

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUL DE
MINAS GERAIS - IFSULDEMINAS**

Karoline Dias Paiva

**EXTRATO DA ALGA *Ascophyllum nodosum* COMO CONTROLE ALTERNATIVO DA
PODRIDÃO MOLE EM FRUTOS DE MORANGUEIRO PÓS-COLHEITA**

**MACHADO/MG
2019**

Karoline Dias Paiva

**EXTRATO DA ALGA *Ascophyllum nodosum* COMO CONTROLE ALTERNATIVO DA
PODRIDÃO MOLE EM FRUTOS DE MORANGUEIRO PÓS-COLHEITA**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS,
como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do
título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dalilla Carvalho
Rezende

**MACHADO/MG
2019**

P168e Paiva, Karoline Dias.

Extrato da alga *Ascophyllum nodosum* como controle alternativo da podridão mole em frutos de morangueiro pós-colheita / Karoline Dias Paiva. -- Machado: [s.n.], 2019.

35p. : il.

Orientadora: Prof^a. Dra. Dalilla Carvalho Rezende

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado

Inclui bibliografia

1. Morango – Doenças e pragas. 2. Fruticultura.
3. Alimentos – Qualidade. I. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado. II. Título.

CDD: 634.75

Karoline Dias Paiva

**EXTRATO DA ALGA *Ascophyllum nodosum* COMO CONTROLE ALTERNATIVO DA
PODRIDÃO MOLE EM FRUTOS DE MORANGUEIRO PÓS-COLHEITA**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e Tecnologia
de Alimentos, para a obtenção do título de Mestre

Aprovada em 29 de Março de 2019.

Dr. João Henrique Carvalho Batista

Prof^ª. Dr^ª. Brígida Monteiro Villas Boas
Instituto Federal de Ensino, Ciência e
Tecnologia do Sul de Minas Gerais –
Campus Machado

Prof^ª. Dr^ª. Dalilla Carvalho Rezende
Instituto Federal de Ensino, Ciência e
Tecnologia do Sul de Minas Gerais –
Campus Machado

Dedico este trabalho aos meus pais que sempre me incentivaram a estudar e aos que estiveram presentes nessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

Às meninas Fernanda Ananias e Tamiris Aparecida dos Santos pelo apoio no desenvolvimento do trabalho, esforço e dedicação;

À Prof^a. Dr^a. Dalilla Carvalho Rezende pela atenção, compreensão, paciência e ensinamentos; e aos demais professores do programa pelos conhecimentos adquiridos;

Ao Leandro por acompanhar o início do desenvolvimento do projeto nas dependências do laboratório;

A Prof^a Dr^a Brígida e Maria Beatriz pelo apoio ao programa de pós-graduação;

À Deus pela oportunidade;

Aos meus pais pela paz e segurança transmitida todos os dias;

Ao Marcelo pelo incentivo e por não me deixar desistir; ao Juninho por ceder o Extrato de Algas para execução do trabalho;

Ao Laboratório Iberpharm pelos dias cedidos ao estudo e por confiar no meu trabalho; aos colegas por colaboraram com as atividades em minha ausência;

Aos colegas do programa de pós-graduação que me deram as mãos.

“Eu sou parte de uma equipe. Então, quando venço, não sou eu apenas quem vence. De certa forma termino o trabalho de um grupo enorme de pessoas.”

Ayrton Senna

EXTRATO DA ALGA *Ascophyllum nodosum* COMO CONTROLE ALTERNATIVO DA PODRIDÃO MOLE EM FRUTOS DE MORANGUEIRO PÓS-COLHEITA

RESUMO

A conservação dos alimentos é fator impactante na aparência e qualidade de frutas e hortaliças. Doenças pós-colheita como a podridão mole, causada pelo fungo *Rhizopus stolonifer* em frutos do morangueiro deixam o produto menos atrativo e aplicação de agrotóxicos para o controle do patógeno pode acarretar toxicidade aos consumidores e meio ambiente. Nesse contexto, a aplicação de biofertilizantes como o extrato da alga *Ascophyllum nodosum* pode ser utilizado como possível ferramenta para o manejo de doenças pós-colheita. Nesse sentido, objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do produto comercial à base de extrato da alga de *A. nodosum* na inibição do patógeno *R. stolonifer*, bem como, verificar o uso do produto como ferramenta para o manejo pós-colheita da podridão mole em frutos morangueiro. Foi utilizado um produto comercial à base de extrato da alga *A. nodosum*, onde testes realizados *in vitro* avaliaram a influência do extrato no crescimento micelial do patógeno. Para tanto, o produto foi adicionado em diferentes concentrações em meio Batata-dextrose-ágar (BDA) e em seguida inoculados com um disco de *R. stolonifer*, o crescimento micelial do fitopatógeno foi medido diariamente. Em frutos orgânicos de morangueiro, a concentração de 40 mL.L⁻¹ do extrato de algas foi aplicado por imersão durante 5 minutos e 24h depois os mesmos foram inoculados com o patógeno via aspersão (concentração 1 x 10⁵ esporos mL.L⁻¹) e via disco de micélio contendo. Esses frutos foram acondicionados sob temperatura de 25°C durante 72h e avaliados quanto incidência da doença. O produto à base de extrato e algas reduziu o crescimento do patógeno *in vitro* a partir da concentração 5 mL.L⁻¹ inibindo totalmente em 40 mL.L⁻¹. A inoculação via aspersão de esporos não se mostrou eficiente nos ensaios realizados. Nos frutos inoculados via disco de micélio houve redução de 22,3 % de incidência da doença. Os resultados desse trabalho sugerem que o produto à base de extrato de algas marinhas possui potencial para ser utilizado no manejo da podridão mole e conseqüentemente aumentar a vida de prateleira de frutos de morangueiro.

Palavras-chave: Biofertilizante. Sustentabilidade. Morango. Segurança alimentar. Bioestimulante.

***Ascophyllum nodosum* EXTRACT AS ALTERNATIVE CONTROL OF SOFT ROT IN POSTHARVEST IN STRAWBERRY FRUIT**

ABSTRACT

The conservation of food is a striking factor in the appearance and quality of fruits and vegetables. Post-harvest diseases such as soft rot caused by the fungus *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits make the product less attractive and the application of agrochemicals to control the pathogen can lead to toxicity to consumers and the environment. In this context, the application of biofertilizers as seaweed extract of the *Ascophyllum nodosum* can be used as a possible tool for the management of post-harvest diseases. In this sense, the objective of this work was to evaluate the potential of the commercial product based on *A. nodosum* seaweed extract in the inhibition of the *R. stolonifer* pathogen, as well as to verify the use of the product as a tool for post-harvest handling of soft rot on strawberry fruits. A commercial product based on extract of the seaweed *Ascophyllum nodosum* was used, where *in vitro* tests evaluated the influence of the extract on the mycelial growth of the pathogen. For this, the product was added in different concentrations in Potato-Dextrose-Agar medium (PDA) and then inoculated by pathogen *R. stolonifer*, the mycelial growth was measured daily. In organic strawberry fruits, was applied by immersion during 5 minutes the seaweed extract in 40 mL.L⁻¹ concentration and 24 h later the fruits were inoculated with the pathogen by spraying (concentration 1 x 10⁵ spores.mL⁻¹) and by *R. stolonifer* disk mycelium. The fruits were conditioned in temperature around 25 °C during 72 h and evaluated the disease incidence. The product based on seaweed extract reduced the pathogen growth *in vitro* from the concentration 5 mL.L⁻¹ and inhibited totally in 40 mL.L⁻¹. Inoculation by spray of spores was not efficient in the assays. In fruits inoculated by mycelial disk there was a reduction of 22.3% of incidence disease. The results of this work suggest that the product based on seaweed extract has potential soft rot management and consequently increase the shelf life of strawberry fruits.

Keywords: Biofertilizer. Sustainability. Strawberry. Food safety. Biostimulant.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 01	11
1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 Fruticultura	12
2.2 Morango	13
2.2.1 Morangos no Brasil.....	14
2.3 <i>Rhizopus stolonifer</i>	15
2.4 <i>Ascophyllum nodosum</i>	17
2.5 Qualidade dos alimentos e meio ambiente	19
3 REFERÊNCIAS.....	22
CAPÍTULO 02	26
ABSTRACT	26
INTRODUCTION	26
MATERIAL AND METHODS.....	27
RESULTS AND DISCUSSION.....	29
CONCLUSION.....	34
REFERENCES	34

CAPÍTULO 01

1 INTRODUÇÃO

A fruticultura está entre os principais geradores de renda, emprego e de desenvolvimento rural no agronegócio brasileiro, principalmente no sul do Estado de Minas Gerais. Além disso, a demanda mundial por frutas e hortaliças vem crescendo devido a conscientização da população acerca da importância de uma alimentação saudável. Entretanto, um dos principais entraves na produção e comercialização desses produtos são as expressivas perdas pós-colheita, principalmente nos países em desenvolvimento como o Brasil (IBRAF, 2015; FISCHER et al. 2007; 2011; GALLI et al. 2012; HENZ et al. 2008; PEARSON; GOHEEN, 1990).

Entre as frutas com destaque na produção brasileira encontra-se o morango importante para o mercado regional sendo seu plantio e comercialização atividades comuns entre pequenos produtores. Na pós-colheita algumas doenças têm causado grandes prejuízos nessa cultura, principalmente a podridão mole, cujo agente causal é fungo *Rhizopus stolonifer* (AGRIOS, 2005).

O uso de agrotóxicos na pós-colheita torna-se um problema devido aos resíduos químicos presentes nos frutos tornando o produto menos atrativo para o consumidor. A exposição dos animais e meio ambiente à toxicidade proveniente dos defensivos agrícolas acarreta restrições cada vez maiores ao mercado internacional atual. Uma das alternativas sustentáveis é a utilização de agentes bióticos ou abióticos que podem atuar de alguma forma como ferramenta para o controle dessas doenças (AMORIM, 2016).

O extrato da alga *Ascophyllum nodosum* pode ser utilizado como bioestimulante em diversos cultivares, pois é rico em nutrientes proporcionando acúmulo de fitoalexinas, aumento da massa e produtividade dos frutos, bem como mudanças benéficas na composição dos tecidos das plantas como indução da resistência à agentes patogênicos (BENINCA, 2008).

Neste contexto, o trabalho proposto utilizou produto comercial à base de extrato da alga *A. nodosum* para avaliar a inibição do fungo *R. stolonifer*, comumente encontrado nos frutos do morangueiro causando a podridão mole, verificando o potencial do produto como ferramenta para o manejo dessa doença aumentando a vida de prateleira do fruto.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Fruticultura

A fruticultura hoje está entre os principais geradores de renda, emprego e de desenvolvimento rural do agronegócio brasileiro, os índices de produtividade e os resultados comerciais obtidos nas últimas safras são fatores que demonstram não apenas a vitalidade como também o potencial desse segmento produtivo (IBRAF – Instituto Brasileiro de Frutas).

O Brasil detém em seu território uma variedade de cultivares frutíferas submetidas à diversas situações climáticas, o que o torna o terceiro maior produtor de frutas do mundo, caminhando apenas atrás da China e da Índia. O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) estima que a produção de 2017 possa ter atingido 44 milhões de toneladas. A relevância da comercialização das frutas no país é tão significativa que apresenta o Brasil como principal produtor e exportador mundial de laranja e suco de laranja concentrado congelado (SCOGNAMIGLIO, 2017; CNA, 2017).

Além disso, a demanda mundial por frutas e hortaliças vem crescendo significativamente nos últimos anos, em virtude, principalmente, da conscientização da população acerca da importância de uma alimentação saudável. Um dos principais entraves na produção e comercialização desses produtos são as expressivas perdas pós-colheita que se constitui uma realidade no mundo, principalmente nos países em desenvolvimento, como o Brasil (FISCHER et al. 2007; 2011; GALLI et al. 2012; HENZ et al. 2008; PEARSON; GOHEEN, 1990).

A FAO (*Food and Agriculture Organization*, USA) apresentou uma alarmante situação na produção de alimentos: anualmente, cerca de um terço da produção mundial de alimentos para consumo humano é perdida ou desperdiçada, sendo que 45% deste montante é referente à frutas, verduras, tubérculos e raízes devido ao manuseio inadequado ao longo da cadeia produtiva (2014; 2017).

De acordo com Soares e colaboradores da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) a produção de frutas frescas no Brasil era de aproximadamente 17,7 milhões de toneladas/ano entre 1997 e 2000, com perda estimada de 30% (BRASIL, 2014).

O desperdício durante a cadeia produtiva das frutas pode influenciar em números nos produtos disponíveis para vendas, bem como, na qualidade dos frutos que chegam para o consumidor. Pesquisas indicam que 50% das perdas ocorrem no manuseio e transporte, 30%

durante sua comercialização e 20% sobre as escolhas no campo e consumo parcial no país (BRASIL, 2014).

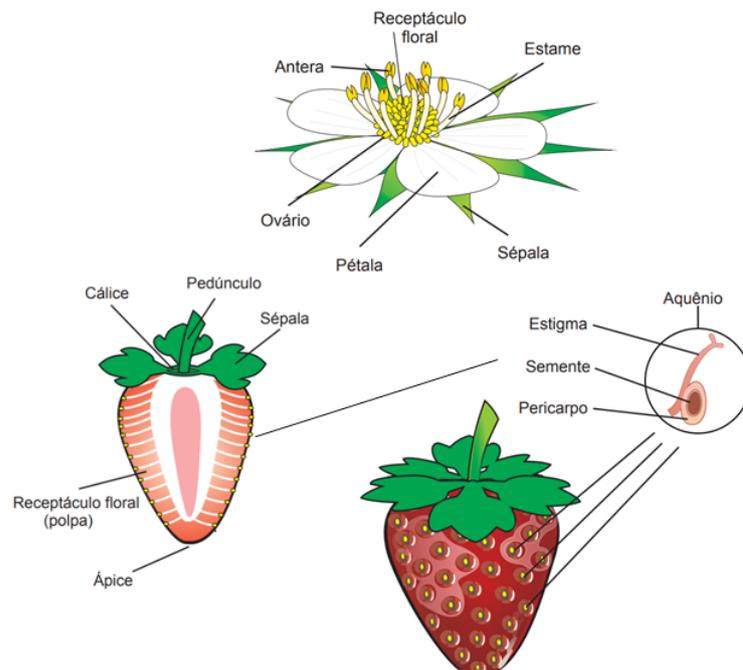
Para que o fruticultor possa atender à realidade do mercado brasileiro e à busca do consumidor por produtos de qualidade, o mesmo deve investir em melhores técnicas de manejo, colheita, pós-colheita, transporte, logística e armazenamento. A diversidade das frutas oferecidas ao público dá ao Brasil futuro promissor na atividade econômica (CNA, 2017).

2.2 Morango

Morangueiro denominado cientificamente como *Fragaria x ananassa Duch* é uma planta pertencente à família *Rosaceae* sendo a família botânica com maior número de frutas. A planta é um híbrido natural proveniente das espécies *Fragaria chiloensis* e *Fragaria virginiana*, estas Chilena e Americana respectivamente crescidas em solo Europeu (CELEGARIO, 2009; ANTUNES, 2011).

O morango é um pseudofruto, classificado como não climatérico, resultante de uma flor com receptáculos florais que se torna a porção consumida e os frutos verdadeiros denominados aquênio são conhecidos como “semente do morango”; (ANTUNES, 2011). A Figura 01 apresenta a morfologia da flor do morangueiro e do morango.

Figura 1- Morfologia do morango.



Fonte: CELEGARIO, 2009.

O plantio do morango pode ser realizado por dispersão de sementes com melhoramento genético, porém é usualmente realizado o plantio pela técnica de propagação vegetativa por meio de estolões. Estolões são ramificações que podem originar raízes, folhas e dar origem à nova planta, a matriz pode emitir de 100 a 600 estolões (ANTUNES, 2011).

As áreas destinadas à cultivares de morango possuem ligeira inclinação, boa drenagem e incidência solar. A presença de cálcio, matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e potássio nos canteiros favorece o crescimento do morango cuja faixa de pH ideal é 5,5 – 6,0 (ANTUNES, 2011).

O plantio realizado entre os meses de março e julho e a colheita é realizada após 60-80 dias dependendo do clima estendendo pelos meses de dezembro e janeiro. A colheita realizada pela manhã evita deterioração da fruta, sendo esse manual onde os frutos são classificados conforme tamanho e grau de maturação. Deve-se resfriá-los imediatamente à cerca de 5 °C para que ocorra declínio da taxa de respiração, diminuindo o processo de decomposição e aumentando o período de conservação para 7 dias (ANTUNES, 2011).

2.2.1 Morangos no Brasil

Morangos são frutos de alta aceitabilidade comercial no Brasil e no mundo, pois são consumidos em sua integridade e possuem aparência, sabor e aroma agradáveis (MAZARO et al., 2008).

O Brasil não se encontra entre os maiores produtores mundiais de morango, entretanto incentiva o plantio do fruto por diferentes regiões e tipos de climas, uma vez que, fatores como temperatura e exposição à luminosidade exercem influência no crescimento, desenvolvimento e produção do morangueiro (GUIMARÃES et al., 2014).

Pesquisadores da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) destacam o cultivo do morango como cultura promissora, uma vez que, o Brasil produz estimadas 100 mil toneladas/ano tendo como maior produtor do país o Estado de Minas Gerais. Investimentos em produção orgânica podem aumentar os teores de nutrientes dos frutos, bem como a demanda disponível para comercialização (DIAS, 2011).

Com produção destinada ao mercado interno, sendo 70% destinada ao consumo *in natura* e 30% ao processamento. Minas Gerais é líder em capacidade produtiva no país com cerca 40 mil toneladas/ano, seguidos do Rio Grande do Sul, Paraná e São Paulo (GUIMARÃES et al., 2014; SILVA, 2015).

De fácil adaptação ao clima ameno e baixa exigência quanto ao frio, o morango é um cultivar bastante produtivo. Apresenta qualidade organoléptica, contudo há dificuldade em conservação pós-colheita, devida sua textura. O fruto apresenta alta atividade de água o que acarreta sensibilidade às principais doenças que acometem o morangueiro (SILVA, 2015).

A alta perecibilidade do fruto, característica natural da espécie, pode ser potencializada por doenças pós-colheita; fazendo com que os produtores e comerciantes invistam em tecnologias de manejo a fim de melhorar a produtividade, qualidade e tempo de prateleira do produto (DONAZZOLO et al., 2003).

O desenvolvimento de técnicas para melhoria da colheita, transporte e armazenamento de frutos do morangueiro por longos períodos são importantes, pois os mesmos apresentam elevada taxa respiratória e atividade metabólica sendo suscetíveis à patógenos. As perdas podem alcançar 20 a 40% da produção em poucos dias (OLIVEIRA et al., 1979; DONAZZOLO et al., 2003; MALGARIM, 2006).

Submissão dos frutos às análises físico-químicas é relevante para obtenção de informações do comportamento de cultivares em uma determinada região possibilitando o acompanhamento da qualidade do produto consumido (SILVA, 2015).

2.3 *Rhizopus stolonifer*

Ressalta-se que dentre os fatores que influenciam as perdas pós-colheita está a ocorrência de doenças. Na pós-colheita de morangos pode-se citar a podridão mole, cujo agente causal é o fungo *Rhizopus stolonifer* que acometem os frutos trazendo grandes prejuízos na fase comercialização (AGRIOS, 2005).

Pertencente ao Reino Fungi, Filo *Zygomycota*, Classe *Zygomycetes*, Ordem *Mucolales*, Família *Mucolaceae*, Gênero *Rhizopus* apresenta-se a espécie *Rhizopus stolonifer* (MIYAOKA, 2012). A podridão mole é consequência da colonização dos tecidos do fruto pelo fungo na cadeia produtiva na fase de armazenamento e transporte, período de estágio mais avançado de maturação, visto que a doença é esporadicamente observada no campo (OLIVEIRA, 2007).

O *R. stolonifer* invade os tecidos através de injúrias acometidas aos frutos durante as etapas de colheita e transporte permitem a entrada dos esporos do fungo que na presença da polpa aquosa e em temperatura próxima à 20°C proliferam exponencialmente, apodrecendo de forma acelerada frutos inteiros (AGRIOS, 2005).

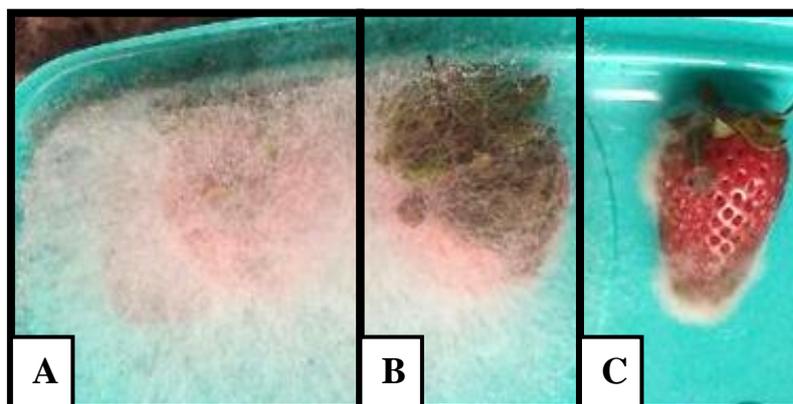
A hifa presente na estrutura do fungo produz enzimas pectinolíticas capazes de degradar a lamela média do tecido, porém não produz cutinases, dessa forma só consegue adentrar o tecido hospedeiro através de aberturas já existentes. Assim, as injúrias devem ser evitadas a fim de proteger o fruto do patógeno (OLIVEIRA, 2007).

Doença denominada, podridão mole, é caracterizada por lesões aquosas irregulares que expandem rapidamente, apresentando micélio branco por toda superfície e na sequência esporângios negros como apresentado na Figura 02. A contaminação pelo fungo *R. stolonifer* resulta em colapso dos tecidos que acarreta odor desagradável devido à exposição e colonização de leveduras e bactérias (OLIVEIRA, 2007).

Presente em vários ambientes, *R.stolonifer*, é facilmente encontrado no solo, estufas frutíferas e no ar onde seus esporos são dispersos. Altas temperaturas e umidade relativa do ar acima de 75% beneficiam a proliferação rápida do fungo que produz elevada quantidade de micélio e esporos, responsáveis pela contaminação pós-colheita do fruto (OLIVEIRA, 2007).

Significativa para a economia, a doença causada pelo fungo *R. stolonifer* pode ocasionar perda de toda produção. Em período chuvoso há queda das flores dificultando a polinização e/ou produção do grão de pólen, sob precipitação ocorre ineficácia da polinização e acréscimo do número de frutos contaminados o que compromete a produção (BOMFIM, 2010).

Figura 2 - Fotografia ilustrando morango contaminado por *Rhizopus stolonifer* apresentando micélio branco em A e esporângios negros em B e micélio branco e esporângios negros em C.



Fonte: Próprio autor, 2018.

Esse patógeno possui esporos resistentes que proporcionam a sua sobrevivência por vasto período em solos, caixas, contêineres e locais com alta umidade onde podem

rapidamente se dispersar e causar podridão mole em outros frutos aceleradamente (OLIVEIRA, 2007).

Prevenção e controle do *R. stolonifer* decorre através da higienização dos frutos, caixas, locais de armazenamento e embalagens. Evitar o choque dos frutos para que não ocorra fermentos dos mesmos nas etapas de colheita, transporte, lavagem, classificação e embalagem dado que esses fermentos proporcionam a entrada do fungo causador da podridão mole e de outras doenças pós-colheita (OLIVEIRA, 2007).

2.4 *Ascophyllum nodosum*

Membro do Reino *Plantae*, da ordem *Fucales* e família *Fucaceae* se destaca a alga marinha *Ascophyllum nodosum* (TEIXEIRA, 2015).

De aparência marrom e naturalmente encontrada em mares árticos, a alga *A.nodosum* é fonte de macro e micronutrientes como N, P, K, Ca, Mg, S, B, Fe, Mn, Cu e Zn e aminoácidos como alanina, ácido aspártico e glutâmico, glicina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, tirosina, triptofano e valina. Constituintes os quais viabilizam a precocidade germinativa de sementes, conduzem ao aumento do crescimento, elevada resistência, bem como ao incremento da produtividade dos cultivares (CARVALHO, 2014).

Fatores como temperaturas negativas, exposição à intempéries e crescimento total em imersão em água salgada podem ter proporcionado ao *A. nodosum*, macroalga do norte do oceano Atlântico, a síntese de compostos “anti-estress” que promovem benefício à planta como aumento da resistência à doenças e capacidade de proteção à demais plantas. Por apresentarem ação semelhante aos hormônios vegetais tem sido empregado em folhas, solo e frutos para benefício da agricultura orgânica (RODRIGUES, 2008).

Líquido viscoso marrom escuro com odor marinho, de pH entre 7,8 à 8,2 e solubilidade em água são características dos produtos comerciais nomeados como extrato de algas à base de *A. nodosum*. No entanto, a quantidade e diversidade de constituintes dos produtos podem ser em função do local e época de coleta da alga, método ao qual foi submetida extração e adição de demais produtos (CARVALHO, 2014).

Estudos relacionados à utilização do extrato de alga vêm sendo amplamente discutidos pois o mesmo envolve promoção de crescimento vegetal no uso da alimentação animal e humana (CARVALHO, 2014). A Tabela 02 indica o uso da alga marinha *A. nodosum* em diferentes culturas por diversos autores.

Tabela 1 - Uso da alga marinha *Ascophyllum nodosum* na agricultura como bioestimulante por diversos autores em diferentes frutos e hortaliças.

Cultura/espécie botânica	Forma de Aplicação	Referência (Autor / Ano)
Alface e Couve Flor	Extrato	Abetz; Young. (1983).
Uvas de mesa	Suspensão concentrada;	Colapietra, Alexander,
	Extrato	(2006); Frioni et al. (2018).
Espinafre	Extrato	Fan et al. (2014).
Pinheiro	Extrato	MacDonald et al. (2012).
Alfafa	Extrato	Khan et al. (2012).
Repolho	Extrato	Lola-Luz et al. (2013).
Videiras	Extrato	Albuquerque et al. (2014).
Cajueiro	Extrato	Garcia et al. (2014).
Tomateiro	Extrato	Ali et al. (2015); Goñi et al. (2018); Stasio et al. (2018).
Espinafre	Extrato	Xu; Leskovar, (2015).
Soja	Extrato	Martynenko et al. (2016).
Milho	Extrato	Ertani et al. (2018).
Manga	Extrato	Melo et al. (2018).

Fonte: Adaptado de Dias (2019).

Extratos de algas composto por *A.nodosum* quando introduzidos em cultivares de frutas proporciona aumento da resistência aos ataques microbiológicos, apresentando frutos de qualidade, bem como rendimento (PAIVA, 2013).

Pesquisadores relatam que a utilização de *A.nodosum* em sementes de cevada foi determinante para o aumento da germinação, em razão da indução da atividade da amilase independente da giberelina. A giberelina induz a germinação, pois promove a síntese de enzimas responsáveis pela transformação de amido em açúcares, disponibilizando a energia, aumentando assim, o potencial germinativo(CARVALHO, 2014).

Em sementes de feijão foi verificado após imersão do cereal em extrato de *A.nodosum* na concentração de 0,8 mL.L⁻¹ por 5, 10, 15 e 20 minutos e utilizando testemunha com água no mesmo intervalo de tempo que o vigor de sementes do feijão ‘Alvorada’ é aumentado após a imersão em solução contendo extrato de *A.nodosum* por 15 minutos (CARVALHO, 2014).

Após a aplicação do extrato de *A.nodosum* em folhas de alface foi possível verificar aumento no teor de vitamina C, indicando benefício nutricional. A adição às demais hortaliças

apresentou incrementos nos teores de macronutrientes, como 9,52 % de Nitrogênio, Fósforo 50 % e Potássio 5,68 %. Tangerinas submetidas à ação dessa mesma alga durante 3 anos, apresentaram 30 % de elevação em produção de frutos (CARVALHO, 2014; KHAN et al., 2009).

Experimentos em couve submetidos à aplicação de *A. nodosum* em doses de 3,8 mL.L⁻¹ apresentaram efeitos satisfatórios no desenvolvimento inicial e, posteriormente, na produtividade das plantas que apresentaram um aumento do número de folhas e da massa seca da parte aérea. A utilização do bioestimulante em cebolas nas dosagens de 3 e 4 mL.L⁻¹, aumentou a massa fresca e seca dos bulbos das hortaliças.

O mesmo ocorreu também espécies de batata ‘Ágata’ quando pulverizadas com 1 mL.ha⁻¹ do extrato de algas 50 dias após do plantio onde as plantas apresentaram maior produtividade, quando avaliadas no início da emissão dos tubérculos, com acréscimos de 15,78; 12,31 e 36,13% no número de tubérculos, matéria fresca e diâmetro de tubérculos (CARVALHO, 2014).

Cafeeiros ‘Catuaí 144’ quando cultivados em condições climáticas de cerrado apresentaram acréscimo na produtividade de 37 a 70% do número de sacas, na primeira e segunda safra, após a aplicação do extrato de *A. nodosum*. O extrato foi aplicado via irrigação por gotejamento e pulverização que variavam nas doses utilizadas (0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mL.ha⁻¹) iniciadas na pré-floração (CARVALHO, 2014).

2.5 Qualidade dos alimentos e meio ambiente

O uso de agrotóxicos na pós-colheita torna-se um problema devido aos resíduos deixados nos frutos, hortaliças e cereais os que tornam produtos menos atrativo para os consumidores devido à toxicidade para os seres humanos, ao meio ambiente e animais (AGRIOS, 2005).

A sociedade atual tem revelado uma nova postura frente à qualidade de alimentos, priorizando a redução no uso de agrotóxicos e, conseqüentemente, o consumo de alimentos com menos resíduos destes produtos. Preocupados com os riscos à saúde promovidos pelos agrotóxicos, somado à resistência de patógenos a fungicidas, o mercado internacional atual de frutas tem reduzido a tolerância de resíduos dos mesmos, dessa forma, a retirada de alguns produtos do mercado, têm levado ao aumento das pesquisas envolvendo a utilização de agentes alternativos para o controle de doenças de pós-colheita (CIA et al., 2007).

Neste contexto, novos métodos têm sido testados e avaliados para uso em pós-colheita. Uma das alternativas é a utilização de agentes bióticos que podem atuar como agentes de controle biológico e/ou indutores de resistência. O controle biológico de doenças de plantas pode ser definido como “o controle de um micro-organismo através da ação direta de outro micro-organismo” sendo que esses agentes reúnem características favoráveis à sua utilização, como a adaptação ao meio, e principalmente pelo baixo impacto ambiental (AMORIM, 2016).

Por outro lado, a resistência induzida envolve a ativação de mecanismos de resistência latentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos. Essa resposta, a qual pode incluir, por exemplo, o acúmulo de proteínas relacionadas a patogênese e fitoalexinas, protege a planta contra infecções subsequentes contra diferentes patógenos. A resistência induzida, apesar de não evitar a doença reduz sua intensidade entre 20 e 85%, além de possuir amplo espectro e longa duração (WALTERS; FOUNTAINE, 2009).

Elicidores são micro-organismos capazes induzir a resistência do sistema de defesa, proporcionando acúmulo de compostos fenólicos, fitoalexinas e proteínas. Dentre essas, a fitoalexina, substância a qual o *A. nodosum* estimula a produção, possui propriedades antimicrobiana, sendo produzida após a planta passar por situações de estresse e/ou na tentativa de ataque invasor. Já as peroxidases existentes no organismo vegetal também podem proporcionar essa barreira à atividade dos agentes patogênicos (BENINCA, 2008).

Produtos comerciais cuja base é extrato de algas, comumente apresentam em sua composição algas provenientes de águas salgadas, como *A. nodosum*. Essa espécie se enquadra no grupo das algas marrons, sendo o segundo mais abundante na natureza e seu habitat são os litorais do hemisfério norte (CARVALHO, 2014; KHAN et al., 2009).

A aplicação de produtos químicos entra em desuso, pois implica alto custo e exposição às contaminações ambientais, enquanto o uso de produtos à base de algas pode ser aplicado como biofertilizante e estimulantes do sistema de defesa das plantas (NESI, 2013). Sendo fonte de matéria orgânica os bioestimulantes são definidos como "materiais, além de fertilizantes, que promovem o crescimento das plantas quando aplicados em pequenas quantidades" e também são chamados de "intensificadores metabólicos" (KHAN, 2009).

Bioestimulante pode ser definido como a mistura de dois ou mais reguladores vegetais ou outras substâncias como aminoácidos, nutrientes e vitaminas, estimulando a capacidade do desenvolvimento radicular, promovendo a absorção de água e nutrientes pelas raízes, podendo apresentar melhoras, também, no equilíbrio hormonal da planta e seu crescimento (DIAS et al., 2012).

Permitido no Brasil e regulamentado pela Instrução Normativa de 18 de dezembro de 2008 do MAPA os extratos de algas são classificados como biofertilizantes e/ou aditivos e subproduto para alimentos de uso animal sendo comercializado em extrato seco ou líquido (SILVA, 2011; CARVALHO, 2013).

3 REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.922p.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; **Manual de fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v.2 772 p.
- ANTUNES, L. E. C.; CARVALHO, G. L.; SANTOS, A. M. **A cultura do morango**. 2. ed. rev. e ampl. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2011.
- BENINCA, C. P; FRANZENER, G; ASSIL, L; COSTA, M.A; NOGUEIRA, J. R. Indução de Fitoalexinas e Atividade de Peroxidases em Sorgo e Soja Tratados com Extratos de Basidiocarpos de *Pycnoporus Sanguineus*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.75, n.3, p.285-292, jul./set,2008.
- BOMFIM, M. P, SÃO JOSE, A. R; REBOUÇAS, T. N. H.; ALMEIDA, S. S.; SOUZA, I. V. B.; DIAS, N. O. Avaliação antagônica in vitro e in vivo de *Trichoderma spp.* a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 36, n. 1, p. 61-67, 2010.
- BRASIL. **Pesquisas da Embrapa buscam formas de evitar o desperdício de alimentos**. PORTAL BRASIL. 2014. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/ciencia-e-tecnologia/2014/08/pesquisas-da-embrapa-buscam-formas-de-evitar-o-desperdicio-de-hortalicas-e-frutas>>. Acesso em: 12 mai. 2018.
- CARVALHO, M. E. A; CASTRO, P. R. C. **Extratos de algas e suas aplicações na agricultura**. Série Produtor Rural nº 56. Piracicaba: Divisão de Biblioteca (DIBD) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), 2014.
- CELEGARIO, F. PBMH & PIMo - PROGRAMA BRASILEIRO PARA A MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA & PRODUÇÃO INTEGRADA DE MORANGO. Normas de Classificação de Morango. São Paulo: **CEAGESP**, 2009.
- CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; BENATO, E.A. Indução de resistência no manejo de doenças pós-colheita. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS A PATÓGENOS, 3., 2007, Viçosa. **Indução de resistência em plantas a patógenos**:Viçosa: UFV, 2007. v. 1, p. 245-268.
- CNA. CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Fruticultura. Perspectivas 2017. Balanço 2016**. CNA. Disponível em:<http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/10_fruticultura.pdf> Acesso em 12 mai. 2018
- DIAS, J. P. T.; TAKAHASHI, K.; FILHO, J. D.; ONO, E. O. Bioestimulante na promoção da brotação em estacas de raiz de amoreira-preta. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 1, p. 001-007, Março 2012.
- DIAS, L. R.C.; **Regulação da explosão oxidativa, qualidade fisiológica de mamões e efeito in vitro do extrato da alga marinha *Ascophyllum nodosum* sobre o fungo**

Colletotrichum sp. São Luís, MA. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Maranhão. 2019.

DIAS, M. S. C.; **Cultivo de morango orgânico é alternativa para agricultores familiares da região central de Minas.** EPAMIG, MG. 2011. Disponível em: <http://www.epamig.br/index.php?option=com_content&task=view&id=1346&Itemid=68>. Acesso em: 24 mai. 2017.

DONAZZOLO, J.; HUNSCHE, M.; BRACKMANN, A.; WACLAWOVSKY, A. J. Utilização de filmes de polietileno de baixa densidade (pebd) para prolongar a vida pós-colheita de morangos. **Ciênc. agrotec.** Lavras. V.27, n.1, p.165-172, jan./fev., 2003.

FAO. FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION. **FAO. 30% de toda a comida produzida no mundo vai parar no lixo.** 2017. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/fao-30-de-toda-a-comida-produzida-no-mundo-vai-parar-no-lixo/>. Acesso em : 18 jun. 2019.

FAO. FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION. **Perdas e desperdícios de alimentos na América Latina e no Caribe.** 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/239394/>. Acesso em : 18 jun. 2019.

FERREIRA, D. F. Sisvar: Um guia dos seus procedimentos de comparações múltiplas Bootstrap. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.38, n. 2. 2014.

FISCHER, I.H.; ARRUDA, M.C.; ALMEIDA, A.M.; GARCIA, M.J.M.; JERONIMO, E.M.; PINOTTI, R.N.; BERTANI, R.M.A. Doenças e características físicas e químicas pós-colheita em maracujá amarelo de cultivo convencional e orgânico no centro oeste paulista. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 254-259, 2007.

GALLI, J.A.; FISCHER, I.H.; PALHARINI, M.C.A. Doenças pré e pós-colheita em variedades de manga cultivadas em sistema orgânico. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal – SP, v. 34, n. 3, p. 734-743, 2012.

GUIMARÃES, A. G; JÚNIOR, V. C. A.; ELSAYED, A. Y. A. M.; FERNADES, J. S. C.; FERREIRA, M. A. M. Potencial produtivo de cultivares de Morangueiro. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 37, n. 1, p. 112-120, Março. 2011.

HENZ, G.P.; REIS, A.; SILVA, K.C.C.; PEREIRA, S.F. Incidência de Doenças de Pós-Colheita em Frutos de Morango Produzidos no Distrito Federal em 2008. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 42., 2009, Rio de Janeiro. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento.** Embrapa: Brasília, 2008. Disponível em: <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2008/bpd_45.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS - IBRAF. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/>> Acesso em: 02 ago. 2015.

KHAN, W; P. RAYIRATH, U. P; SUBRAMANIAN, S; JITHESH, M. N; RAYORATH, P; HODGES, M. D; CRITCHLEY, A. T; CRAIGIE, J. S; NORRIE, J; PRITHIVIRA, B. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. **J Plant Growth Regul**, v. 28, p.386–399.2009.

MALGARIN, M. B.; CANTILLANO, R. F. F.; COUTINHO, E. F.; Sistemas e condições de colheita e armazenamento na qualidade de morangos cv. Camarosa. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 28, n. 2, p. 185-189, 2006.

MAPA.Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade de Polpas. **Portaria nº 94, de 30 de Agosto de 2016**. Brasília. 2016.

MAZARO, M. S.; DESCHAMPS, C.; MAY DE MIO, L. L.; BIASI, L. A.; GOUVEA, A.; SAUTTER, C. K. Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-smetil. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 1, p. 185-190, mar, 2008.

MIYAOKA, M. F. **Avaliação do potencial dos fungos do gênero *Rhizopus spp* na produção de substâncias bioativas com ação antioxidante utilizando diferentes substratos**. Curitiba, PR. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná, 2012. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/29080/R%20-%20D%20-%20MITIYO%20FUKUDA%20MIYAOKA.pdf?sequence=1>>. Acesso em 12 mai. 2018.

NESI, C. N; AZEVEDO, T. M; ARAÚJO, E. S; MÓGOR, F; MIO, L. L. M. Avaliação de extrato de algas no progresso temporal da mancha de *mycosphaerella* em cultivares de morangueiro. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 60, n.1, p. 038-042, jan/fev, 2013.

OLIVEIRA, A. A. R.; FILHO, H. P. S. **Podridão do *Rhizopus***.Circular Embrapa. Nº 36. Dez. 2007. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMF/24011/1/mamao_26.pdf>. Acesso em 12 mai. 2018.

PAIVA, M. J; SILVA, A. A. S; PAIVA R. F; FIRMINO, G. O; DIAS, S.H. Efeito de Ativadores de Resistência à Doenças sobre Incidência de Mancha de Diplodia em Folhas de Milho.In:Seminário Nacional da Estabilidade e Produtividade da Farinha de Milho, 7., 2013, Dourados. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. Embrapa: Brasília, 2013. Disponível em: <<http://www.cpao.embrapa.br/cds/milhosafarina2013/PDF/35.pdf>>. Acesso em: 24 mai. 2017.

PEARSON, R.C.; GOHEEN, A.C. **Compendium of Grape Diseases**. 2th ed.St. Paul, Minnessota: American Phytopathological Society, 1990. p 93.

RODRIGUES, J. D. Biorreguladores, aminoácidos e extratos de algas: verdades e mitos. **Informações Agrônomicas**, n. 122, jul. 2008.

SCOGNAMIGLIO, H. **Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo**. FAAC. Faculdade da Arquitetura, Artes e Comunicação. ACI. UNESP. Disponível em: <<https://acifaacunesp.com/2017/09/17/brasil-e-o-terceiro-maior-produtor-de-frutas-do-mundo/>>. Acesso em: 12 mai. 2018.

SILVA, M.S.; DIAS, M. S. C.; PACHECO, D. D. Desempenho produtivo e qualidade de frutos de morangueiros produzidos no norte de Minas Gerais. **Hortic. bras.**, v. 33, n. 2, abr. - jun. 2015.

SILVA, T. P. **Características Produtivas e Físico-Químicas de Frutos de Morangueiro Orgânico Cultivado com o uso de Extrato de Algas**. Curitiba, PR. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná, 2011. Disponível em: <<http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/26514/DISSERTACAO%20THATHIANY%20PORTO%20%20VERSAO%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 24 mai. 2017.

TEIXEIRA, N. T. Extrato de alga *Ascophyllum nodosum* como bioestimulante. **Revista Campo & Negócios Grão**. Julho. 2015. Disponível em: <<http://www.revistacampoenegocios.com.br/extrato-da-alga-ascophyllum-nodosum-como-bioestimulante/>>. Acesso em: 12 mai. 2018.

WALTERS, D.R.; FOUNTAINE, J.M. Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. **J. Agric. Sci.**, v. 147, p. 523-535. 2009.

CAPÍTULO 02

Ascophyllum nodosum ALGAE EXTRACT AS ALTERNATIVE CONTROL OF SOFT-ROT IN POST-HARVEST OF STRAWBERRY

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the potential of the commercial product based on extract of the alga *Ascophyllum nodosum* (AN) in the inhibition of the pathogen *Rhizopus stolonifer* (RS) in strawberries. We used a commercial product based on seaweed extract, where in vitro tests we evaluated the influence of the extract on the mycelial growth of the pathogen. Thus, the potato-dextrose-agar medium received different concentrations of the extract and was then spiked with a RS disk. Organic strawberry fruits received the concentration of 40 mL.L⁻¹ algae extract by immersion for 5 minutes; 24h later, we inoculated the selected strawberries with the pathogen via spraying (concentration 1 x 10⁵ spores mL.L⁻¹) and via mycelial disk. After 72 h of incubation, we evaluated the fruits on the incidence of the disease. The product reduced fungal growth from the 5 mL.L⁻¹ concentration and completely inhibited at 40 mL.L⁻¹. Spray inoculation was not efficient. In the fruits inoculated via mycelial disk there was a reduction of 22.3% in incidence of the disease. The results of this work suggest that AN possesses potential to be used in the management of soft rot and increase the shelf life of strawberries.

Keywords: Biofertilizer. Sustainability. Strawberry. Food safety. Biostimulant.

INTRODUCTION

Fruit production is among the main generators of income, employment and rural development in Brazilian agribusiness, mainly in the south of the State of Minas Gerais. In addition, world demand for fruits and vegetables has been growing because of the population's awareness of the importance of healthy eating. However, one of the main obstacles in the production and marketing of these products is the significant post-harvest losses, especially in developing countries such as Brazil^{1,2,3,4,5}.

According to the FAO^{6,7} 1.3 billion tons of food is wasted or lost along productive chains representing 30% of the total produced annually on the planet. In Latin America between a quarter and a third of the production of food for human consumption is lost or wasted, 40 to 50% of this amount refers to hortifrutis. Besides, among the factors that influence post-harvest losses are the occurrence of diseases. Among the fruits with prominence in the Brazilian production is the important strawberry for the regional market of the south of Minas Gerais, Brazil being its planting and commercialization activities common among small producers⁸.

Brazil is not among the world's largest producers of strawberries, however, it encourages the planting of the fruit by different regions and types of climates, since factors such as temperature and exposure to light influence the growth, development and production of the strawberry⁸.

In post-harvest, some diseases have caused great damages in this crop, mainly soft rot, whose causal agent is the fungus *Rhizopus stolonifer*. The pathogen dominates the interior of the fruit through holes that arise during the harvest and transport stages that allow the entry of fungi spores rapidly decaying whole fruits⁹.

The use of agrochemicals in the post-harvesting becomes a problem due to the chemical residues present in the fruits making the product less attractive to the consumer. The exposure of animals and the environment to the toxicity from agricultural pesticides leads to increasing restrictions on the current international market. One of the sustainable alternatives is the use of biotic or abiotic agents that may act in some way as a tool for the control of these diseases¹⁰.

The extract of *Ascophyllum nodosum* can be used as a biostimulant in several cultivars because it is rich in nutrients providing phytoalexins accumulation, increase fruit mass and productivity, as well as beneficial changes in the composition of plant tissues as induction of resistance to pathogens^{11,12}.

In this context, the proposed work used a commercial product based on *A. nodosum* extract to evaluate the inhibition of *R. stolonifer* fungus, commonly found in strawberry fruits causing "soft rot", verifying the potential of the product as a tool for the management of this disease by increasing the shelf life of the fruit.

MATERIAL AND METHODS

Obtaining and maintaining the pathogen isolate

The isolate of *Rhizopus stolonifer* used was obtained from the fungi collection from Phytopathology and Nematology Department, located in “Luiz de Queiroz” School of Agriculture - USP; the microorganism was maintained in potato-dextrose-agar medium (PDA) in order to provide conditions for the good development of the fungus.

Evaluation of algae extract on mycelial pathogen growth

We used a commercial product as source of the extract of *A. nodosum*, this being a LS (Liquid Suspension) formulation with 100% concentration of seaweed extract and brown coloration.

Then, we prepared BDA culture medium that was autoclaved. At 38 °C, the preparation received different dosages of the algae extract corresponding to the concentrations of 5, 10, 20 and 40 mL.L⁻¹ of the product in distilled water. These concentrations were related to the 5 treatments proposed to verify fungal inhibition. The control consisted of a treatment composed only of BDA medium.

After 24 h of preparation of the Petri dishes with the 5 treatments proposed, on the solid-state media we added a culture medium disc of 0.5 cm in diameter containing the mycelium of the phytopathogen *R. stolonifer*.

The plates were conditioned in a BOD chamber at controlled temperature at 25 °C and 12h light/dark photoperiod. We performed the evaluation of mycelial growth every 24 hours, using a mean between two measurements (cm), diametrically opposite the colony, using a digital caliper, until the mycelium of one of the plates reached the edge of the Petri dishes.

The experiment was carried out in a randomized complete block design (DBC) containing 5 treatments and 10 replicates, each Petri dish represented by a repetition.

The data obtained in the evaluation of mycelial growth were submitted to analysis of variance ($p \leq 0.05$) and the means were compared using the F test using the software SISVAR¹³. From the significance of the treatments, we performed the regression analysis of the variables also using SISVAR.

In vivo assay to evaluate the potential effect of algae extract on post-harvest control in strawberries

From the results obtained in the experiments, we applied the best treatment proposed by linear regression to the strawberry fruits to evaluate the post-harvest control against soft-rot.

With the farmers from the southern region of Minas Gerais, from the cities of Estiva and Cambui, we obtained strawberries from the cultivars Camarosa and Oso Grande, both organic and therefore cultivated without agrochemical applications.

We selected the fruits with similar characteristics of size and maturation for hygiene with Sodium Hypochlorite 0.5% and then washed the fruits in distilled water, in order to remove the excess from the sanitizer and then dispose them at room temperature for drying.

The treatments were performed according to the previous test using a concentration of the product based on algal extract at 40 mL L⁻¹. After 24 h, we inoculated the fruits by adding a 0.5 cm diameter culture medium disc containing the fungal mycelium *R. stolonifer*.

Then, we pack the fruits in plastic boxes and inside of them we add pieces of cotton moistened with distilled water, being immediately closed hermetically.

The assay was installed in a randomized block design. The treatment included 9 replicates, composed of a box containing 03 strawberries as experimental unit, totaling 27 strawberries per treatment; adding 54 strawberries in the experimental material.

We maintained the fruits in a BOD chamber at 25°C throughout the experiment period and the incidence of the disease was evaluated in the fruits every 24h.

***In vitro* and *in vivo* treatments in the absence and presence of sanitizing agent**

In order to verify the *in vitro* efficiency of the algae extract in the inhibition of *R. stolonifer*, after the addition of the sanitizer commercially known as Sanitary Water 2.5%, we installed an experiment with three treatments. Thus, we submitted the pathogen to the BDA culture medium, to the BDA culture medium plus 40 mL.L⁻¹ algae extract and to the BDA culture medium plus algal extract 40 mL.L⁻¹ plus bleach at 0, 5%.

The experiment was installed by adding 0.5 cm diameter disks of the *R. stolonifer* fungus in Petri dishes, which were then subjected to the evaluation of mycelial growth, as previously described.

We also verified the interference of the addition of 0.5% Sodium Hypochlorite to the *in vivo* experiment from three proposed treatments, the fruits being separated and sanitized (T2) and not sanitized (T3) for immersion in a solution prepared with 40 mL L⁻¹ of algae extract. In this way, we also select only sanitized fruits and washed in distilled water, this being the treatment control (T1).

After 24 h the inoculation of the pathogen was carried out by the addition of a 0.5 cm diameter medium disk containing the mycelium of the pathogen, as previously described.

Finally, we pack the fruits in plastic boxes with no moistened cotton. We evaluate the incidence of the disease in the fruits every 24 h and they remained in a BOD chamber, at 25 °C, for the entire test period equivalent to 72 hours.

The experiment contained three treatments, identified by T1, T2 and T3, with nine replicates. Three strawberries, totaling 81 evaluated strawberries, formed being each experimental unit. The design was randomized blocks (DRB).

Statistical treatment

The variables mycelial growth (mm) and disease incidence (%) obtained in the measurements of all treatments were submitted to the F test. Those that had significant results at 5% probability had their means compared by the Scott-Knott test, also considering $p \leq 0.05$. All analyzes were made by the SISVAR program¹³.

Physical-chemical tests on strawberry fruits submitted to treatment with extract of the alga *A. nodosum*

Physical-chemical tests were carried out with the purpose of verifying changes in the physical-chemical characteristics of strawberry fruits after 24 hours of exposure of strawberries to the treatment with seaweed extract. For this, we used healthy, freshly harvested strawberry fruits whose non-application of pesticide was guaranteed by the regional supplier. We sanitized the selected fruits with 0.5% Sodium Hypochlorite for 1 minute and then washed the strawberries under running water to remove excess product and allowed to dry at room temperature. For addition of the seaweed extract, we submerged the fruits in the product in the concentration of 40 mL.L⁻¹ during 05 minutes.

The proposed trials for the fruits were soluble solids, pH, titratable acidity, total sugars, total solids, color and firmness.

We determined the color of the bark and pulp by the Minolta CR-400 colorimeter with expression of the results in the L, C and H system, where L represents luminosity, C represents chromaticity and H (Hue), the color angle at two points in the equatorial region of the fruits, before and after removal of the bark. Still, we calculated the firmness in the strawberries from the use of Stable Micro Systems TA.XT Express Texturometer operated by ExtraLab Brasil; we used a 2 mm tip and the measurements were made at two opposite points in the equatorial region of the fruits.

The soluble solids content (SST) was determined from the pulp of the processed fruit obtained by the centrifugation of five fruits per repetition, using a manual refractometer, where the data were obtained in °Brix. We also measured the hydrogenation potential in MS Tecnopon bench pH meter by immersing the electrode in beaker containing the processed fruit pulp obtained by the centrifugation of five fruits per repetition.

For the titratable acidity, we used the samples previously prepared for pH determination and added NaOH (0.2 N) for titration until reaching pH 8.1. The result was expressed as g/100 g Citric Acid. The

total solids content (ST) was expressed in g / 100 g and the measurement was obtained by weighing 5.00 g of the processed fresh fruit in a porcelain dish subjected to 105 ° C in a drying oven. After 6 h of incubation we transferred the capsule to desiccator, cooled to room temperature and weighed; this procedure was carried out until the capsule and the dried fruit showed constant weight.

The determination of total sugars was performed by the Lane-Eyon titration method. The methodology is based on the heat titration of the reducing sugar with complexed copper reagent, the result being expressed in g/100g.

The methodologies used are in agreement with the bibliography entitled "Physical and Chemical Methods for Food Analysis IV". The Adolfo Institute published the book electronically in 2008. Besides, the experiments was carried out in partnership with Iberpharm Laboratories of Brazil LTDA and the Laboratory of Bromatology of the Federal Institute of Teaching, Science and Technology from South of Minas Gerais - Campus Machado.

We carried out the tests using two treatments: T1 - Control and T3 - composed of sanitized strawberries added with 40 mL.L⁻¹ algae extract, containing 32 strawberries per treatment.

All variables were submitted to statistical analysis using the F test in the analysis of variance using the statistical program SISVAR¹³.

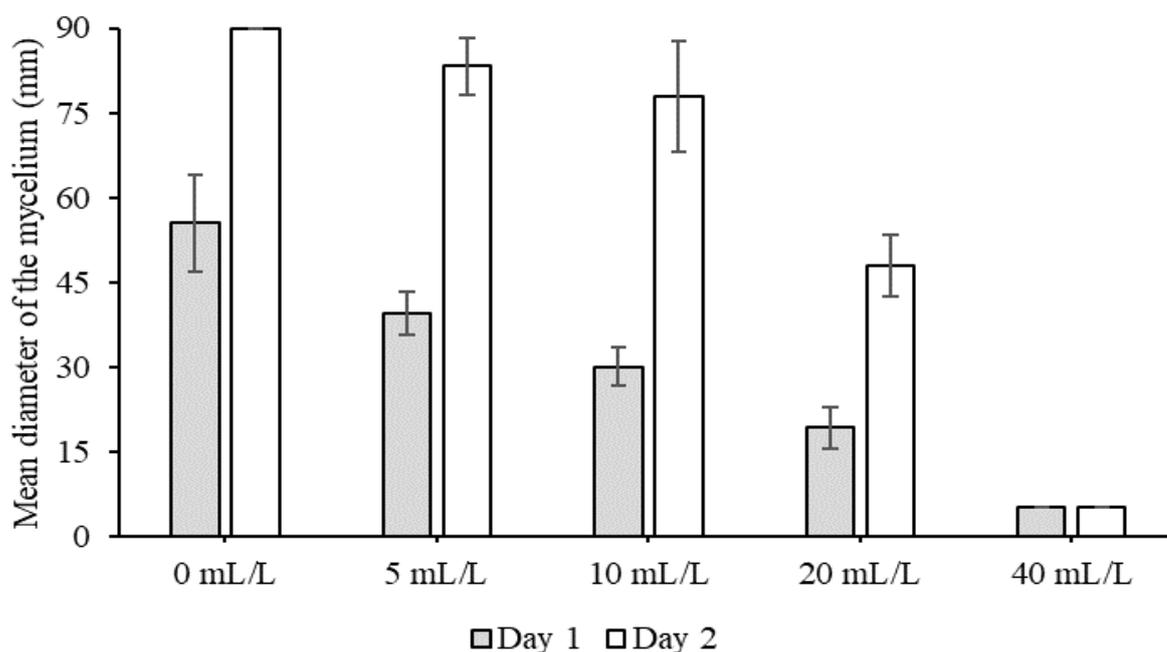
RESULTS AND DISCUSSION

Evaluating the mean values of the mycelial growth of the fungus *R. stolonifer*, submitted to the treatment with the *A. nodosum* product, we found differences between the proposed treatments. Following the experiment, it was possible to observe the growth of the pathogen on days 01 and 02, where we detected that in the treatment without algae extract, the mycelium of the pathogen reached the borders of Petri dishes on the second day. In addition, in the other plates with presence of the product, the fungal mycelium did not reach the edges of the plaque in the same period.

The regression graph (Figure 1) shows that there is inhibition of the growth of the pathogen already in the first dose used of 5 mL.L⁻¹; the reductions of the mycelial diameter are increasing and reach the value of 49.6% in the dose of 20 mL.L⁻¹.

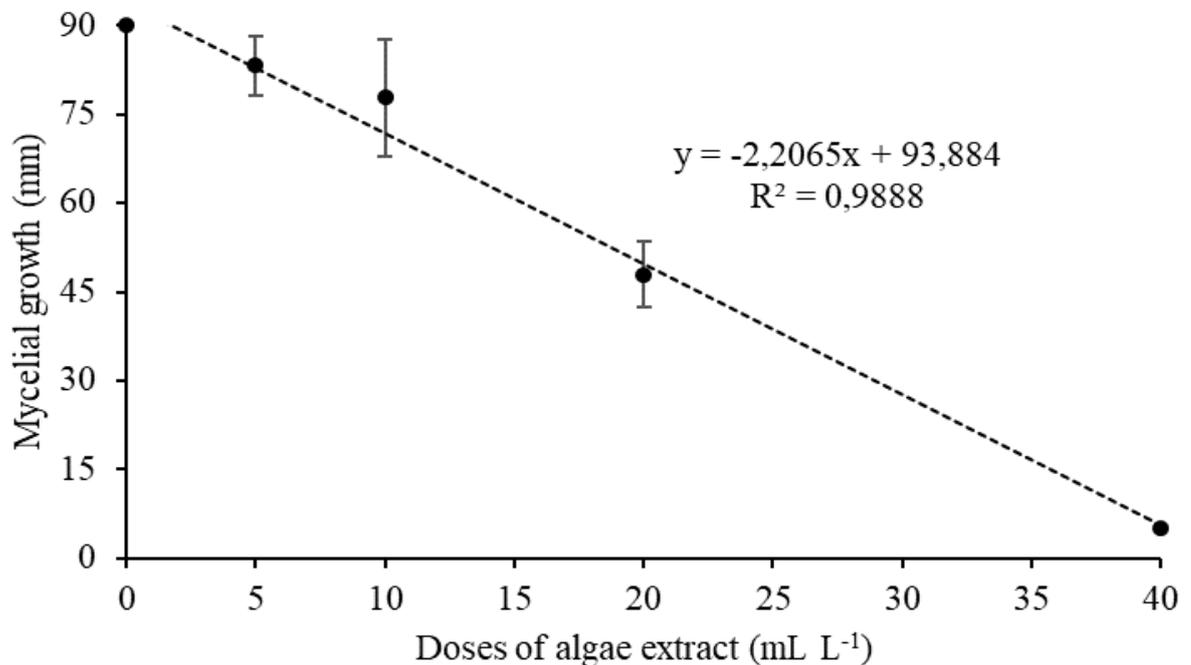
In the treatment of 40 mL.L⁻¹ of algal extract, the inhibition of the growth of the pathogen was 100% whose dosage is the same found when considering the linear regression model $y = ax + b$.

Figure 1. The daily means of the mycelial diameter of *Rhizopus stolonifer* obtained in the evaluations until the pathogen reached the border of the Petri dish of the control treatment on days 1 and 2 submitted to the respective treatments 0, 5, 10, 20 and 40 mL.L⁻¹ of product to the base extract of the seaweed *Ascophyllum nodosum*.



Source: Prepared by the author

Figure 2. Means of the mycelial growth diameter of the fungus *Rhizopus stolonifer*, in mm, as a function of dosages of *Ascophyllum nodosum* extract at 0, 5, 10, 20 and 40 mL.L⁻¹ on day 2 of the assay.



Source: Prepared by the author

The results obtained in vitro indicate the possibility of an in vivo application using the *A. nodosum* extract to control soft rot in strawberry fruits. Similar responses were obtained by Silva¹⁴ evaluated the product in the post-harvest control of anthracnose in young finger peppers (*Capsicum baccatum* L.), and observed a 50% reduction in fungal incidence at a dose of 100 mL.L⁻¹.

This inhibitory effect of algal extract on pathogens may occur due to the presence of substances produced by marine macroalgae as a defense mechanism, since they develop in an environment of extreme conditions such as salinity, temperature and competition¹⁵.

Seaweed extracts have shown an effect on the growth of a wide range of phytopathogenic fungi^{16,17,18,19}. Coşoveanu¹⁶, showed reductions in the mean diameter of the colonies of the fungi *Fusarium roseum*, *F. oxysporum*, *Alternaria alternata*, *A. dauci*, *A. longipes*, *Trichoderma viride*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* and *Penicillium expansum*. These differences ranging from 50% to 90%, when in the presence of extracts of the macroalgae *Alaria esculenta*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus* sp. and *Eklonia maxima*, all available commercially.

Peres¹⁵, obtained results that confirm those observed in these trials, since the authors observed a suppressive effect of the alcoholic extract of *A. nodosum* seaweed on the growth of the fungus *Colletotrichum lagenarium*. However, the extract had no significant effect on growth inhibition of the fungus *Aspergillus flavus*. In *Monilinia fructicola*, *A. nodosum* extract presented contrasting responses to those observed in these trials. The product induced mycelial growth of the fungus and this increase was proportional to the increase of the doses of the extract applied²⁰.

After quantification of the extract dosage of *A. nodosum* algae required inhibiting *R. stolonifer* fungus, the most appropriate treatment proposed by linear regression was applied to strawberry fruits to evaluate post-harvest control against soft rot.

Strawberries treated with algal extract at 40 mL.L⁻¹ and inoculated with opatogen by means of mycelial disc remained without incidence of the disease after 24, 48 and 72 hours of inoculation.

It was verified the possibility of the algae extract to have its efficiency impaired by the sanitization of the fruits carried out by the addition of sodium hypochlorite. In this way an experiment was installed containing the following treatments: Treatment 1 (T1) - Sanitized strawberry; Treatment 2 (T2) - Strawberry sanitized and treated with Algae Extract, Treatment 3 (T3) - Strawberry only treated with algae extract.

Evaluating the fruits affected or not by soft-rot and whether or not submitted to the product based on *A. nodosum* and the sanitizer, it was possible to find differences between treatments as shown in Table 1.

Table 1. Averages of incidence rates of soft-rot on strawberry fruits submitted or not to sanitization and, treated or not with the extract product of the alga and *Ascophyllum nodosum* on the third day of evaluation.

Treatments	Incidence (%)
T3 - Strawberry + 40 mL.L ⁻¹ seaweed extract	77.74 a
T2 - Strawberry + Sanitary water + 40 mL.L ⁻¹ alga	96.28a
T1 - Strawberry + Sanitary water	100.00b

Source: Prepared by the author

In Figure 3A it is possible to observe the behavior of the pathogen in Treatment 2 (T2) after 72h of inoculation, with incidence of 96.28% of the disease. In Figure 3B, it is possible to observe the strawberry fruits representative of Treatment 3 that resisted the action of the pathogen causing soft-rot accounting for 77.74% of incidence; we also observed that the amount of mycelium of the pathogen in Treatment 2 is lower than in Treatment3, where the predominance of black sporangia.

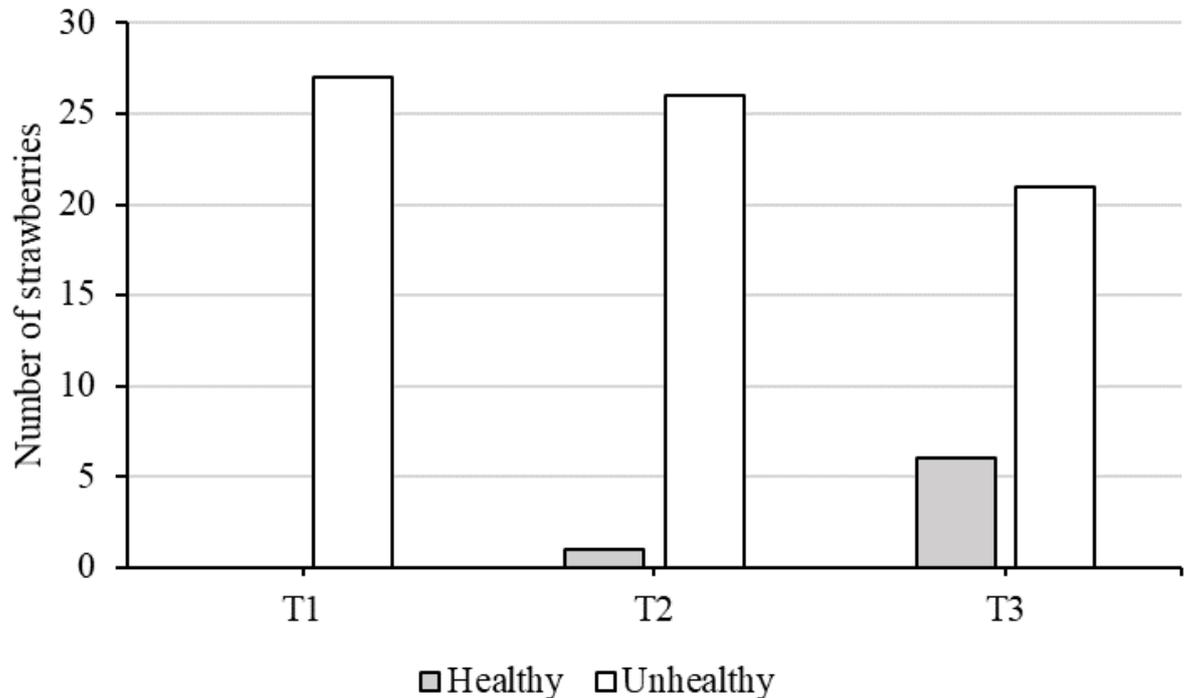
Figure 3. (A) Strawberries sanitized and immersed in *Ascophyllum nodosum* extract, inoculated with disc containing the *Rhizopus stolonifer* pathogen 72 hours after inoculation and incubation at 25° without Treatment 2 (T2).(B) Strawberries immersed in the extract of *Ascophyllum nodosum* at 72 h after inoculation with mycelial disk of the *Rhizopus stolonifer* and pathogen incubated at 25°C in Treatment 3 (T3).



Source: Prepared by the author

The graph represented by Figure 4 indicates the amount of healthy and contaminated strawberries on the third day of the experiment, day corresponding to the incidence of 100% of the fruits of T1 treatment "Witness".

Figure 4. Quantity of strawberries contaminated in Treatment T1 - Strawberry + Sanitary Water, Treatment T2 - Strawberry + Sanitary Water + 40 mL.L-1 Algae and Treatment T3 - Strawberry + 40 mL.L-1 Algae, after 72 hours of incubation at 25 °C.



Source: Prepared by the author

The results presented in Table 2 where the treatments of the in vivo experiment T2 and T3 do not differ statistically, corroborate with the results of the in vitro test of mycelial growth in culture medium where the extract of algae was able to reduce the growth of *R. stolonifer*.

In the in vitro assay with sodium hypochlorite, a product used as a sanitizer in strawberry fruits, we did not observe growth of the pathogen on plaques where *A. nodosum* algae extract was present, regardless of the addition or not of the sanitizer, according to Table 2.

To verify if there was a change in pH after the addition of the seaweed extract, it was measured in medium containing only PDA and medium containing PDA added with the algae extract. The measure obtained for the BDA was 5.66 and for the other means the values were between 7.28 - 7.57 according to Table 2.

The addition of the *A. alodosum*-based algae extract provided an increase in the pH of the medium, which changed from the acid scale to the basic one, remaining very close to the ideal pH for maintenance of the algae extract at pH between 7,8 a 8.2¹². This basic stability was sufficient to inhibit growth of the pathogen preferring growth at acidic pH.

For Fernandes²¹ in experiments aimed at controlling soft rot in tomatoes, the presence of the fungus in the fruits can be justified by the fact that they have high sugar content and pH between 4.2 and 5.8 which neglects the growth of bacteria that do not whether lactic, so fungal growth prevails.

Table 2. Averages of fungus incidence data in *in vitro* tests to verify the influence of bleach.

Treatments	Incidence (%)	pH
T3 - PDA + 40 mL.L ⁻¹ Seaweed	0.00a	7.28
T2 - PDA + 40 mL.L ⁻¹ Alga + Sanitary water	0.00a	7.57
T1 - PDA	100.00b	5.66

Means followed by the same letter did not differ statistically by the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). Source: Prepared by the author

The physical-chemical analyzes for soluble solids, pH, titratable acidity, total sugars, total solids, color and firmness did not present significant differences between the *in vivo* T1 and T3 treatments to which the strawberries were submitted. Therefore, the treatment with the product based on the seaweed extract does not interfere in the physical-chemical characteristics of the fruits, according to Table 3.

Table 3. Mean values of the physical-chemical variables Firmness and Color for the strawberry fruits submitted to the treatment with the product with *Ascophyllum nodosum* extract at the concentration of 40 mL.L⁻¹ and Witness at the concentration of 0 mL.L⁻¹ of the seaweed extract.

Treatments	Firmness (g)	Color (Hue)	Luminosity (L*)
Control (T1)	92.77 a	0.56 a	32.09 a
Strawberry + 40 mL L ⁻¹ Seaweed (T3)	97.57 a	0.50 a	31.12a

Means followed by the same letter do not differ statistically by the F test ($p \leq 0.05$). Source: Prepared by the author

Rezende²² when submitting guava fruits to the volatile compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* to control anthracnose, obtained satisfactory results in the physico-chemical quality. Parameters such as color, soluble solids content, firmness and pH were not interfered after treatment with volatile compounds. For the authors, no significant differences were observed between the control treatment and the others on the three days of evaluation of the guavas, concluding that addition of the compounds did not interfere in the sensorial quality of the fruits.

Table 4 presents the variables acidity, sugars, pH, solids solids and total solids, where the total soluble solids (TSS) content does not differ between treatments T1 and T3. For the pH parameter, the range is between 3.34 and 3.48, which is common among strawberry species such as Camino Real, San Andreas and Camarosa. Still, according to Musa²³, the pH of the strawberry varies between 3 and 3,9. The results for ° Brix obtained by Silva²⁴ in strawberry varieties such as San Andreas, Camarosa and Camino Real presented respectively higher TSS contents, with 7.58 ° Brix; Camarosa presented 7.08 ° Brix and the lowest content was found in the cultivar Camino Real with 6.58 ° Brix. The results obtained in the present study were on average 6.75 for T1 and 6.83 for T3 within the range presented in the literature.

Silva²⁴, when studying TSS in strawberry fruits, concluded that the plants submitted to irrigation with the extract of *A. nodosum* showed an increase of the parameter in the fruits. It is understood that the fruit immersed in the extract based on *A. nodosum* in the presented treatment contributed to the increase of the SST content of 6.75 for T1 compared to 6.83 found for the strawberry added of the algae extract.

Table 4. Means of physicochemical variables Acidity, Sugars, pH and Brix for the strawberries of T1 Treatment representing control and Treatment T3 with addition of *Ascophyllum nodosum* seaweed extract at the concentration of 40 mL.L⁻¹.

Treatments	Acidity *	Suggars**	pH	TS**	TSS***
Control (T1)	1.19a	4.29a	3.34a	9.84 a	6.75a
Strawberry + 40 mL L ⁻¹ Seaweed (T3)	1.19 a	4.12 a	3.48a	10.10 a	6.83a

*(g/100g Citric acid) **(g/100g) ***(°Brix). Averages followed by the same letter do not differ statistically by the F test (p ≤ 0,05). Source: Prepared by the author

The fruits of the strawberry treated with the seaweed *A. nodosum* presented post-harvest profiles as pH above 3.30 and acidity above 0.80 g/100 g of Citric Acid, which allows us to attest to the potential of the use of algae *A. nodosum* for treatment of post-harvest strawberries.

CONCLUSION

The extract-based product of the seaweed *Ascophyllum nodosum* inhibits the mycelial growth of the pathogen *Rhizopus stolonifer* as its concentration is increased. The concentration of the product for total phytopathogen inhibition is 40 mL L⁻¹.

The extract of algae reduces the incidence of soft rot in strawberry fruits when treated at the concentration of 40 mL L⁻¹ and inoculated by means of disk of medium containing phytopathogen mycelium without elevation of relative humidity and under temperature of 25°C.

The treatment of the strawberry fruits with algae extract does not alter the physical-chemical characteristics of the same indicating potential as a tool for post-harvest handling against soft-rot.

REFERENCES

- Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF). Accessed in 02 ago. 2015; Available from: <http://www.ibraf.org.br/>.
- Fischer IH, Arruda MC, Almeida AM, Garcia MJ, Jeronimo EM, Pinotti RN, Bertani RM. Doenças e características físicas e químicas pós-colheita em maracujá amarelo de cultivo convencional e orgânico no centro oeste paulista. *Rev. Bras. Frutic.* 2007; 29(2):254-9.
- Galli JA, Fischer IH, Palharini MD. Doenças pré e pós-colheita em variedades de manga cultivadas em sistema orgânico. *Rev. Bras. Frutic.*, 2012; 34(3):734-43.
- Henz GP, Reis A, Silva KC, Pereira SF. Incidência de doenças de pós-colheita em frutos de morango produzidos no Distrito Federal. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento.* 2008;45.
- Pearson RC, Goheen AC. *Compendium of grape diseases.* Aps Press; 1990.
- Food Agriculture Organization (FAO). Perdas e desperdícios de alimentos na América Latina e no Caribe. 2014. Accessed in 18 jun. 2019. Available from: <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/239394/>.
- Food Agriculture Organization (FAO). FAO: 30% de toda a comida produzida no mundo vai parar no lixo.2017. Accessed in 18 jun. Available from: <https://nacoesunidas.org/fao-30-de-toda-a-comida-produzida-no-mundo-vai-parar-no-lixo/>.
- Dias, MSC. Cultivo de morango orgânico é alternativa para agricultores familiares da região central de Minas. EPAMIG, MG. 2011. Accessed in 24 mai. 2017. Available from: http://www.epamig.br/index.php?option=com_content &task=view&id=1346&Itemid=68.
- Agrios GN. Introduction to plant pathology. *Elsevier Academic Press Publication.* 2005;922:23-37.
- Amorim L, Rezende JA, Bergamin Filho A, Camargo LE. *Manual de fitopatologia.* Editora UFV. 2016.
- Beninca, CP; Franzener, G; Assil, L; Costa, M.A; Nogueira, J. R. Indução de fitoalexinas e atividade de peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de Basidiocarpos de *Pycnoporus Sanguineus.* *Arq. Inst. Biol.*, 2008; 75(3): 285-292.
- Carvalho, MEA; Castro, PRC. *Extratos de algas e suas aplicações na agricultura.* Piracicaba: Divisão de Biblioteca (DIBD) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), Série Produtor Rural. 2014; 56.
- Ferreira DF. Sisvar: um guia dos seus procedimentos de comparações múltiplas Bootstrap. *Ciênc. agrotec.* 2014;38(2):109-12.

14. Silva, T. P. Características Produtivas e Físico-Químicas de Frutos de Morangueiro Orgânico Cultivado com o uso de Extrato de Algas. 2011. Accessed in 24 mai. 2017. Available from: <http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/26514/DISSERTACAO%20THATHIANY%20PORTO%20%20VERSAO%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
15. Peres JC, Carvalho LR, González E, Berian LO, Felício JD. Evaluation of antifungal activity of seaweed extracts. *Ciênc. agrotec.* 2012; 36(3):294-9.
16. Coşoveanu AREEA, Axine O, Iacomí B. Antifungal activity of macroalgae extracts. *UASVM Bucharest*, 2010; 3, 442-447.
17. Jiménez-Escrig A, Gómez-Ordóñez E, Rupérez P. Seaweed as a source of novel nutraceuticals: sulfated polysaccharides and peptides. In *Advances in food and nutrition research. Academic Press.* 2011; 1(64):325-337.
18. Ambika S, Sujatha K. Comparative studies on brown, red and green alga seaweed extracts for their antifungal activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. udum in Pigeon pea var. CO (Rg) 7 (*Cajanus cajan* (L.) Mills.). *JBiopest.* 2014; 7(2):167.
19. Ambika S, Sujatha K. Antifungal activity of aqueous and ethanol extracts of seaweeds against sugarcane red rot pathogen (*Colletotrichum falcatum*). *Sci. Res. Essay;* 2015;30;10(6):232-5.
20. Oliari IC, Barcelos RA, Fedrigo K, Garcia C, Marchi T, Botelho RV. Extrato de alga no controle *in vitro* de *Monilinia fruticola*. *ABA-Agroecologia.* 2014; 21(1):9.
21. Fernandes, AKC.; Cruz, CDF.; Formiga, LDAS. Análise do crescimento de fungos no fruto do tomate (*Solanum lycopersicum*; *solanaceae*). Accessed in 18 jun. 2019. Available from: <https://even3.blob.core.windows.net/anais/67533.pdf>.
22. Rezende DC. Efeito de compostos orgânicos voláteis identificados a partir de *Saccharomyces cerevisiae* sobre *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* e no controle da antracnose em goiaba (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo). 2010.
23. Musa CI. Caracterização físico-química de morangos de diferentes cultivares em sistemas de cultivo distintos no município de Bom Princípio/RS. 2016. Accessed in 23 jan. 2018. Available from: <https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/1594/1/2016CristianeInesMusa.pdf>.
24. Silva, J F et al. Otimização da aplicação de um bio-estimulante para o aumento da produtividade e qualidade do morango. *Actas Portuguesas de Horticultura.* 2014; 1 (23): 380-388.