Cryptosporiopsis* spp.) em maçãs imergindo-as em água nas temperaturas de 40 a 45ºC por seis minutos. Os tratamentos com imersão em água a 50-53ºC por 2-3 minutos são eficazes no controle de doenças pós-colheita, porém os altos custos de aquecimento de grandes volumes de água tornam estes tratamentos inviáveis numa escala comercial (RODOV et al., 1994). Tem sido demonstradas maiores vantagens quando é feita a aspersão de água aquecida associada a escovação dos frutos recém colhidos por períodos curtos (FALLIK et al., 2001). A aspersão de água aquecida pode atuar na remoção de esporos e na diminuição da sua viabilidade (COUEY, 1989).

A radiação ultravioleta, na faixa de 253,7 nanômetros, possui efeito germicida ao ser absorvida pelas proteínas e ácidos nucléicos dos organismos contaminantes, provocando o rompimento de cromossomos, mutações genéticas e inativação de enzimas e, conseqüentemente, causando a morte das células (CARDOSO, 2007). Portanto, este tratamento atua esterilizando a superfície do material irradiado (WOLFE, 1990).

A podridão olho-de-boi, causada por *Cryptosporiopsis perennans*, ocorre em todas as regiões produtoras de maçãs do Brasil (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2002). As perdas pós-colheita por este patógeno são cada vez mais expressivas, sendo que, juntamente com mofo azul (*Penicillium expansum*), causam as maiores perdas em maçãs 'Fuji' (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2006). A podridão olho-de-boi se desenvolve de maneira rápida, entre 18 e 24ºC, mas também na frigorificação dos frutos, a 0ºC (EDNEY, 1956). O patógeno coloniza a epiderme do fruto durante todo o ciclo vegetativo, e o processo de infecção se inicia pela epiderme intacta ou pelas lenticelas, podendo ocorrer durante todo o

ciclo, mas é mais freqüente quando o fruto está próximo da maturação de colheita (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2002).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da aspersão de água aquecida e da radiação UV-C no controle pós-colheita de *C. perennans*, em três cultivares de maçãs.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

O isolado de *Cryptosporiopsis perennans* utilizado foi o *Cp* 5, obtido a partir de maçãs cv. Fuji com sintomas típicos da podridão olho-de-boi, no Laboratório de Fitopatologia da Estação Experimental de Fruticultura Temperada - Embrapa Uva e Vinho - em Vacaria, RS. O isolado foi transferido para placas de Petri contendo meio de cultura batata – dextrose – ágar (BDA) e cultivado em câmara de crescimento BOD a 22°C sob luz fluorescente contínua (tipo luz do dia).

Maçãs das cultivares Gala, Fuji e Pink Lady, com seis meses de armazenamento em condição de atmosfera controlada (AC) (temperatura de 1,0 ± 0,5ºC, 1kPa de O_2, 3kPa de CO_2 e umidade relativa de 95 ± 5%), provenientes de um pomar do município de Vacaria, RS, foram selecionadas e em seguida mergulhadas em uma solução contendo 45% de hipoclorito de sódio a 2%, 45% de água destilada e 10% de álcool a 96°GL, por 3 minutos, para desinfestação. A seguir, os frutos foram imersos em água destilada por 10 segundos e enxugados com papel toalha.

A inoculação do patógeno nas maçãs foi através de aspersão da suspensão de 1×10^7 conídios mL^{-1}, obtida de colônias desenvolvidas durante 15 dias a 22°C, sob luz fluorescente contínua (tipo luz do dia). Após a inoculação, os frutos foram acomodados em bandejas plásticas, contendo papel toalha umedecido no fundo, para manter a umidade e, posteriormente, colocadas dentro de sacos plásticos. Os frutos foram incubados a 22°C por 24 horas sob luz fluorescente contínua (tipo luz do dia), antes da aplicação dos tratamentos.

A aplicação dos tratamentos físicos nos frutos foi realizada acoplando os equipamentos de aspersão de água aquecida e de aplicação de radiação UV-C numa linha de seleção (Marca Prodol), pertencente à Estação Experimental de Fruticultura Temperada da Embrapa Uva e Vinho, possuindo rolos recobertos com escova de náilon, com diâmetro total de 38 cm, e apresentando rotação de 108 rpm.

Para o tratamento térmico dos frutos foi utilizado um conjunto de aquecimento de água e outro de aspersão. O primeiro compreendeu um recipiente com resistências elétricas e termostato para controlar a temperatura. O segundo foi composto de duas barras com bicos de

aspersão do tipo leque (distanciados entre si em 10 cm), uma bomba e um motor. O sistema de aspersão foi ajustado para que a distância entre a saída do bico e o fruto fosse de 10 cm, de modo que a temperatura do tratamento foi aferida neste percurso.

O equipamento de radiação UV-C foi composto de 10 lâmpadas (Marca Ecolume), emitindo radiação no comprimento de onda de 253,7 nanômetros, com potência de 30 watts cada, seus respectivos reatores, instalados numa caixa de madeira dimensionada para que a radiação não fosse emitida para fora da linha de seleção, uma vez que poderia comprometer a saúde dos trabalhadores. A distância entre a fonte de radiação e o fruto foi de 10 cm. Antes da exposição das amostras, a radiação UV-C foi aferida conforme sugerido por Souza (2005), onde se obteve as irradiâncias espectrais das fontes monocromáticas, segundo normas técnicas NBR IEC 60335-2-27:2000 e NBR ISO/IEC 17025:2005 (ABNT, 2000; 2005). A irradiância foi medida com radiômetro manual UVX e o espectrorradiômetro RPS 900, com validação da calibração com o espectrorradiômetro IL2000 e a dose calculada em função do período de exposição à radiação utilizada.

Foram utilizados os seguintes tratamentos: 1) aspersão de água a 20ºC - 30 segundos (testemunha); 2) aspersão de água aquecida a 50ºC - 15 segundos; e 3) aspersão de água aquecida a 50ºC - 30 segundos; 4) radiação UV-C na dose de 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2}; e 5) radiação UV-C na dose de 0,750 x 10^4 ergs mm^{-2}. Após os tratamentos, as maçãs foram submetidas à lavagem por sonicação durante 30 segundos, sendo usados 300 mL de água destilada e esterilizada para cada repetição (composta de três frutos). Alíquotas de 0,1 mL foram distribuídas em placas com meio seletivo para *C. perennans* (SPOLTI et al., 2010) e incubadas por sete dias a 22ºC, sob luz fluorescente contínua (tipo luz do dia). Nas placas, avaliou-se a sobrevivência de conídios recuperados da superfície dos frutos, estimada pelo número de unidades formadoras de colônias (UFC).

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo a unidade experimental composta de três frutos. Para cada repetição foram usadas duas placas para contagem de UFC.

Os dados de número de UFC foram transformados por $\sqrt{x+1}$ e submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM (PROC GLM), utilizando o programa SAS (SAS INSTITUTE, 2002). As médias de tratamentos foram comparadas através do teste de Tukey ($P<0,05$).

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os tratamentos testados reduziram a sobrevivência do patógeno na epiderme das maçãs das três cultivares em relação à testemunha (Tabela 3). Estes dados atendem a abordagem de controle deste tipo de contaminação, proposto por Yaun et al. (2004), segunda a qual, para minimizar os riscos patológicos envolvidos com o consumo de frutos e vegetais frescos, é necessário reduzir ou eliminar a contaminação superficial de bactérias e fungos.

Nas cultivares Gala, Fuji e Pink Lady a aspersão de água aquecida a 50ºC por 15 ou 30 segundos e as doses de radiação UV-C de 0,375 x 10^4 e 0,750 x 10^4 ergs mm^{-2} foram igualmente eficientes no controle de *C. perennans*, sendo os percentuais de controle acima de 94, 79 e 80% (Tabela 3).

Barkai-Golan & Phillips (1991) afirmam que os tratamentos térmicos mais efetivos para o controle de doenças pós-colheita em frutos correspondem a temperaturas entre 46 e 60°C, com períodos de exposição variando entre 30 segundos e 10 minutos. Nas cultivares ora avaliadas, com seis meses de armazenamento em condição de AC, foi observado que a aspersão de água na temperatura de 50ºC por 15 segundos controlou acima de 83% do patógeno presente na superfície do fruto inoculado (Tabela 3). Este resultado concorda com o posicionamento de Lurie et al. (1998), que recomendam aplicação de tratamentos térmicos para o controle de doenças pós-colheita combinando temperaturas mais elevadas com menores períodos de exposição.

Tabela 3 - Unidades formadoras de colônias (UFC) de *Cryptosporiopsis perennans* e seu controle (% em relação à testemunha) na superfície de três cultivares de maçãs, com seis meses de armazenamento em condição de AC, inoculadas e submetidas aos tratamentos com aspersão de água aquecida ou radiação UV-C na linha de seleção.

Tratamento	Cultivar					
	'Gala'		'Fuji'		'Pink Lady'	
	UFC	Controle	UFC	Controle	UFC	Controle
Testemunha	280,25a [(1)]	0,00	131,83a	0,00	156,66a	0,00
50ºC – 15 s	5,00b	98,21	11,25b	91,46	25,83b	83,51
50ºC – 30 s	4,41b	98,42	16,16b	87,74	30,00b	80,85
UV-C – 0,375*	14,50b	94,82	27,58b	79,08	30,83b	80,32
UV-C – 0,750*	11,91b	95,75	15,91b	87,93	22,50b	85,64
C.V. (%)	21,71	-	24,82	-	42,92	-

[(1)] Médias de seis repetições de duas placas. Dados seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). * x 10^4 ergs mm^{-2}

Nas três cultivares, o aumento do período de aspersão com água aquecida ou da dose radiação UV-C não contribuiu significativamente para o controle do patógeno, de modo que não foram observadas diferenças significativas entre os quatro tratamentos avaliados.

Os tratamentos de lavagem e escovação dos frutos com água aquecida têm se mostrado eficientes no controle de doenças (FALLIK et al., 2001). Temperaturas maiores de 50°C têm sido usadas em maçãs para o controle de doenças, não sendo verificado danos na epiderme. Fallik et al. (2001), trabalhando com maçãs 'Golden Delicious' inoculadas com *P. expansum*, ou com infecção natural, e tratadas com aspersão de água aquecida a 55ºC, durante 15 segundos, observaram menor incidência da doença após quatro semanas a 20ºC, e também após quatro meses de armazenamento a 1ºC mais 10 dias a 20ºC. Além disso, os mesmos autores observaram que os frutos tratados com aspersão de água aquecida a 55ºC durante 15 segundos, e armazenados por quatro meses a 1ºC mais 10 dias a 20ºC, apresentaram maior firmeza de polpa e mantiveram as demais variáveis de qualidade avaliadas (sólidos solúveis, acidez titulável e cor da epiderme).

A sensibilidade dos fungos à radiação UV-C é variável, ocorrendo o controle de esporos de *Rhizopus stolonifer* com a dose de 1,1 x 10^4 ergs mm^{-2} (MOY, 1983), de *Aspergillus niger* Tiegh. com a dose de 3,6 x 10^4 ergs mm^{-2}, da podridão de Alternaria em maçãs com a dose de 4,8 x 10^4 ergs mm^{-2} (STEVENS et al., 1991), e da população epífita de *P. expansum* em maçãs 'Fuji' com a dose de 5,4 x 10^4 ergs mm^{-2} (VALDEBENITO-SANHUEZA & MAIA, 2001). De acordo com Stevens et al. (1991), a irradiação de cebolas 'Walla Walla' com doses de UV-C variando de 1,3 x 10^4 a 19,6 x 10^4 ergs mm^{-2} reduziu as podridões pós-colheita e aumentou a vida de prateleira, permitindo o armazenamento por 40 dias a 20-25ºC. Os mesmos autores observaram que a dose de 7,5 x 10^4 ergs mm^{-2} foi a mais eficiente no controle das podridões causadas por *A. niger* e *Erwinia* spp., enquanto que esta mesma dose em citrus causou manchas na epiderme.

Os resultados obtidos mostram que, com a menor dose de radiação UV-C ou com o menor período de exposição à água aquecida, foi possível obter um controle superior a 79% do patógeno nas três cultivares de maçãs. Este resultado é interessante do ponto de vista prático, visto que o processo de seleção e embalagem de maçãs exige tratamentos pós-colheita rápidos e eficientes, de modo que períodos superiores aos testados não se enquadrariam na logística das empacotadoras.

3.5 CONCLUSÃO

A aspersão de água aquecida, na temperatura de 50ºC por 15 segundos, e o tratamento com radiação UV-C, na dose de 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2}, mostraram-se eficientes no controle da população epífita de *C. perennans* em maçãs 'Gala', 'Fuji' e 'Pink Lady', antes da embalagem dos frutos.

4 ASPERSÃO DE ÁGUA AQUECIDA E RADIAÇÃO UV-C PARA O CONTROLE DA PODRIDÃO OLHO-DE-BOI EM MAÇÃS INOCULADAS E COM INFECÇÃO NATURAL APÓS DIFERENTES PERÍODOS DE ARMAZENAMENTO

4.1 RESUMO

Avaliou-se os efeitos da água aquecida e da radiação UV-C no controle pós-colheita da podridão olho-de-boi em maçãs. Maçãs 'Fuji' com um, quatro e oito meses de armazenamento em condição de AC, e 'Gala' com cinco meses de armazenamento em condição de AC, inoculadas ou com infecção natural de *Cryptosporiopsis perennans*, foram submetidas aos seguintes tratamentos, implementados numa linha comercial de seleção de frutos: 1) sem tratamento (testemunha); 2) aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos; e 3) radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}. Além dos tratamentos acima citados, nos frutos 'Fuji', com um e oito meses de armazenamento, foi testado o tratamento com aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos + radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}. Após os tratamentos, as maçãs foram incubadas a 22ºC por 15 dias e avaliadas quanto à incidência da doença. A aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos reduziu 81 e 66% a incidência da podridão olho-de-boi em maçãs 'Fuji' inoculadas e tratadas com um e oito meses de armazenamento, respectivamente; na mesma cultivar com infecção natural e armazenada por um, quatro e oito meses estes valores foram de 53, 45 e 71%, respectivamente. O tratamento com radiação UV-C reduziu em 81 e 55% a incidência da podridão olho-de-boi nas maçãs 'Fuji' inoculadas e tratadas com um e oito meses de armazenamento, respectivamente; nos frutos 'Fuji' com infecção natural e armazenados por um, quatro e oito meses, o tratamento com radiação UV-C reduziu a incidência da podridão olho-de-boi em 64, 79 e 71%, respectivamente. Na cv. Gala inoculada e tratada com cinco meses de armazenamento, a incidência da podridão olho-de-boi foi reduzida em 70 e 69% com os tratamentos de aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 s e com a dose de radiação UV-C de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}, respectivamente; nos frutos desta cultivar com infecção natural estes valores foram 85 e 92%, respectivamente.

Palavras-chave: *Malus domestica*. Podridão olho-de-boi. Tratamento térmico. Radiação UV-C.

4.2 INTRODUÇÃO

No Brasil, as principais podridões pós-colheita de maçãs são a podridão por Penicillium ou mofo-azul (*Penicillium expansum*), a podridão por Alternaria ou podridão-marrom (*Alternaria alternata* e *Alternaria* sp), a podridão por Botrytis ou mofo-cinzento (*Botrytis cinerea*), a podridão-amarga (*Glomerella cingulata, Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum*), podridão branca por *Botryosphaeria* spp. (*Botryosphaeria dothidea* = *B. beringeriana* = *B. ribis*), podridão preta por *Botryosphaeria obtusa* (*Physalospora malorum*), podridão por Rhizopus (*Rhizopus nigricans*), manchas-de-sarna (*Venturia inaequalis*), podridão-parda (*Monilinia fructicola*), podridão olho-de-boi (*Pezicula malicorticis*/*Cryptosporiopsis perennans*), e podridão carpelar (*Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Botryosphaeria* spp., *Glomerella cingulata*, *Cryptosporiopsis perennans*, entre outros) (GIRARDI et al., 2002).

O gênero *Cryptosporiopsis*, origina perdas de maçãs em muitas regiões produtoras do mundo. As maçãs produzidas em regiões do Noroeste do Pacífico dos Estados Unidos da América sofrem perdas pela podridão olho-de-boi (GARIEPY et al., 2005), e um estudo da incidência de patógenos de pós-colheita em ‘Packing Houses’ de ‘British Columbia’ revelou que a doença afetou 40% das maçãs 'Golden Delicious' e 9% das maçãs 'McIntosh' (SHOLBERG & HAAG, 1996). No Sul do Brasil, a doença, causada por *C. perennans*, vem causando perdas crescentes em pré e pós-colheita, sendo que junto com *P. expansum* causa as maiores perdas de maçãs 'Fuji' após seis meses de frigorificação (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2002; VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2006). Infecções latentes causadas por este patógeno originam perdas de até 16% dos frutos frigorificados, sem que se conte ainda de práticas adequadas para reduzir a infecção da doença (VALDEBENITO-SANHUEZA, 2001). Ele penetra pelas lenticelas, ou ainda por aberturas naturais como a calicinal e a peduncular (EDNEY, 1956). Além disso, quando os conídios penetram pelas lenticelas dos frutos podem se tornar inacessíveis a fungicidas (EDNEY, 1970), sendo que nestes locais e nas rachaduras de cutícula estas estruturas tendem a aderir (DUGAN et al., 1993).

Entre os métodos alternativos ao químico no controle de doenças pós-colheita, a água aquecida e a radiação UV-C oferecem possibilidades interessantes. Ainda que a aplicação do calor numa variedade de formas tenha sido usada como um agente esterilizante por muitos anos, apenas a partir do fim da década de 60 tem recebido atenção no controle de podridões pós-colheita de frutas (EDNEY & BURCHILL, 1967). O tratamento térmico tem sido usado no pré-armazenamento, com temperaturas e períodos diversos, no controle de insetos-pragas, para prevenção de perdas por patógenos, e modificação do processo de amadurecimento de

produtos (LURIE, 1998). Assim, em maçãs 'Golden Delicious' inoculadas, o tratamento com ar aquecido a 38ºC por quatro dias reduziu perdas causadas por *P. expansum* após seis meses de armazenamento a 0ºC (SAMS et al., 1993). Já em maçãs 'Cox's Orange Pippin' recém colhidas, a imersão em água com temperaturas variando de 42 a 48ºC por cinco a 20 minutos, mostrou redução no número de podridão causada por *Gloeosporium* spp., o agente causal da podridão olho-de-boi na Europa, após o armazenamento a 5ºC por 12 semanas (EDNEY & BURCHILL, 1967). Para o controle desta podridão em maçãs de produção orgânica, foi recomendada a imersão dos frutos em água aquecida a 53ºC por três minutos em pós-colheita (MAXIN et al., 2005).

Outro método físico, a radiação UV-C com comprimento de onda de 254 nanômetros, afeta vários processos fisiológicos em tecidos vegetais (LEVITT, 1980). Com comprimento de onda e dose adequadas, a radiação UV-C pode causar fracas respostas de estresse, frequentemente associadas com o fenômeno de indução de resistência à patógenos (HADWIGER & SCHOCHAU, 1971; CREASY & COFFEE, 1988). A indução da resistência, com a radiação UV-C, tem sido relacionada à produção de substâncias tóxicas aos patógenos, induzidas por um incremento na atividade de enzimas (FRITZENHEIMER & KINDL, 1981). A radiação UV-C tem demonstrado redução na incidência das doenças pós-colheita de vários frutos e vegetais, quando aplicada em baixas doses (LU et al., 1991; WILSON et al., 1994; STEVENS et al., 1996). Em bagas de uva cv. Itália com ferimentos, irradiadas com doses de UV-C variando de 0,125 a 0,5 x 10^4 ergs mm^{-2} e armazenadas a 3ºC, o número de bagas infectadas reduziu significativamente quando inoculadas com suspensão de *B. cinerea* após 24-48 horas da irradiação, enquanto que nenhuma redução foi encontrada com inoculação em períodos maiores do que 48 h (NIGRO et al., 1998). Além da indução de resistência, alguns resultados sugerem que o controle pode ser devido ao efeito germicida de baixas doses de radiação UV-C sobre a população epífita de microorganismos (VALDEBENITO-SANHUEZA & MAIA, 2001), o que contribuiria para o controle de propágulos de alguns patógenos presentes na superfície dos frutos antes da embalagem.

Os frutos imaturos são altamente resistentes a patógenos, enquanto que as mudanças fisiológicas que ocorrem na pós-colheita dos frutos favorecem o ataque de patógenos (CHITARRA & CHITARRA, 1990). Durante o armazenamento, diversas mudanças nas características da polpa dos frutos, como o nível de acidez, a turgidez e a disponibilidade de nutrientes aumentam a suscetibilidade das células da parede celular às enzimas pectinolíticas produzidas pelos patógenos (BARKAI-GOLAN, 2001). A infecção dos frutos de macieira por *C. perennans* concentra-se quando o fruto está próximo da maturação de colheita, mas as

perdas maiores ocorrem durante e após o armazenamento (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2006).

Não há informações disponíveis sobre o uso prático da aspersão de água aquecida e da radiação UV-C no controle pós-colheita da podridão olho-de-boi em maçãs na linha de seleção comercial. O objetivo deste estudo foi testar, numa linha de seleção comercial, o efeito da aspersão de água aquecida e da radiação UV-C no controle da podridão olho-de-boi em maçãs 'Fuji' e 'Gala' inoculadas artificialmente e com infecção natural com diferentes períodos de armazenamento em condição de AC.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Centro de Pesquisa Proterra (CPPRO) e na empacotadora da empresa Rasip Agro Pastoril S.A., ambos localizados em Vacaria, RS. Para inoculação das maçãs foi utilizado o isolado *Cp* 5 de *Cryptosporiopsis perennans*, o qual foi obtido a partir de maçãs 'Fuji' com sintomas típicos de podridão olho-de-boi, provenientes de pomares da região de Vacaria, RS. O isolado foi cultivado e preservado em BDA a 2%.

A aplicação dos tratamentos físicos nos frutos foi realizada acoplando os equipamentos de aspersão de água aquecida e de radiação UV-C numa linha de seleção comercial (Marca Prodol), a qual possuía rolos de alumínio onde os frutos giravam a 12 rpm.

Para o tratamento térmico dos frutos foi utilizado um conjunto de aquecimento de água e outro de aspersão. O primeiro compreendeu um recipiente com resistências elétricas e termostato para controlar a temperatura. O segundo foi composto de nove barras a 30 cm cada, com cinco bicos de aspersão do tipo cone vazio cada, distanciados entre si em 25 cm, uma bomba e um motor. O sistema de aspersão foi ajustado para que a distância entre a saída do bico e o fruto fosse de 10 cm, sendo que a temperatura do tratamento foi aferida neste percurso.

O equipamento de radiação UV-C foi composto de nove lâmpadas UV-C (Marca Ecolume), com potência de 40 watts cada, distanciadas entre si 20 cm, emitindo radiação com comprimento de onda de 253,7 nanômetros, instaladas numa caixa de madeira dimensionada para que a radiação não fosse emitida para fora da linha de seleção, uma vez que poderia comprometer a saúde dos trabalhadores. A distância entre a fonte de radiação UV-C e o fruto foi de 10 cm. Antes da exposição das amostras, a radiação UV-C foi aferida conforme sugerido por Souza (2005), onde se obteve as irradiâncias espectrais das fontes monocromáticas, segundo normas técnicas NBR IEC 60335-2-27:2000 e NBR ISO/IEC

17025:2005 (ABNT, 2000; 2005). A irradiância foi medida com radiômetro manual UVX e o espectrorradiômetro RPS 900, com validação da calibração com o espectrorradiômetro IL2000, e a dose calculada em função do período de exposição à radiação utilizada.

No experimento 1 foram utilizados os seguintes tratamentos: 1) sem tratamento (testemunha); 2) aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos; 3) radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}; e 4) aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos e radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}. No experimento 2, os tratamentos avaliados foram: 1) sem tratamento (testemunha); 2) aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos; e 3) radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}. Neste capítulo, o tempo de aspersão de água aquecida e a dose de radiação UV-C diferiram dos experimentos dos capítulos 2 e 3 porque foram usados na linha de seleção comercial levando em conta as possibilidades reais de serem implementados nestas condições.

Experimento 1 – Maçãs 'Fuji' inoculadas e com infecção natural

Maçãs da cv. Fuji, apresentando calibre 135, com um, quatro e oito meses de armazenamento em condição de atmosfera controlada (temperatura de 0,5± 0,5°C, 1 a 1,5 kPa de O_2, 0,5 a 0,7 kPa de CO_2 e umidade relativa de 95 ± 5%) (AC), apresentando, na saída da câmara, teor de sólidos solúveis (SS) de 15,00, 13,46 e 13,45ºBrix e firmeza de polpa de 64,30, 76,11 e 71,46 Newtons (N), respectivamente, foram submetidas aos tratamentos físicos com e sem inoculação (infecção natural) de *C. perennans*.

Para a inoculação, as maçãs foram selecionadas e submetidas a uma desinfestação prévia com álcool. Em seguida, elas foram pulverizadas com uma suspensão de 1 x 10^7 conídios mL^{-1} de *C. perennans* e incubadas por sete dias a 22ºC, antes da aplicação dos tratamentos físicos. Para garantir a infecção dos frutos, o período de incubação testado aqui (sete dias) é superior ao dos experimentos descritos no capítulo 3 (24 horas). Os frutos com infecção natural foram submetidos aos tratamentos físicos da maneira como saíram do armazenamento. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram incubados a 22ºC e após 15 dias avaliada a incidência da podridão olho-de-boi.

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado em todos os experimentos. Para análise estatística, os dados de incidência foram transformados por arco seno $\sqrt{x}/100$ e submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM (PROC GLM) utilizando o programa SAS (SAS INSTITUTE, 2002), e as médias de tratamentos comparadas pelo testes de Tukey (P<0,05).

Experimento 2 - Maçãs 'Gala' inoculadas e com infecção natural

Maçãs 'Gala', de calibre 198, com cinco meses de armazenamento em condição de AC (temperatura de 1,5 ± 0,5°C, 2 kPa de O_2, 1,5 kPa de CO_2 e umidade relativa de 95 ± 5%), apresentando, na saída da câmara, SS de 11,70ºBrix e firmeza de polpa de 73,47 N, foram submetidas aos tratamentos físicos com e sem inoculação (infecção natural) de *C. perennans*.

Antes da inoculação, as maçãs foram selecionadas e desinfestadas com álcool. A inoculação foi por aspersão com uma suspensão de 1 x 10^7 conídios mL^{-1} de *C. perennans*. Os frutos foram incubados por 24 horas a 22ºC e submetidos aos tratamentos na linha de seleção. O período de incubação foi de 24 horas porque se avaliou a desinfestação dos frutos após os tratamentos, como descrito no capítulo 3.

Assim, logo após os tratamentos, quatro repetições de três frutos foram submetidas à lavagem por sonicação por 30 segundos, sendo usados 300 mL de água destilada e esterilizada para cada repetição. Alíquotas de 0,1 mL foram distribuídas em placas de Petri com meio seletivo para *C. perennans* (SPOLTI et al., 2010) e incubadas por sete dias a 22ºC, sob luz fluorescente contínua (tipo luz do dia). Nas placas, avaliou-se a sobrevivência de conídios recuperados da superfície dos frutos, estimada pelo número de unidades formadoras de colônias (UFC). Foram usadas três placas para contagem de colônias de cada repetição da lavagem.

Em amostras de maçãs inoculadas e submetidas aos diferentes tratamentos - oito repetições de 10 frutos - foi avaliada a incidência de POB após 15 dias de incubação a 22ºC.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado. Os dados de UFC foram transformados por $\sqrt{x+1}$ e de incidência foram transformados para arco seno $\sqrt{x/100}$, os quais foram submetidos à análise de variância pelo procedimento GLM (PROC GLM) utilizando o programa SAS (SAS INSTITUTE, 2002), e as médias de tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1 – Maçãs 'Fuji' inoculadas e com infecção natural

Maçãs 'Fuji', com 30 dias de armazenamento em condição de AC e inoculadas, apresentaram 66,66% de incidência da podridão olho-de-boi (POB) na testemunha, de modo que os tratamentos físicos quando testados de maneira isolada não diferiram entre si, porém todos diferiram da testemunha, e reduziram em mais de 81% a infecção causada por *C. perennans*. O melhor tratamento foi a combinação da aspersão de água aquecida a 50ºC por

12 segundos + radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}, de modo que os frutos submetidos a esse tratamento não apresentaram lesões típicas da doença causada por *C. perennans*, enquanto que aqueles tratados apenas com um dos métodos citados revelaram uma pequena percentagem de frutos infectados pelo patógeno (12,49%). Assim, nos frutos inoculados após 30 dias de armazenamento, a incidência da POB foi de 12,49% com o tratamento de aspersão de água aquecida à 50ºC por 12 segundos ou com radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}, e sem incidência da doença no tratamento com a associação dos dois métodos citados (aspersão de água aquecida à 50ºC por 12 segundos + radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}) (Tabela 4).

Tabela 4 - Incidência (%) e controle (%) da podridão olho-de-boi (POB) em maçãs 'Fuji', com um e oito meses de armazenamento em condição de AC, inoculadas, e submetidas aos tratamentos com aspersão de água aquecida e radiação UV-C na linha de seleção comercial.

Tratamento	Podridão olho-de-boi nos frutos inoculados			
	1 mês		8 meses	
	Incidência	Controle	Incidência	Controle
Testemunha	66,66a [(1)]	-	51,42a [(2)]	-
50ºC-12 s	12,49b	81,26	17,14b	66,66
UV-C*	12,49b	81,26	22,85b	55,56
50ºC-12 s + UV-C*	0,00c	100,00	17,14b	66,66
CV%	27,64	-	28,35	-

[(1)] Médias de 4 repetições de 3 frutos. [(2)] Médias de 7 repetições de 5 frutos. Dados seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. *Dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}.

Em maçãs 'Fuji', com oito meses de armazenamento em condição de AC e inoculadas, houve menor incidência da POB com todos os tratamentos testados quando comparados à testemunha. A incidência foi de 17,14, 22,85 e 17,14%, com aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos, radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}, e com os dois métodos associados, respectivamente, sendo que não houve diferença entre estes tratamentos, porém todos diferiram da testemunha, onde a incidência da POB foi de 51,42%.

A incidência de podridão olho-de-boi nas maçãs com infecção natural do tratamento testemunha variou de 10,66 a 15,55%, fato que comprova a importância desta doença. Nas maçãs 'Fuji', com infecção natural, e submetidas aos tratamentos com 30 dias de armazenamento em condição de AC, a incidência da POB na testemunha foi de 15,55%.

Nesta condição de armazenagem, os frutos submetidos aos tratamentos físicos apresentaram redução na incidência da POB que variou de 53 a 65%, quando comparados à testemunha. Os tratamentos de aspersão de água aquecida a 50ºC durante 12 segundos, radiação UV-C e a associação dos dois métodos reduziram a incidência da POB de 15,55% (testemunha) para 7,21, 5,55 e 5,55%, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5 - Incidência (%) e controle (%) da podridão olho-de-boi (POB) em maçãs 'Fuji', com um, quatro e oito meses de armazenamento em condição de AC, com infecção natural, e submetidas aos tratamentos com aspersão de água aquecida e radiação UV-C na linha de seleção comercial.

Tratamento	Podridão olho-de-boi nos frutos com infecção natural					
	1 mês		4 meses		8 meses	
	Incidência	Controle	Incidência	Controle	Incidência	Controle
Testemunha	15,55a [(1)]	-	11,09a [(2)]	-	11,66a [(3)]	-
50ºC-12 s	7,21b	53,63	6,08ab	45,17	3,33b	71,44
UV-C*	5,55b	64,30	2,32b	79,08	3,33b	71,44
50ºC-12 s + UV-C*	5,55b	64,30	-	-	2,49b	78,64
CV%	24,97	-	20,85	-	27,84	-

[(1)] Média de 6 repetições de 30 frutos. [(2)] Média de 4 repetições de 100 frutos. [(3)] Média de 4 repetições de 30 frutos. Dados seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro. *Dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}.

Nas maçãs 'Fuji', com quatro meses de armazenamento em condição de AC, a incidência de infecção natural da POB foi de 11,09%. Os frutos tratados com métodos físicos nesta condição de armazenagem apresentaram menor incidência da doença, porém houve diferença significativa apenas quando foi usada radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}, de modo que com este tratamento a incidência foi de 2,32%. O tratamento com aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos não diferiu da testemunha e apresentou 6,08% de incidência da POB.

A incidência da POB nos frutos 'Fuji' testemunha com oito meses de armazenamento em condição de AC foi de 11,66%. Os tratamentos físicos reduziram significativamente esta variável avaliada. Assim, a incidência da POB foi de 3,33% com aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos, de 2,49% com radiação UV-C, e de 3,33% com os dois métodos associados.

Os tratamentos com aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos reduziram a incidência da podridão olho-de-boi nos frutos 'Fuji' inoculados e com infecção natural com um, quatro e oito meses de armazenamento em condição de AC. Perdas causadas por *B. cinerea*, *P. expansum* ou por *Gloeosporium* spp. foram eliminadas no armazenamento em maçãs inoculadas e tratadas com temperaturas mais baixas que as usadas neste trabalho, porém com maior período de exposição. A exposição de maçãs a temperatura de 38ºC, durante quatro dias foi eficiente no controle de *P. expansum* (FALLIK et al., 1995; KLEIN et al., 1997). Os tratamentos por imersão em água aquecida, nas temperaturas de 42 a 48ºC por cinco a 20 minutos (EDNEY & BURCHILL, 1967), ou a imersão a 53ºC por 3 minutos, em maçãs com infecção natural, controlaram a POB (MAXIN et al., 2005). O período de aspersão de 12 segundos a 50ºC testado neste experimento com maçãs 'Fuji' é mais viável que os citados na literatura do ponto de vista prático, uma vez que as maçãs devem ser classificadas e embaladas no menor período possível para aumentar o rendimento da empacotadora e diminuir a demanda de energia necessária para o aquecimento e manutenção da temperatura desejada da água.

A radiação UV-C reduziu a incidência da POB em frutos inoculados e com infecção natural (Tabela 4 e 5). Conforme Lu et al. (1993), a radiação UV-C não penetra no tecido dos frutos, e, portanto não atinge infecções já estabelecidas. Alguns pesquisadores atribuem a redução de doenças à indução de resistência ao patógeno que a radiação UV-C causa no hospedeiro (BROWN et al., 2001; STEVENS et al., 2004; STEVENS et al., 2005). Segundo Stevens et al. (1996), em maçãs 'Golden Delicious', a melhor dose de radiação UV-C para redução de podridões pós-colheita causadas por *Monilinia* spp., *Alternaria* spp. e *C. gloeosporioides* foi de 7,5 x 10^4 ergs mm^{-2}, sendo que as doses testadas variaram de 0 a 40 x 10^4 ergs mm^{-2}. Os mesmos autores observaram nos experimentos conduzidos em dois anos que o patógeno de mais difícil controle foi *Alternaria* spp.. Enquanto isso, para redução das infecções naturais causadas por *P. digitatum*, *A. citri* e *Geotrichum candidum* em tangerinas 'Dancy', as doses mais efetivas variaram de 0,84 x 10^4 a 3,6 x 10^4 ergs mm^{-2}, sendo que a dose de 1,3 x 10^4 ergs mm^{-2} foi eficiente contra *P. digitatum* (STEVENS et al., 1996).

Experimento 2 - Maçãs 'Gala' inoculadas e com infecção natural

O número de unidades formadoras de colônias (UFC) de *C. perennans* recuperadas de maçãs 'Gala' inoculadas foi significativamente menor nos tratamentos de aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos e de radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}, em

relação à testemunha. Nos frutos inoculados, houve redução na incidência da POB com ambos os métodos físicos testados, sendo que eles não diferiram entre si (Tabela 6).

Tabela 6 – Unidades formadoras de colônias (UFC) de *Cryptosporiopsis perennans* e seu controle (% em relação à testemunha); incidência (%) e controle (%) da podridão olho-de-boi (POB) em maçãs 'Gala' com 5 meses de armazenamento em AC, inoculadas e submetidas aos tratamentos físicos na linha de seleção comercial.

Tratamento	Frutos inoculados			
	UFC	Controle (%)	Incidência da POB (%)	Controle da POB (%)
Testemunha	19,16a [(1)]	-	59,51a [(2)]	-
50ºC - 12 s	2,49b	86,98	17,50b	70,59
UV-C*	0,00b	100,00	18,37b	69,13
CV (%)	29,10	-	14,67	-

[(1)] Médias de quatro repetições de três placas cada. [(2)] Médias de oito repetições de 10 frutos. Dados seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05%). *Dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}.

A incidência de infecção natural da POB na cv. Gala, com cinco meses de armazenamento em condição de AC, foi de 2,09% na testemunha, e de 0,31 e 0,16% após os tratamentos de aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos e de radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}, respectivamente. Todos os tratamentos testados diferiram da testemunha (sem tratamento) (Tabela 7).

Tabela 7 - Incidência (%) e controle (%) da podridão olho-de-boi (POB) em maçãs 'Gala' com 5 meses de armazenamento em AC, com infecção natural, e submetidas aos tratamentos físicos na linha de seleção comercial.

Tratamento	Infecção natural	
	Incidência (%) da POB	Controle (%) da POB
Testemunha	2,09a [(1)]	-
50ºC - 12 s	0,31b	85,16
UV-C*	0,16b	92,34
CV (%)	12,58	-

[(1)] Médias de quatro repetições de 100 frutos. Dados seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05%). *Dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2}.

Os conídios de *C. perennans* podem estar presentes nas lenticelas após a colheita, mesmo em frutos provenientes de pomares protegidos quimicamente durante o ciclo vegetativo, já que estas estruturas restringem o acesso de fungicidas (EDNEY, 1970). Dugan et al. (1993) relatou que os conídios deste patógeno tendem a aderir nas lenticelas e nas rachaduras da cutícula. O controle ‘in vitro’ de *C. perennans* foi possível com a temperatura de 50ºC por 15 segundos (BARTNICKI et al., 2010). Neste trabalho o tratamento com aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos reduziu em 86,98% o número de UFC nos frutos tratados após 24 horas da inoculação com o patógeno (Tabela 6). Este resultado confirma a eficiência deste método na redução dos propágulos deste patógeno em maçãs na linha de seleção comercial em pós-colheita, o qual já havia sido demonstrado em linha de seleção experimental (BARTNICKI et al., 2010).

Em maçãs 'Gala' inoculadas com *C. perennans* e tratadas com aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos, a redução da incidência (%) da POB pode ser atribuída ao efeito letal da temperatura (LURIE, 1998) e da remoção dos esporos através da aspersão (COUEY, 1989), uma vez que as amostras da lavagem dos frutos mostraram uma redução superior a 86% nas UFC. Além disso, um fator importante e que deve a ser considerado é que a viabilidade e o potencial patogênico dos patógenos podem ser mantidos nas estruturas submetidas ao tratamento térmico, de modo que eles podem recuperar-se quando são transferidos para meio com nutriente, como é o caso da superfície dos frutos ou o meio de cultura (BDA) (BEN-YEHOSHUA et al., 2000).

A redução de UFC de *C. perennans* da superfície dos frutos 'Gala' inoculados e tratados com radiação UV-C pode ser atribuída ao efeito germicida da radiação. Conforme Wolfe (1990), este efeito ocorre pela destruição de estruturas do patógeno, inibição da germinação ou retardo no desenvolvimento do fungo, pela desnaturação protéica e desorganização da membrana plasmática. Em condições de manejo comercial, Valdebenito-Sanhueza & Maia (2001) atribuíram o controle de *P. expansum*, em maçãs 'Fuji' com alta contaminação, ao efeito germicida da radiação UV-C, uma vez que ocorreu redução de 90 a 100% dos propágulos presentes na superfície dos frutos. O controle ‘in vitro’ de *C. perennans* foi obtido com a dose de 0,750 x 10^4 ergs mm^{-2} e, ‘in vivo’, em maçãs 'Fuji', numa linha de seleção experimental, com a dose de 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2} (BARTNICKI et al., 2010). Neste trabalho, a dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2} foi eficiente na redução de conídios de *C. perennans* presentes na superfície de maçãs 'Gala'.

O tratamento térmico reduz as podridões pós-colheita de frutos através do efeito letal da temperatura sobre o patógeno (LURIE, 1998) ou pela formação de substâncias antifúngicas

na epiderme aquecida, caracterizada como indução de resistência (SCHIRRA et al., 2000). Conforme Fallik et al. (1995), a redução de podridões em maçãs 'Golden Delicious' inoculadas com *P. expansum* e tratadas com ar aquecido a 38ºC por quatro dias foi devida principalmente ao efeito direto da alta temperatura sobre o patógeno. Outros resultados suportam a evidência de que o tratamento térmico pode induzir mecanismos de defesa em frutos nas camadas mais externas do epicarpo, o que inibe a infecção quiescente de patógenos (PORAT et al., 2000). A aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos reduziu o número de podridões em maçãs 'Gala' com infecção natural (Tabela 7), possivelmente evitando infecções iniciais através da remoção de esporos dormentes e atuando diretamente sobre a sua viabilidade (COUEY, 1989), e, provavelmente inibindo infecções através da indução de resistência nos tecidos dos frutos (SCHIRRA et al., 2000). A indução de resistência poderia ser confirmada se os frutos tivessem sido inoculados após os tratamentos. Porém, avaliou-se apenas a infecção natural de *C. perennans*, que corresponde ao patógeno presente no fruto antes da colheita, mas devido aos mecanismos de defesa do mesmo não há manifestação de sintomas da doença (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 2006). Assim, em pós-colheita, quando diminuem os mecanismos de defesa dos frutos, associado às temperaturas próximas de 20ºC, o patógeno desenvolve a podridão (EDNEY, 1956). No Brasil, as práticas para redução de inóculo de *C. perennans* e de outros patógenos em pós-colheita baseiam-se principalmente no uso de desinfetantes nos tanques de lavagem dos frutos. Os desinfetantes, assim como os fungicidas usados em pré-colheita, têm sua eficiência limitada no controle deste patógeno, já que os conídios dele tendem a aderir nas lenticelas (DUGAN et al., 1993), estruturas estas que restringem o acesso de fungicidas (EDNEY, 1970).

A radiação UV-C na dose de 2,4 x 10^4 ergs mm^{-2} induziu a síntese da fitoalexina trans-resveratrol em maçãs 'Fuji', porém não foi eficiente no controle da podridão causada por *P. expansum* após sete meses de armazenamento em AC (SAUTTER et al., 2008). Entretanto, em maçãs 'Golden Delicious', a dose de 7,5 x 10^4 ergs mm^{-2} reduziu a incidência e severidade de podridões causadas por *C. gloeosporioides* e *Alternaria* spp. (STEVENS et al., 1996). Stevens et al. (2005) usaram a dose de radiação UV-C de 7,5 x 10^4 ergs mm^{-2}, para a indução de resistência e redução de podridões em maçãs 'Golden Delicious' inoculadas com *C. gloeosporioides*. Em mirtilos 'Collins' e 'Bluecrop' a incidência de podridões, principalmente por *Colletotrichum acutatum*, foi reduzida em 10% quando expostos as doses de radiação UV-C de 1 x 10^4 a 4 x 10^4 ergs mm^{-2} (PERKINS-VEAZIE et al., 2008). Neste trabalho, a radiação UV-C, em dose bem menor do que as citadas por outros autores, reduziu a incidência da podridão olho-de-boi em maçãs 'Gala' com infecção natural (Tabela 7). Conforme Luckey

(1980), baixas doses de radiação podem induzir um efeito hormético nos tecidos vegetais, ocorrendo um estímulo para respostas benéficas.

Os tratamentos com água aquecida e radiação UV-C apresentam como benefícios o curto período de exposição necessário para o controle do patógeno, a existência de equipamentos de segurança acessíveis e o fato de não deixarem resíduos na superfície dos frutos. Contudo, para assegurar menores perdas de frutos, a radiação UV-C pode ser vantajosa às embaladoras de maçãs, principalmente pelo menor investimento.

4.5 CONCLUSÃO

Em maçãs 'Fuji' armazenadas em condição de AC por um e oito meses, inoculadas ou com infecção natural, o uso da aspersão de água aquecida a 50ºC durante 12 segundos e/ou radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2} reduz a incidência da podridão olho-de-boi.

A aspersão de água aquecida a 50ºC durante 12 segundos ou a radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2} em maçãs 'Gala', com cinco meses de armazenamento em AC, reduz o número de unidades formadoras de colônias e de podridões em frutos inoculados com *C. perennans*; e da podridão olho-de-boi nas maçãs com infecção natural.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os tratamentos com água aquecida ou radiação UV-C reduziram a sobrevivência de *Cryptosporiopsis perennans* ‘in vitro’. O tratamento com água aquecida a 50ºC durante 15 segundos e a dose de radiação UV-C de 0,75 x 10^4 ergs mm^{-2} reduzem em mais de 99% a sobrevivência dos conídios de *C. perennans* ‘in vitro’.

A sensibilidade ‘in vitro’ de outros patógenos causadores de doenças de maçãs que ocorrem em pós-colheita deverá ser testada em trabalhos posteriores com os métodos físicos.

Sugere-se a avaliação, em trabalhos futuros, dos efeitos de tratamentos com água aquecida e radiação UV-C no crescimento micelial de *C. perennans*.

A desinfestação de maçãs 'Gala', 'Fuji' e 'Pink Lady' inoculadas artificialmente com *Cryptosporiopsis perennans* é obtida com aspersão de água aquecida a 50ºC por 15 segundos ou a dose de radiação UV-C de 0,375 x 10^4 ergs mm^{-2}. A desinfestação destas cultivares, inoculadas com outros patógenos de pós-colheita, como *P. expansum*, deverá ser avaliada posteriormente.

Os tratamentos com aspersão de água aquecida a 50ºC por 12 segundos e com radiação UV-C na dose de 0,0069 x 10^4 ergs mm^{-2} reduziram a incidência da podridão olho-de-boi em maçãs 'Gala' e 'Fuji' inoculadas e com infecção natural.

É recomendada a avaliação dos tratamentos testados, na linha de seleção, em maçãs 'Fuji' de outros calibres, e em maçãs 'Gala' com outras maturações e calibres.

Temperaturas de tratamento térmico e doses de radiação UV-C mais elevadas e por menor tempo, deverão ser estudadas futuramente, tanto nos trabalhos ‘in vitro’ como ‘in vivo’.

A avaliação da indução de resistência em maçãs tratadas com os métodos físicos será de grande importância, uma vez que os efeitos letal, da alta temperatura, e germicida, da radiação UV-C, já foram observados ‘in vitro’ e ‘in vivo’.

Alguns dos patógenos que infectam as maçãs também infectam frutos de outras pomáceas. Assim, o efeito destes tratamentos físicos poderá ser avaliado no controle de patógenos em pêra, pêssego e ameixa, que são classificados e embalados através de processos semelhantes aos da maçã.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃS. **Informações Estatísticas**. Disponível em: www.abpm.org.br - Acesso em 10/01/2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO/IEC 17025 – Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração**. Rio de Janeiro, 2005. 31p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR IEC 60335-2-27 - Requisitos particulares para aparelhos de exposição da pele a radiação ultravioleta e infravermelho**. Rio de Janeiro, 2000, 12p.

AYLOR, D.E.; SANOGO, S. Germinability of *Venturia inaequalis* conidia exposed to sunlight. **Phytopathology**, v.87, p.628-633, 1997.

BAKER, K.F.; SMITH, W.L. Heat-induced ultrastructural changes in germinating spores of *Rhizopus stolonifer* and *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, v.60, p.869-874, 1969.

BARKAI-GOLAN, R. Means for maintaining host resistance. In: BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables**: development and control. Elsevier Science, 2001. p.108-146.

BARKAI-GOLAN, R.; PHILLIPS, D.J. Postharvest heat treatment of fresh fruits and vegetables for decay control. **Plant Disease**, v.75, p.1085-1089, 1991.

BARTNICKI, V.A., et al. Água aquecida e radiação UV-C no controle pós-colheita de *Cryptosporiopsis perennans* em maçãs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.124-131, 2010.

BEN-YEHOSHUA, S., et al. Postharvest application of hot water treatment in citrus fruits: The road from the laboratory to the packing-house. **Acta Horticulturae**, n.518, p.19-28, 2000.

BOGO, A.; MAFFIOLETTI, M.A.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; CASA, R.T. Caracterização morfológica de isolados de *Cryptosporiopsis perennans* em diferentes meios de cultura. **Tropical Plant Pathology**, v.33, p.248-251, 2008.

BOOTH, R.H.; BURDEN, O.J. Pérdidas de postcosecha. In: THE COMMON-WEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. **Manual para patologos vegetables**. Kew: CAB; FAO, p.162-179, 1986.

BROWN, J.E. et al. The effect of low dose ultraviolet light-C seed treatment on induced resistance in cabbage to black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*). **Crop Protection**, v.20, p.873-883, 2001.

BRUTON, B.D. Mechanical injury and latent infections leading to postharvest decay. **HortScience**, v.29, p.747-749, 1994.

BURCHILL, R.T. Hot water as a possible postharvest control of Gloeosporium rots of stored apples. **Plant Pathology**, v.13, p.106-107, 1964.

CAMILI, E.C. et al. Avaliação de irradiação UV-C aplicada em pós-colheita na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.306-313, 2004.

CARDOSO, C.F. **Avaliação da esterilização de filme de polietileno com peróxido de hidrogênio e radiação ultravioleta**. 2007. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: fisiologia e manuseio. Lavras: FAEPE; ESAL, 1990. 293p.

CIVELLO, P.M. et al. Heat treatments delay ripening and postharvest decay of strawberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.4589-4594, 1997.

CONWAY, W., et al. Improving biocontrol using antagonist mixtures with heat and/or sodium bicarbonate to control postharvest decay of apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.36, p.235-244, 2005.

COUEY, H.M. Heat treatment for control of postharvest diseases and insect pests of fruits. **HortScience**, v. 24, p.198-202, 1989.

CREASY, L.L.; COFFEE, M. Phytoalexin production potential of grape berries. **Journal American Society Horticultural Science**, v.113, p.230-234, 1988.

DE CAL, A.; MELGAREJO, P. Effects of long-wave UV light on *Monilinia* growth and identification of species. **Plant Disease**, v.83, p.62-65. 1999.

DUGAN, F.M.; GROVE, G.G.; ROGERS, J.D. Comparative studies of *Cryptosporiopsis curvispora* and *C. perennans*. I. Morphology and Pathogenic Behavior. **Mycologia**, v.85, p.551-564, 1993.

ECKERT, J.W.; OGAWA, J.M. The chemical control of postharvest diseases: Deciduous fruits, berries, vegetables and root/tuber crops. **Annual Review Phytopathology**, v.26, p.433-469, 1988.

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

EDNEY, K.L. Some experiments with thiabendazole and benomyl as post harvest treatments for the control of storage rots of apples. **Plant Pathology**, v.19, p.189-193, 1970.

EDNEY, K.L. The rotting of apples by *Gloeosporium perennans* Zeller & Childs. **Annals of Applied Biology**, v.44, p.113-128, 1956.

FALLIK, E. et al. Prestorage heat treatment reduces pathogenicity of *Penicillium expansum* in apple fruit. **Plant Pathology**, v.45, p.92-97, 1995.

FALLIK, E. et al. Ripening characterisation and decay development of stored apples after a short pre-storage hot water rinsing and brushing. **Innovative Food Sciences & Emerging Technologies**, v.2, p.127-132, 2001.

FALLIK, E.; GRINBERG, S.; ALKALAI, S. A unique rapid hot water treatment to improve storage quality of sweet pepper. **Postharvest Biology and Technology**, v.15, p.25-32, 1999.

FERGUSON, I.B. et al. Postharvest heat treatments: introduction and workshop summary. **Postharvest Biology and Technology**, v.21, p.1-6, 2000.

FRITZENHEIMER, K.H.; KINDL, H. Coordinate induction by UV light of stilbene synthase, phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate 4-hydroxylase in leaves of Vitaceae. **Planta**, v.151, p.48-52, 1981.

GARIEPY, T.D. et al. *Neofabraea* species associated with bull's-eye rot and cankers of apple and pear in the Pacific Northwest. **Canadian Journal Plant Pathology**, v.27, p.118-124, 2005.

GIRARDI, C.L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; BENDER, R.J. **Manejo Pós-Colheita e Rastreabilidade na Produção Integrada de Maçãs**. Embrapa Uva e Vinho, ISSN 1516-5914; 23p. Bento Gonçalves, RS, junho, 2002. (Circular Técnica, 31).

GROVE, G.G.; DUGAN, F.M.; BOAL, R.J. Perennial Canker of Apple: Seasonal Host Susceptibility, Spore Production, and Perennation of Cryptosporiopsis perennans in Infected Fruit in Eastern Washington. **Plant Disease**, v.76, p.1109-1114, 1992.

GULLINO, M.L. Lotta biologica a funghi agenti di marciumi della frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatologico**, v.4, p.5-13, 1994.

HADWIGER, L.A.; SCHWOCHAU, M.E. Ultraviolet light-induced formation of pisatin and phenylalanine ammonia-lyase. **Plant Physiology**, v.47, p.588-590, 1971.

ISLAM, S.Z.; HONDA, I.; SONHAJI, M. Phototropism of conidial germ tubes of *Botrytis cinerea* and its implication in plant infection processes. **Plant Disease**, v.82, p.850-856, 1998.

KARABULUT, O.A.; COHEN, L.; WIESS, B. Control of brown rot and blue mold of peach and nectarine by short hot water brushing and yeast antagonists. **Postharvest Biology and Technology**, v.24, p.103-111, 2002.

KIENHOLZ, J.R. The bull's-eye rot problem of apples and pears. **Annual Report Oregon State Horticulture Society**, v.43, p.75-77, 1951.

KLEIN, J.D. et al. *Botrytis cinerea* decay in apple is inhibited by postharvest heat and calcium treatments. **Journal American Society Horticultural Science**, v.122, p.91-94, 1997.

LEVERENTZ, B., et al. Combining yeasts or a bacterial biocontrol agent and heat treatment to reduce postharvest decay of 'Gala' apples. **Postharvest Biology and Technology**, v.21, p.87-94, 2000.

LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stresses**. In: WATER radiation salt and other stresses. New York: Academic Press, v.2. p.25-211, 1980.

LU, J.Y. et al. Gamma, electron beam, and ultraviolet radiation on control of storage rots and quality of 'Walla Walla' onions. **Journal of Food Processing Preservation**, v.12, p.53-62, 1987.

LU, J.Y. et al. Low dose UV and gamma radiation on storage rot and physicochemical changes in peaches. **Journal Food Quality**, v.16, p.301-309, 1993.

LU, J.Y. et al. The effect of ultraviolet irradiation on shelf-life and ripening of peaches and apples. **Journal Food Quality**, v.14, p.299-305, 1991.

LUCKEY, T.D. **Hormesis with ionizing radiation**. Boca Raton: CRC Press, 1980. 222p.

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.

LURIE, S. Postharvest heat treatments of horticultural crops. **Horticultural Reviews**, v.22, p.91-121, 1998.

MARQUENIE, D. et al. Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and heat treatment. **International Journal of Food Microbiology**, v.74, p.27-35, 2002.

MAXIN, P. et al. Control of postharvest decay in organic grown apples by hot water treatment. **Acta Horticulturae**, n.682, p.2153-2158, 2005.

MELLO, L.M.R. **Produção e mercado brasileiro da maçã**. . Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004. 4p. (Comunicado Técnico 50).

MOY, J.H. Radurization and radication: fruits and vegetables. In: Josephson E.S., Peterson M.S. (Ed.) **Preservation of Food by Ionizing Radiation**. Boca Raton: CRC Press, 1983. v.3, cap.3, p.83-108.

NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; LIMA, G. Use of UV-C light to reduce *Botrytis* storage rot of table grape. **Postharvest Biology and Technology**, v.13, p.171-181, 1998.

OSTER, A.H. **Tratamento com calor no controle de** *Botryosphaeria dothidea* **(Moug.) Ces. & De Not.) em maçãs cv. Fuji**. 2004. 85p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PERKINS-VEAZIE, P; COLLINS, J.K.; HOWARD, L. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. **Postharvest Biology and Technology**, v.47, p.280-285, 2008.

PORAT, R. et al. Induction of resistance to *Penicillium digitatum* and chilling injury in 'Star Ruby' grapefruit by a short hot water rinse and brushing treatment. **Journal Horticultural Science & Biotechnology**, v.75, p.428–432, 2000.

PUSEY, P.L.; WILSON, C.L.; WISNIEWSKI, M.E. Management of postharvest diseases of fruits and vegetables: strategies to replace vanishing fungicides. In: ALTMAN, J. (Ed) **Pesticide interaction in crop production:** beneficial deleterious effect. Boca Raton: CRC Press, 1993. p.477-492.

RODOV, V. et al. Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips. **Posharvest Biology and Technology**, v.5, p.119-127, 1994.

SAMS, C.E. et al. Firmness and decay of apples following postharvest pressure infiltration of calcium and heat treatment. **Journal American Society Horticultural Science**, v.118, p. 623-627, 1993.

SAS INSTITUTE. **Getting started with the SAS learning edition**. Cary: SAS, 2002. 200p.

SAUTTER, C.K. et al. Síntese de trans-resveratrol e controle de podridão em maçãs com uso de elicitores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1097-1103, 2008.

SCHIRRA, M. et al. Host-pathogen interactions modulated by heat treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v.21, p.71-85, 2000.

SCRIVEN, F.M.; NDUNGURU, G.T.; WILLS, R.B. H. Hot water dips for the control of pathological decay in sweet potato. **Scientia Horticultural**, v.35, p.1-5, 1988.

SHAFFER, J.J. et al. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage UNL-1, a bacterial virus with a novel uv-A-inducible DNA damage reactivation phenotype. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, p.2606-2613, 1999.

SHOLBERG, P.L.; HAAG, P.D. Incidence of postharvest pathogens of stored apples in British Columbia. **Canadian Journal Plant Pathology**, v.18, p.81-85, 1996.

SOUZA, J.A.V. **Modelo experimental para um novo padrão de espectro de ação**. 2005. 77p. Dissertação (Mestrado) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

SPOLTI, P.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; DEL PONTE, E.M. Meio semiseletivo para recuperação e quantificação de *Cryptosporiopsis perennans* em maçãs. **Ciência Rural**, v.40, p.661-665, 2010.

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**, v.24, p.756-759, 2005.

STEVENS, C. et al. Plant hormesis induced by ultraviolet light C for controlling postharvest diseases of tree fruits. **Crop Protection**, v.15, p.129-134, 1996.

STEVENS, C. et al. The effects of low-dose ultraviolet light-C treatment on polygalacturonase activity, delay ripening and *Rhizopus* soft rot development of tomatoes. **Crop Protection**, v.23, p.551-554, 2004.

STEVENS, C. et al. The germicidal and hormetic effect of UV-C light on reducing brown rot and yeast microflora of peaches. **Crop Protection**, v.17, p.75-84, 1998.

STEVENS, C. et al. Ultraviolet light induced resistance against postharvest diseases in vegetables and fruits. In: WILSON, C.; CHALUTZ, E. (Ed.). **Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables**. Washington: U.S. Department of Agriculture, 1991, p.268-290.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. **Desinfecção de água e das câmaras frigoríficas para diminuição do inóculo de** *Penicillium expansum*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1991. 20p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 21).

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. et al. **Características e controle da podridão olho-de-boi nas maçãs do Sul do Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 12p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 66).

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. et al. **Manejo das doenças de verão na produção integrada de maçã**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2002. 12p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 36).

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; MAIA, L. **Utilização da luz ultravioleta (UV-C) na proteção de maçãs 'Fuji' da podridão por** *Penicillium expansum*. Bento Gonçalves:

Embrapa Uva e Vinho, 2001. 20p. (Embrapa Uva e Vinho. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 10).

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Ocorrência de *Cryptosporiopsis perennans* em macieiras 'Fuji' no Sul do Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.28, p.204-206, 2002.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. **Podridão de frutos e cancro dos ramos causados por** *Cryptosporiopsis perennans* **nas macieiras**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2001. 8p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 29).

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. **Recomendações para o controle pós-colheita das podridões de maçãs**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1996. 4p. (Comunicado Técnico 21).

WILSON, C.L. et al. Biological control of post-harvest diseases of fruits and vegetables: alternatives to synthetic fungicides. **Crop Protection**, v.10, p.172-177, 1991.

WILSON, C.L. et al. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant Disease**, v.78, p.837-844, 1994.

WILSON, C.L.; PUSEY, P.L. Potential for biological control of postharvest plant diseases. **Plant Disease**, v.69, p.375-378, 1985.

WOLFE, R.L. Ultraviolet disinfection of potable water. **Environmental Science & Technology**, v.24, p.768-773, 1990.

YAUN, B.R. et al. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. **International Journal of Food Microbiology**, v.90, p.1-8, 2004.