

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR

***Bacillus subtilis* E *Trichoderma harzianum* NA QUALIDADE E NA OCORRÊNCIA DE
ANTRACNOSE EM FRUTOS DE BANANA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

THAYNA VIENCZ

GUARAPUAVA-PR

2019

THAYNA VIENCZ

***Bacillus subtilis* E *Trichoderma harzianum* NA QUALIDADE E NA OCORRÊNCIA DE
ANTRACNOSE EM FRUTOS DE BANANA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Professor Dr. Renato Vasconcelos Botelho

Orientador

Professora Dr^a. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria

Co-Orientadora

GUARAPUAVA-PR

2019

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Santa Cruz

V662b Viencz, Thayna
Bacillus subtilis E *Trichoderma harzianum* na qualidade e na ocorrência de antracnose em frutos da banana / Thayna Viencz. -- Guarapuava, 2019. xii, 89 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, 2019

Orientador: Renato Vasconcelos Botelho
Orientadora: Cacilda Márcia Duarte Rios Faria
Banca examinadora: Jackson Kawakami, Ricardo Antonio Ayub, Renato Vasconcelos Botelho

Bibliografia

1. Agronomia. 2. *Colletotrichum musae*. 3. *Musa* spp.. 4. Agentes de biocontrole. 5. Doença. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

CDD 630

Thayna Viencz


***Bacillus subtilis* E *Trichoderma harzianum* NA QUALIDADE E NA OCORRÊNCIA DE ANTRACNOSE EM FRUTOS DE BANANA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

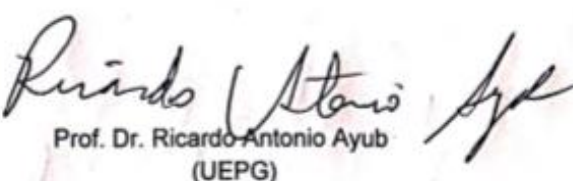
Aprovada em 11 de fevereiro de 2019.



Prof. Dr. Renato Vasconcelos Botelho
(UNICENTRO)



Prof. Dr. Jackson Kawakami
(UNICENTRO)



Prof. Dr. Ricardo Antonio Ayub
(UEPG)

GUARAPUAVA-PR

2019

Pai e Mãe,
Com muito orgulho eu lhes dedico esta dissertação!

AGRADECIMENTOS

À Deus pela minha vida e proteção.

Aos meus pais, Wilson e Ana, por sempre acreditarem em mim e me apoiarem em seguir na vida acadêmica.

Ao Bruno Kailer, pelo companheirismo e compreensão neste período de grandes dificuldades e falta de tempo, pelo apoio e incentivo nesta caminhada.

O meu orientador Dr. Renato Vasconcelos Botelho pela dedicação e todo ensinamento, pela paciência e apoio incondicional, e por insistir em meu trabalho mesmo frente as dificuldades encontradas.

A minha co-orientadora Dr^a Cacilda Márcia Duarte Rios Faria pelo conhecimento repassado, pela atenção e ajuda sempre que precisei.

As meninas do Laboratório de Fruticultura e Pós-colheita, por toda a ajuda desde o momento em que cheguei no Programa de Pós-Graduação e na montagem dos experimentos.

As minhas amigas Laís Cristina Bonato e Janaina Marek, pelo apoio, companheirismo e por não me deixarem desistir frente aos problemas que surgiram nesta caminhada, e principalmente pelo laço de afeto construído entre nós.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| LISTA DE FIGURAS | i |
| LISTA DE TABELAS | iii |
| RESUMO | iv |
| ABSTRACT | v |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 OBJETIVOS | 3 |
| 2.1 Objetivo geral | 3 |
| 2.2 Objetivos específicos | 3 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO | 4 |
| 3.1 A cultura da banana | 4 |
| 3.1.1 Origem | 4 |
| 3.1.2 Importância econômica | 4 |
| 3.1.3 Características botânicas | 5 |
| 3.1.4 Maturação dos frutos de banana | 6 |
| 3.1.5 Pós-colheita de banana | 7 |
| 3.2 Ocorrência de doenças em pós-colheita | 8 |
| 3.2.1 Antracnose (<i>Colletotrichum musae</i>): aspectos gerais da doença | 9 |
| 3.3 Controle da antracnose | 10 |
| 3.4 Agentes de controle biológico | 11 |
| 3.4.1 <i>Trichoderma</i> spp. | 12 |
| 3.4.2 <i>Bacillus</i> spp. | 13 |
| 3.5 Estresse oxidativo | 15 |
| 3.6 Análise sensorial | 16 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 17 |
| 4.1 Local do experimento | 17 |
| 4.2 Material experimental | 17 |
| 4.3 Experimentos <i>in vitro</i> | 18 |
| 4.3.1 Isolamento de <i>Colletotrichum musae</i> | 18 |
| 4.3.2 Pareamento de <i>T. harzianum</i> e <i>B. subtilis</i> com <i>C. musae</i> | 18 |
| 4.3.3 Teste de controle de germinação de esporos | 20 |
| 4.4 Experimento <i>in vivo</i> | 22 |
| 4.4.1 Controle de <i>C. musae</i> em pós colheita de frutos de banana | 22 |
| 4.5 Análise enzimática | 25 |
| 4.5.1 Coleta e obtenção dos extratos enzimáticos | 25 |
| 4.5.2 Proteínas totais | 26 |

| | |
|---|-----------|
| 4.5.3 Peroxidase | 26 |
| 4.6 Peroxidação lipídica | 26 |
| 4.7 Efeitos dos agentes de controle biológico sobre as características físico-químicas dos frutos..... | 27 |
| 4.8 Análise sensorial | 31 |
| 4.9 Análises estatísticas | 32 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 34 |
| 5.1 Experimentos <i>in vitro</i> | 34 |
| 5.1.1 Pareamento de <i>T. harzianum</i> e <i>B. subtilis</i> com <i>C. musae</i> | 34 |
| 5.1.2 Teste de controle de germinação de esporos | 37 |
| 5.2 Experimento <i>in vivo</i>..... | 39 |
| 5.2.1 Controle de <i>C. musae</i> em pós colheita de frutos de banana..... | 39 |
| 5.3 Análise enzimática..... | 41 |
| 5.3.1 Peroxidase | 41 |
| 5.4 Peroxidação lipídica | 46 |
| 5.5 Efeitos dos agentes de controle biológico sobre as características físico-químicas dos frutos..... | 46 |
| 5.6 Análise sensorial | 66 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 72 |
| 7. CONCLUSÕES | 74 |
| 8. REFERÊNCIAS | 75 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Cultura de *Colletotrichum musae* (A) fruto de banana inoculado com conídios de *Colletotrichum musae* (B) conídios de *Colletotrichum musae* (C). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 18
- Figura 2.** Conídios de *Colletotrichum musae* (A) conídios de *Colletotrichum musae* germinados (B). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 22
- Figura 3.** Bananas após climatização em câmara com etileno (A) lavagem de bananas com detergente neutro a 0,2% (B) sanitização de bananas com hipoclorito de sódio a 0,5% (C). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 23
- Figura 4.** Lesão causada por *Colletotrichum musae*, agente causal da antracnose (A) frutos de banana dispostos em bandejas após tratamento e inoculação com conídios de *Colletotrichum musae* (B). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 24
- Figura 5.** Escala diagramática de antracnose (*Colletotrichum musae*), variando de 0,5 à 64%. Fonte: MORAES, 2008. 25
- Figura 6.** Lote inicial de frutos ‘Nanicão’ (A) pesagem dos buquês em balança digital (B). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 28
- Figura 7.** Aferição da firmeza de polpa em penetrômetro digital (A) pH da polpa de frutos de banana (B) coloração da casca com colorímetro digital (C). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 29
- Figura 8.** Escala de Von Loesecke. 1 (totalmente verde), 2 (verde com traços amarelos), 3 (mais verde que amarelo), 4 (mais amarela que verde), 5 (amarela com ponta verde), 6 (totalmente amarela) e 7 (amarela com áreas marrons). Fonte: PBMH; PIF, 2006. 30
- Figura 9.** Amostras de banana para degustação (A) amostras de banana numeradas aleatoriamente para avaliação da aparência e cor. Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2019. 31
- Figura 10.** Crescimento micelial (mm) de *T. harzianum* e *B. subtilis* sobre *C. musae*. Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 35
- Figura 11.** Porcentagem da germinação de esporos de *C. musae* tratados com *T. harzianum*. Ensaio realizado em duplicata. Médias (n = 10) seguidas de letras distintas, na mesma avaliação, diferem pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR, 2018. 37
- Figura 12.** Porcentagem da germinação de esporos de *C. musae* tratados com *B. subtilis*. Ensaio realizado em duplicata. Médias (n = 10) seguidas de letras distintas, na mesma avaliação, diferem pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR, 2018. 38
- Figura 13.** Atividade da enzima peroxidase (POD) e peroxidação lipídica (5 e 7 dias após inoculação) em frutos de banana inoculados com *C. musae* e tratados com diferentes produtos.

Inicial (I) testemunha absoluta (TA) testemunha inoculada (TI) *T. harzianum* (TH) *B. subtilis* (BS) *T. harzianum* + *B. subtilis* (TB) tiabendazol (TZ). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 43

Figura 14. Frutos submetidos à análise enzimática 5 dias após a inoculação com *C. musae*. *B. subtilis* (A) *T. harzianum* + *B. subtilis* (B) tiabendazol (C) testemunha absoluta (D) testemunha inoculada (E) *T. harzianum* (F). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 45

Figura 15. Percentual de perda de massa aos 4, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a colheita (DAC), em frutos de banana ‘Nanicão’, tratadas com diferentes agentes de controle biológico em pós-colheita. Barras indicam erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo tempo. Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos tempos. Letras distintas, diferem pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 49

Figura 16. Firmeza de polpa aos 4, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a colheita (DAC), em frutos de banana ‘Nanicão’, tratadas com diferentes agentes de controle biológico em pós-colheita. Barras indicam erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo tempo. Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos tempos. Letras distintas, diferem pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 57

Figura 17. Acidez titulável aos 4, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a colheita (DAC), em frutos de banana ‘Nanicão’, tratadas com diferentes agentes de controle biológico em pós-colheita. Barras indicam erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo tempo. Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos tempos. Letras distintas, diferem pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 61

Figura 18. Ratio aos 4, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a colheita (DAC), em frutos de banana ‘Nanicão’, tratadas com diferentes agentes de controle biológico em pós-colheita. Barras indicam erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo tempo. Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos tempos. Letras distintas, diferem pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018. 65

Figura 19. Análise de Componentes Principais (ACP), tratamentos em frutos de banana na pós-colheita sobre diferentes variáveis. Unicentro, Guarapuava/PR, 2019. 66

Figura 20. Análise de Componentes Principais (ACP), tratamentos em frutos de banana na pós-colheita sobre diferentes variáveis. Unicentro, Guarapuava/PR, 2019. 67

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Agentes de controle biológico utilizados no experimento..... | 17 |
| Tabela 2. Condições de temperatura e umidade relativa (UR) que frutos de banana foram expostos após tratamento pós-colheita com diferentes produtos para o controle de antracnose. | 24 |
| Tabela 3. Condições de temperatura e umidade relativa (UR) que frutos de banana foram expostos após tratamento pós-colheita com diferentes produtos para o controle de antracnose. | 28 |
| Tabela 4. Comparação das médias de incidência (AACPI) e severidade (AACPS) de antracnose em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos. Unicentro, Guarapuava/PR..... | 40 |
| Tabela 5. Resumo da análise de Equações de Estimações Generalizadas (GEE) para as fontes de variação tratamento e tempo. Unicentro, Guarapuava/PR..... | 47 |
| Tabela 6. Comparação múltipla das médias de luminosidade (L^*) em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos. | 51 |
| Tabela 7. Comparação múltipla das médias de hue em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos..... | 52 |
| Tabela 8. Comparação múltipla das médias de croma em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos..... | 53 |
| Tabela 9. Comparação das médias de variação de cor em frutos de banana ‘Nanicão’ tratadas na pós-colheita com diferentes produtos. | 54 |
| Tabela 10. Comparação múltipla das médias de sólidos solúveis em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos. | 59 |
| Tabela 11. Comparação múltipla das médias de pH em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos..... | 63 |
| Tabela 12. Matriz de correlação das variáveis físico-químicas e sensoriais em frutos de banana ‘Nanicão’ tratadas na pós-colheita com diferentes produtos. Guarapuava/ PR, 2019. | 68 |
| Tabela 13. Comparação das médias das variáveis físico-químicas e sensoriais em frutos de banana ‘Nanicão’ tratadas na pós-colheita com diferentes produtos. | 69 |

RESUMO

VIENCZ, Thayna. *Bacillus subtilis* e *Trichoderma harzianum* na qualidade e na ocorrência de antracnose em frutos de banana. Guarapuava: UNICENTRO, 2019. (Dissertação – Mestrado em Agronomia/Produção Vegetal).

O objetivo da pesquisa foi avaliar a eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* no controle pós-colheita de antracnose, no sistema antioxidativo e na qualidade pós-colheita de frutos de banana ‘Nanicão’. Foram realizados testes *in vitro* e *in vivo*. Os frutos destinados aos testes *in vivo* foram colhidos em 13/07/2018 em pomar localizado no município de Novo Itacolomi-PR, e passaram por climatização. Em todos os experimentos foi utilizado delineamento inteiramente casualizado. As avaliações *in vitro* consistiram no pareamento de *C. musae* com *T. harzianum* e *B. subtilis*, e no teste de germinação de esporos, ambos realizados em duplicata. Os tratamentos foram os seguintes: testemunha, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* e tiabendazol. O efeito dos tratamentos sobre *C. musae* foi avaliado através da medição diária do crescimento micelial. O efeito dos tratamentos sobre a germinação de esporos de *C. musae* foi avaliado por meio de contagem em cada cavidade na placa de teste de Elisa. Para verificar os efeitos dos tratamentos no controle da antracnose foram avaliadas a incidência (AACPI) e a severidade (AACPS) diariamente. Os tratamentos foram os seguintes: testemunha sem inoculação, testemunha com inoculação, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* e tiabendazol. Para avaliar os efeitos dos tratamentos na qualidade pós-colheita dos frutos foram realizadas avaliações de perda de massa, coloração, firmeza de polpa, sólidos solúveis, acidez titulável, pH e o ratio (SS/AT). Também avaliaram-se os efeitos dos tratamentos no sistema antioxidativo pela atividade da enzima peroxidase, além da peroxidação lipídica. Com base nos resultados, a aplicação de *T. harzianum* em frutos de banana ‘Nanicão’ foi eficiente no controle da severidade de podridões causadas por *Colletotrichum musae*, entretanto o agente biológico *B. subtilis* não foi eficiente neste processo. No sistema antioxidativo não foram observados efeitos significativos para ambos os agentes biológicos. Na qualidade pós-colheita os tratamentos com agentes de biocontrole não apresentaram efeito satisfatório sobre os frutos.

Palavras-Chave: *Colletotrichum musae*, *Musa* spp., agentes de biocontrole, doença.

ABSTRACT

VIENCZ, Thayna. *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* on the quality and occurrence of anthracnose in banana fruits. Guarapuava: UNICENTRO, 2019. (Dissertation – Master's in Agronomy/Plant Production).

The objective of the research was to evaluate the efficiency of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* in the post-harvest control of anthracnose, in the antioxidative system and in the post-harvest quality of 'Nanicão' banana fruits. In vitro and in vivo tests were performed. The fruits destined to the in vivo tests were harvested on 7/13/2018 in an orchard located in the municipality of Novo Itacolomi-PR, and underwent air conditioning. In all experiments a completely randomized design was used. The in vitro evaluations consisted of the pairing of *C. musae* with *T. harzianum* and *B. subtilis*, and in the spore germination test, both performed in duplicate. Treatments were as follows: control, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and thiabendazole. The effect of treatments on *C. musae* was evaluated by daily measurement of mycelial growth. The effect of treatments on spore germination of *C. musae* was evaluated by counting in each well on the Elisa test plate. To verify the effects of treatments on anthracnose control, the incidence (AUPCI) and severity (AUPCS) were evaluated daily. Treatments were as follows: control without inoculation, control with inoculation, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* and thiabendazole. In order to evaluate the effects of the treatments on the post-harvest quality of fruits, mass loss, staining, pulp firmness, soluble solids, titratable acidity, pH and the ratio (SS/TA) were evaluated. The effects of the treatments in the antioxidative system were also evaluated by the peroxidase enzyme activity, in addition to the lipid peroxidation. Based on the results, the application of *T. harzianum* in 'Nanicão' banana fruits was efficient in controlling the severity of rot caused by *Colletotrichum musae*, although the biological agent *B. subtilis* was not efficient in this process. In the antioxidative system no significant effects were observed for both biological agents. In the postharvest quality, the treatments with biocontrol agents did not show satisfactory effect on the fruits.

Keywords: *Colletotrichum musae*, *Musa* spp., biocontrol agents, disease.

1 INTRODUÇÃO

A fruticultura caracteriza-se como uma atividade de grande importância econômica e social no país, atuando como um dos principais geradores de renda e empregos (BUAINAIN; BATALHA, 2007). O Brasil destaca-se como o terceiro maior produtor mundial de frutas, com uma produção estimada de 45,6 milhões de toneladas para a safra de 2018 (KIST et al., 2018).

A bananeira pertence à família (Musaceae) e é considerada uma das principais culturas de interesse na fruticultura, ocupando a segunda posição entre as frutíferas mais produzidas mundialmente, com produção de 113 milhões de toneladas. O Brasil é o quarto maior produtor da fruta (FAO, 2016), com produção estimada para safra de 2018 de 6,9 milhões de toneladas, em uma área de 476 mil hectares (CONAB, 2018). O Estado do Paraná possui um dos maiores rendimentos da bananicultura do país. Em 2018 o cultivo em oito mil hectares, resultou na colheita de 195 mil toneladas da fruta (IBGE, 2018).

A sua cadeia produtiva enfrenta sérios problemas fitossanitários, responsáveis por perdas na fase de pós-colheita e comercialização (BETTIOL et al., 2012). Dentre eles destacam-se as podridões patogênicas, incluindo a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum musae*, (Berk. & M.A. Curtis) Arx (1957), responsável por deteriorar e contaminar os frutos, interferindo no seu valor de mercado (SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014).

A aplicação de fungicidas químicos é o método de controle mais utilizado no controle pós-colheita da antracnose em bananas. Para preservar a qualidade das frutas frescas, esses produtos atuam protegendo contra o ataque do patógeno por ação sistêmica (SPONHOLS et al., 2004). Entre os fungicidas sistêmicos registrados para o controle da antracnose em bananeira, encontram-se o tiabendazol e o imazalil (AGROFIT, 2018).

Embora o controle de patógenos na pós-colheita ainda dependa da utilização de fungicidas, há fortes restrições ao uso desses produtos químicos devido aos impactos ambientais e à saúde humana (FARZANEH et al., 2015; ABDEL-RAHIM; ABO-ELYOUSR, 2017). Desta forma, a integração entre fungicidas de baixo risco e tratamentos alternativos têm mostrado resultados promissores no controle da antracnose na cultura da banana, dentre eles destacam-se: tratamento hidrotérmico (VILAPLANA et al., 2018a), refrigeração (COELHO et al., 2010), aplicação de extratos (FIGUEIREDO et al., 2017), óleos vegetais (VILAPLANA et al., 2018b) e agentes de controle biológico (SHU et al., 2017).

O controle biológico utilizando micro-organismos antagonistas pode ser aplicado tanto em pré quanto em pós-colheita e tem apresentado considerável sucesso principalmente no

controle de doenças (ABANO; SAM-AMOA, 2012). Dentre os micro-organismos mais utilizados estão os gêneros *Trichoderma* e *Bacillus* (BETTIOL et al., 2012).

O gênero *Trichoderma* é constituído por fungos filamentosos e o gênero *Bacillus* é composto por bactérias gram positivas, ambos capazes de sintetizar antibióticos (FREITAS; PIZZINATTO, 1997; HOWELL, 2003; KUMAR et al., 2012). Além de atuarem por mecanismos de antibiose (KUPPER et al., 2003; BEDENDO et al., 2011), parasitismo (ZIVKOVIC et al., 2010) e competição por nutrientes e substrato (KIM; KNUDSEN, 2013).

Os agentes de controle biológico também podem alterar o sistema antioxidante, induzir níveis de resistência à doenças e aumentar a atividade de enzimas associadas à defesa (BORDBAR et al., 2010; LU et al., 2013). Dentre as características desejadas para um agente de biocontrole espera-se que esse seja capaz de preservar a qualidade de frutas e vegetais quando aplicado (WISNIEWSKI et al., 1988).

O efeito desses dois agentes biológicos no controle de fitopatógenos na pós-colheita tem sido estudado em várias culturas, como pêssegos (CASALS et al., 2012), framboesa (ANTONIOLLI et al., 2011), banana (OLIVEIRA et al., 2016), pimenta (AMARO et al., 2018), citros (LEELASUPHAKUL et al., 2008) e pimentão (SILVA et al., 2014). Algumas pesquisas verificaram a redução das perdas por podridões após aplicação de agentes de biocontrole (ZHANG et al., 2009; ALVINDIA, 2013), entretanto não há muitos estudos que avaliaram os atributos de qualidade de frutas após esse tratamento. Por esse motivo são necessários outros trabalhos para verificar se há influência negativa dos agentes de biocontrole sobre a qualidade de frutas e vegetais (ABANO; SAM AMOA, 2012).

Por ser uma fruta muito apreciada pelo consumidor e largamente comercializada em sua forma *in natura*, trabalhos de pesquisa para garantir a qualidade dos frutos no período pós-colheita, são de grande importância, visando obter avanços nesta etapa. Visto que há poucos trabalhos com a utilização de agentes de controle biológico para o controle de antracnose em bananas, esta aplicação torna-se uma alternativa interessante para ser testada, além disso, é de suma importância a avaliação dos atributos de qualidade após a aplicação dos antagonistas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência de *Trichoderma harzianum* e *Bacillus subtilis* no controle pós-colheita de antracnose (*Colletotrichum musae*), no sistema antioxidativo e na qualidade pós-colheita de frutos de banana ‘Nanicão’.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar o controle *in vitro* de *T. harzianum* e *B. subtilis* no desenvolvimento de *C. musae*;
- Avaliar a atividade *in vivo* de *T. harzianum* e *B. subtilis* no controle de antracnose em frutos de banana;
- Mensurar os efeitos de *T. harzianum* e *B. subtilis* na atividade da enzima peroxidase e as respostas na peroxidação lipídica em frutos de banana;
- Analisar os efeitos dos tratamentos com agentes de controle biológico nas características físico-químicas de frutos de banana;
- Analisar sensorialmente frutos de banana tratados com agentes de controle biológico na pós-colheita.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A cultura da banana

3.1.1 Origem

A bananeira é tipicamente uma espécie de clima tropical, originária do continente Asiático, a partir da domesticação dos cultivos alimentícios pelo homem, através da combinação natural das espécies selvagens diplóides, *Musa acuminata* Colla progenitora do genoma A e *Musa balbisiana* Colla progenitora do genoma B (DANTAS; SOARES FILHO, 1995; NAVA, 1997; EMBRAPA, 2006). A partir delas surgiram as espécies comestíveis, classificadas em grupos diplóide (AA, BB e AB), triplóide (AAA, AAB, ABB) e tetraplóide (AAAA, AAAB, AABB, ABBB) (FIGUEIREDO; BRIOSO, 2007).

Além de ser uma cultura que apresenta produção durante todo o ano, as bananeiras possuem ampla adaptação, crescem a partir de um bulbo ou rizoma e são encontradas em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo (FIORAVANÇO, 2003; PBMH; PIF, 2006). No Brasil, as bananeiras já existiam desde antes do seu descobrimento, pois há relatos de que os indígenas já consumiam a fruta *in natura* antes da chegada dos portugueses (MOREIRA, 1999).

3.1.2 Importância econômica

A banana (*Musa* spp.) está entre as frutas mais consumidas e de maior interesse na fruticultura, ocupando a segunda posição entre as frutíferas mais produzidas mundialmente. É cultivada em mais de 80 países, com produção mundial de 113 milhões de toneladas (FAO, 2016).

A Índia é o maior produtor, seguido de China e Filipinas, o Brasil é o quarto maior produtor mundial da fruta, com produção estimada de 6,9 milhões de toneladas, para a safra de 2018, em uma área de 476 mil hectares (CONAB, 2018). Entre os países exportadores da fruta destacam-se a Costa Rica e o Equador, sendo o Equador responsável por 30% do comércio mundial (FAO, 2016).

O Brasil é um grande produtor da fruta, porém, toda sua produção é destinada ao consumo interno, dessa forma, o país apresenta baixa representação entre os países exportadores (BETTIOL et al., 2012). A bananeira é cultivada extensivamente em todos os estados brasileiros, conseqüentemente, representa um papel significativo na economia nacional. Os

principais estados produtores são: São Paulo, Bahia, Minas Gerais e Santa Catarina, sendo responsáveis por 53,2% da produção brasileira.

O Estado do Paraná apresenta um dos maiores rendimentos do país, resultante de sua mão de obra tecnicada, sendo que no ano de 2018 o cultivo de banana em oito mil hectares, resultou na colheita de 195 mil toneladas (IBGE, 2018).

3.1.3 Características botânicas

Botanicamente, as bananeiras da família Musaceae que produzem frutos comestíveis são classificadas como monocotiledôneas e pertencem ao gênero *Musa* (SIMMONDS, 1966; 1973). Caracterizam-se como plantas herbáceas que tem sua parte aérea cortada após a colheita. Possuem caule curto e subterrâneo, denominado de rizoma, onde ocorre a formação das raízes, folhas, inflorescências e rebentos. O pseudocaule ou tronco, é formado por bainhas foliares sobrepostas e no prolongamento destas bainhas foliares encontram-se as folhas. O cacho é composto pelo engaço, ráquis, pencas de bananas e botão floral ou “coração” (MEDINA, 1961; MANICA, 1997).

Os frutos se originam a partir das flores femininas inseridas no ráquis, em geral são partenocárpicas, correspondendo ao ovário desenvolvido sem fecundação, logo, não há sementes (SOTO BALESTERO, 1992; MOREIRA, 1999). São classificados como uma baga alongada, na qual o epicarpo corresponde a casca e o mesocarpo a polpa (MOREIRA, 1987). São colhidos antes da completa maturação, ainda verdes, no estágio de completo desenvolvimento fisiológico, o qual é indicado, na maioria das cultivares, pelo desaparecimento das quinas dos frutos (BLEINROTH et al., 1992). Além disso, a banana é um fruto que apresenta padrão respiratório climatérico, caracterizado pelo aumento da taxa respiratória e aumento da produção do etileno durante o armazenamento (TRINDADE et al., 2004).

O que caracteriza a banana como uma planta tropical é exatamente a exigência em calor constante, alta luminosidade, boa distribuição de chuvas e elevada umidade relativa do ar (MOREIRA, 1987; ALVES et al., 1999; EMBRAPA, 2006). Considerando a faixa de temperatura, a bananeira pode ser cultivada em ambientes com valores entre 15 e 35 °C, sendo 28 °C a temperatura ideal para o desenvolvimento da cultura (BORGES et al., 2009). Temperaturas que variam além desses limites podem paralisar o seu crescimento (EMBRAPA, 2006).

As cultivares de banana mais difundidas no Brasil são: ‘Prata’, ‘Pacovan’, ‘Prata-Anã’,

‘Maçã’, ‘Mysore’, ‘Terra’ e ‘D’Angola’, do grupo AAB, utilizadas unicamente para o mercado interno, e ‘Nanica’, ‘Nanicão’ e ‘Grande Naine’, do grupo AAA, que fazem parte do subgrupo *Cavendish* e também são conhecidas como ‘banana-d’água’ ou ‘caturra’, as quais apresentam frutos delgados, longos, encurvados, de cor amarelo-esverdeada ao amadurecer, com polpa muito doce, destinados principalmente à exportação (EMBRAPA, 2006).

A cultivar Nanicão pertencente ao grupo genômico AAA, é uma mutação da cultivar Nanica que ocorreu no Estado de São Paulo (MOREIRA; SAES, 1984). Possui porte médio-baixo com pseudocaule entre 3,0 a 3,5 m de altura, folhas de mesma coloração e semelhantes a cultivar Nanica. O cacho é cilíndrico, de porte médio a grande, com peso entre 25 a 50 kg, com produção de 10 a 15 pencas, e 16 a 34 frutos por penca, totalizando 150 a 290 dedos. Os frutos têm de 15 a 26 cm de comprimento, pesam entre 90 e 290 g, e são mais curvos que os da ‘Nanica’. A cultivar apresenta ciclo vegetativo de 11 a 13 meses, sendo que do plantio ao florescimento transcorrem de 7,5 a 8,5 meses, e do florescimento à colheita, de 3,5 a 4,5 meses (CORDEIRO, 2000).

Quando as bananas ‘Nanicão’ estão maduras, no estágio de coloração 6 (totalmente amarelas), suas características físico-químicas são as seguintes: pH de 4,76, firmeza de 3,56 N, acidez titulável de 0,36% de ácido málico por 100 g de polpa, sólidos solúveis totais de 17,13 °Brix (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008).

3.1.4 Maturação dos frutos de banana

A banana é um fruto climatérico que pode amadurecer na planta ou após a sua colheita. O climatérico é um processo caracterizado pelo aumento na atividade respiratória e produção do hormônio etileno, ambos capazes de induzir o rápido amadurecimento e responsáveis por uma série de transformações nos frutos. O chamado pico climatérico é o momento de maior liberação de gás carbônico (CO₂) pela fruta e de maior produção de etileno, marcando o início da senescência (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os frutos de banana perdem sua massa, associada principalmente à perda de água causada pelos processos de transpiração e respiração durante o amadurecimento (SIGRIST, 1992), e esta perda é superior quando os frutos são armazenados em altas temperaturas e/ou baixa umidade relativa (BOTREL et al., 2001). Além disso, quanto maior o grau de amadurecimento, maior é a perda de massa, chegando a níveis muito elevados na senescência, quando a fruta não encontra-se em condições para o consumo (SILVA et al., 2006).

O amadurecimento é acompanhado de alterações nos atributos físicos e químicos da fruta, ocorrendo inicialmente a degradação da clorofila e a síntese de outros pigmentos, envolvendo modificações na cor, como a pigmentação amarela da casca, a conversão do amido em açúcar, mudanças no sabor e aroma a partir da redução da acidez e da adstringência. Além de mudanças na textura, pelo amaciamento da polpa em decorrência da solubilização das pectinas, características da banana madura (TRINDADE et al., 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Esta fruta apresenta sérias limitações na pós-colheita, pois apresenta amadurecimento rápido e irreversível, que resulta na rápida deterioração e na alta incidência de podridão durante o manejo e conservação, uma vez que é suscetível a diversas doenças pós-colheita causadas por um grande número de patógenos fúngicos. Isso faz com que a banana madura tenha vida de prateleira relativamente curta, cerca de seis a oito dias, em temperatura ambiente (HUANG et al., 2014; ALEMU, 2014; AHMED; PALTA, 2016).

Uma forma de contornar o rápido amadurecimento é o uso da cadeia de frio. Entretanto, o armazenamento em temperaturas inferiores a 13 °C, os efeitos benéficos à banana são limitados, pois há o desenvolvimento de distúrbios associados ao dano pelo frio, denominado de *chilling*, que causa o escurecimento da casca e a dificuldade de amadurecimento, fato esse que pode prejudicar a comercialização dos frutos (NGUYEN, 2003).

A banana é um alimento energético com cerca de 85 kcal 100 g⁻¹, apresenta, em sua composição considerável teor de carboidratos (22,2 %), sendo rica em vitaminas e sais minerais, destacando-se a vitamina A (retinol), B1(tiamina), B2 (riboflavina) e C (ácido ascórbico), o potássio (3,5 a 4 %), fósforo (2,5 a 3 %), cálcio (0,8 a 1 %), sódio (4 a 5 %) e o magnésio (2,5 a 3,5 %) (CARVALHO et al., 2002; LIMA et al., 2012).

3.1.5 Pós-colheita de banana

Os frutos climatéricos apresentam rápida maturação, conseqüentemente, são altamente perecíveis, apresentam curta vida útil pós-colheita e sérias limitações de manuseio e transporte. Entre as principais perdas na cadeia de comercialização dessas frutíferas estão as que ocorrem após a colheita, decorrentes de danos mecânicos, do rápido amolecimento e infestações de micro-organismos nos frutos. Por esta razão, a colheita é realizada em um estágio de pré-climatério, com a finalidade dos frutos suportarem o processo de manuseio, armazenamento e transporte. A baixa qualidade da banana é causada principalmente durante o período de pós-

colheita, por práticas de manejo inadequadas e a atuação de micro-organismos, que aceleram o amadurecimento dos frutos e aumentam a porcentagem de perda do fruto (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011).

As práticas em pós-colheita incluem o despencamento, lavagem e embalagem, as quais devem ser executadas com muito cuidado e medidas de assepsia. Normalmente o último passo na pós-colheita dos frutos, trata-se da imersão ou a pulverização deles com fungicidas. No momento, apenas produtos à base de tiabendazol e imazalil têm registro para utilização na pós-colheita de frutos (AGROFIT, 2018).

Posteriormente é feita a classificação dos lotes de banana, estes são caracterizados por seu grupo varietal, sua classe dada pelo comprimento do fruto em centímetros (cm), subclasse que refere-se ao estágio de maturação, variando de 1 (totalmente verde) a 7 (amarela com áreas marrons) de acordo com a escala de notas de Von Loesecke, seu modo de apresentação em dedo, buquê ou penca e sua categoria, ou seja, os parâmetros relacionados a qualidade (PBMH; PIF, 2006).

A forma adequada de armazenamento de bananas é de suma importância, pois a qualidade destas frutas sofre influência da temperatura e umidade relativa do ar. A variação de temperatura pode aumentar a velocidade de maturação, assim como interfere no estágio da cor de casca. Já a umidade relativa influencia na perda de peso e favorece a incidência de fungos (EMBRAPA, 2006).

Visto isso, recomenda-se que os frutos de banana sejam armazenados em condições acima de 13 °C, temperatura mínima de segurança para que não ocorram desordens fisiológicas (NGUYEN, 2003). Entretanto quando a temperatura da polpa é inferior a 16 °C ou superior a 22 °C pode resultar em frutos com deficiência na coloração amarela da casca (CHITARRA; CHITARRA, 1984). E a umidade relativa ideal deve estar entre 85 a 90%, em câmara fechada, dessa forma evita o murchamento dos frutos e a perda excessiva de peso (MOREIRA, 1987).

3.2 Ocorrência de doenças em pós-colheita

Os danos causados pelas doenças pós-colheita podem ser qualitativos ou quantitativos, quando afetam a qualidade e a quantidade do produto comercializado, respectivamente. Perdas quantitativas resultam da rápida e extensa infecção por patógenos nos tecidos do hospedeiro e, as qualitativas são representadas por sintomas que afetam apenas a parte externa do fruto, tornando o produto menos atrativo e, portanto, menos comercializável (PARISI et al., 2012).

Alguns fatores como temperatura, umidade e ocorrência de danos mecânicos podem favorecer o surgimento e estabelecimento de infecções (COELHO et al., 2003). As doenças constituem a principal limitação quanto ao aumento da produção e exportação, pois os consumidores, exigem produtos com boa aparência, aroma, sabor e ausência de podridões (NERY-SILVA et al., 2007; OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2007; VIVAS et al., 2013).

3.2.1 Antracnose (*Colletotrichum musae*): aspectos gerais da doença

Apesar de sua importância, a bananeira, como a maioria das culturas que ocupam grandes áreas, está sujeita a vários problemas fitossanitários, dentre os quais se destaca a antracnose, uma das doenças mais agressivas durante a pós-colheita de bananas, causada pelo fungo *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A. Curtis) Arx, (1957) e possui ampla distribuição geográfica (VENTURA; HINZ, 2002; MAQBOOL et al., 2010; ALEMU, 2014). A incidência de antracnose em frutos de banana compromete a qualidade dos frutos e pode causar até 90% de perda (TATAGIBA et al., 2002).

O patógeno pode infectar os frutos ainda verdes com ou sem ferimento, antes da colheita, permanecendo latente ou quiescente até a fase de maturação. Pode ter início no campo, quando os esporos do agente causal, são dispersos, atingem e infectam os frutos (TRINDADE et al., 2004), manifestando-se após a colheita durante o período de transporte, armazenamento e maturação dos frutos (CORDEIRO; KIMATI, 1997; VENTURA; HINZ, 2002).

Em condições favoráveis, sob alta umidade, os frutos cobrem-se de frutificações de coloração rosa a salmão, onde os acérvulos de *C. musae* adquirem uma coloração acinzentada (COUTO; MENEZES, 2004; CORDEIRO et al., 2005). Os esporos são produzidos em restos culturais em condições de alta umidade e são dispersos por meio da chuva, vento e por insetos (PLOETZ et al., 2003).

Os esporos na presença de água livre germinam entre 4 e 24 horas e formam o apressório. A penetração ocorre entre 24 a 48 horas, provocando uma reação de hipersensibilidade nas células adjacentes da epiderme, que acumulam fitoalexinas e tornam a infecção latente (JEGER et al., 1995). Os fatores ambientais estão envolvidos diretamente na incidência e severidade da doença, uma vez que influenciam nas várias fases do ciclo de vida do patógeno e também no desenvolvimento do hospedeiro, sendo importante para a infecção fitopatogênica (MAFIA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011). Estudos demonstram que a faixa de temperatura ótima para a germinação dos esporos e o crescimento micelial de *C. musae*

encontra-se entre 27 e 30 °C (GOOS; TSCHIRSCH, 1962; COUTO; MENEZES, 2004).

O sintoma típico da antracnose são lesões deprimidas de coloração marrom ou preta, localizadas na casca da fruta, também conhecida como infecção subcuticular. Com o amadurecimento as lesões aumentam de tamanho e podem coalescer, formando grandes áreas necróticas deprimidas. Geralmente a polpa não é afetada, exceto quando os frutos são expostos a altas temperaturas ou quando se encontram em adiantado estágio de maturação, reduzindo assim a qualidade dos frutos (KRAUSS et al., 1998; TRINDADE et al., 2004; SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014).

Economicamente, o patógeno é muito importante porque, além causar prejuízos em pós-colheita, também causa perdas no campo e é fator limitante da qualidade prejudicando a comercialização dos frutos (COUTO; MENEZES, 2004).

As perdas no total produzido acarretam em menores lucros para o produtor, e também resultam no aumento de preços (PESSOA et al., 2007). Além disso, a presença das manchas escuras na epiderme dos frutos prejudica a atratividade, mesmo que a polpa não seja atingida, pois os consumidores preferem frutos com aspecto mais sadio (CELOTO, 2005). Assim, qualquer medida de controle potencial que possa efetivamente retardar os sintomas da infecção por antracnose, teria um papel importante em estender a vida de prateleira das bananas durante o armazenamento (MAQBOOL et al., 2010).

3.3 Controle da antracnose

Após a colheita, os frutos devem ser lavados em água clorada. Em caso de alto índice de infecção nas plantações, o tratamento com fungicidas controla eficientemente a doença. A cultura da banana pode ser tratada na pós-colheita, por meio da imersão dos frutos e do engajo logo após a colheita (AGROFIT, 2018).

O mercado consumidor está cada vez mais exigente e busca por frutas de alta qualidade, livre de resíduos de produtos químicos, com alto valor nutritivo e sabor, além dos aspectos atrelados a aparência como forma, tamanho, cor e estágio de maturação (SIVAKUMAR; BAUTISTA-BAÑOS, 2014; GUERRA et al., 2015; PALOU et al., 2016).

O controle da antracnose em bananas na pós-colheita é realizado principalmente com a utilização de fungicidas químicos, a fim de prolongar a vida útil das frutas frescas (NEGREIROS et al., 2013). Os fungicidas comumente utilizados são o imazalil e o tiabendazol (AGROFIT, 2018). Embora o controle de patógenos pós-colheita ainda dependa principalmente

da aplicação de fungicidas, devido ao curto tempo entre o tratamento e o consumo, há fortes demandas contra o uso de fungicidas químicos para evitar impactos ambientais e particularmente o desenvolvimento de resistência a fungicidas (FARZANEH et al., 2015; ABDEL-RAHIM; ABO-ELYOUSR, 2017).

Desta forma, a integração entre fungicidas de baixo risco e tratamentos alternativos tem mostrado resultados promissores no controle da antracnose na cultura da banana dentre eles destacam-se: tratamento hidrotérmico (BAZIE et al., 2014; VILAPLANA et al., 2018a), refrigeração (COELHO et al., 2010), aplicação de extratos (NEGREIROS et al., 2013; BUTHIA et al., 2016; FIGUEIREDO et al., 2017), óleos vegetais (VILAPLANA et al., 2018b) e agentes de controle biológico (SHU et al., 2017).

3.4 Agentes de controle biológico

O controle biológico é uma das alternativas que vem surgindo como estratégia no manejo fitossanitário, com a finalidade de reduzir as perdas em pós-colheita (KARKACHI et al., 2010; LIU et al., 2013).

O controle biológico utilizando micro-organismos antagonistas pode ser aplicado tanto em pré quanto em pós-colheita, e tem apresentado considerável sucesso principalmente no controle de doenças pós-colheita (ABANO; SAM-AMOA, 2012).

Pode ser uma abordagem promissora no controle da antracnose da bananeira causada pelo fungo *C. musae* (ARA et al., 2012; TAN et al., 2015), devido à diversidade de micro-organismos, e suas relações antagônicas, que surgem como ferramentas importantes para aplicação do controle biológico (OLIVEIRA et al., 2016). No mercado mundial já estão disponíveis mais de 40 espécies de antagonistas, sendo o gênero *Trichoderma* responsável por quase metade dos antagonistas comercializados, seguido do *Bacillus* (BETTIOL et al., 2012).

Dentre algumas das características desejadas para um agente de controle biológico destacam-se: ser estável; eficaz em baixas concentrações; não deve ser exigente em relação aos nutrientes; ser capaz de sobreviver em condições adversas; ser eficaz contra um amplo espectro de patógenos; ser passível de produção em meios de crescimento de baixo custo; passível de ser adicionado em formulações com longa vida de prateleira; não ser perigoso para a saúde e meio ambiente e preservar a qualidade de frutas e vegetais quando aplicado (WISNIEWSKI et al., 1988).

Os principais antagonistas utilizados no controle biológico são os fungos do gênero

Trichoderma, classificados como filamentosos que possuem rápido crescimento micelial, reproduzem-se assexuadamente (SAMUELS, 2006), com abundante produção de conídios de coloração verde, e são capazes de sintetizar antibióticos e enzimas (HOWELL, 2003; KUMAR et al., 2012). Há também as bactérias gram positivas do gênero *Bacillus*, que possuem formas e tamanhos variáveis e exigências nutricionais simples (STANIER et al., 1969), que atuam como antagonistas, sintetizam antibióticos e formam endósporos sob condições adversas (FREITAS; PIZZINATTO, 1997).

3.4.1 *Trichoderma* spp.

Os membros do gênero *Trichoderma* têm sido pesquisados e identificados como agentes de biocontrole de doenças de plantas desde a primeira aplicação, quando tornaram-se muito populares (MELLO et al., 2007). Foi em 1932 que Weindling descreveu em detalhes o mecanismo de micoparasitismo exercido pelas hifas de *Trichoderma* sobre *Rhizoctonia solani*, agente causal do tombamento (WEINDLING, 1932 citado por LUCON, 2009). A partir desta pesquisa, o forte e antagônico comportamento frente a outros fungos e fácil multiplicação em laboratório, tem se destacado como fungos mais favorecidos para aplicação como biocontrole. *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. stromaticum* e *T. viride* são as principais espécies comercializadas no Brasil (MORANDI; BETIOL, 2009).

A maioria das espécies do gênero *Trichoderma* produzem grandes quantidades de conídios, geralmente de coloração verde ou amarelo, uninucleados e ovoides. Os conidióforos são muito ramificados, com aspecto semelhante a arbustos com forma piramidal (KIRK et al., 2001). Várias espécies de *Trichoderma* possuem um arsenal de mecanismos de ação antagônica e produzem substâncias antimicrobianas que garantem um amplo espectro de atividade contra diferentes fitopatógenos, portanto possuem capacidade de controlar várias doenças (LUCON, 2008).

As espécies de *Trichoderma* apresentam mecanismos de micoparasitismo, competição por nutrientes e nichos, produção de antibióticos e enzimas (HOWELL, 2003; BENÍTEZ et al., 2004; VERMA et al., 2007). Estudos recentes mostraram que *Trichoderma* spp. segrega grandes enzimas como celulases, quitinases, glucanases e hemicelulases, durante o processo de micoparasitismo e atuam na degradação da parede celular dos fungos hospedeiros. Os genes que codificam para a síntese destas enzimas são ativados na presença de micélio ou meio de cultura filtrado de fungos fitopatogênicos (VEY et al., 2001; VINALE et al., 2008).

Diante da crescente expansão da agricultura no país e da exposição das culturas à diversas doenças causadas por fitopatógenos, diferentes produtos contendo o fungo *Trichoderma* já são comercializados para a aplicação na agricultura com o intuito de aproveitar os benefícios do controle biológico no tratamento de doenças de plantas causadas por fungos (MOTA, 2018).

A grande utilização de agentes de controle biológico como o gênero *Trichoderma* na pós-colheita surgiu a partir da busca por alternativas para reduzir a utilização de fungicidas (KARKACHI et al., 2010), pois os programas de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos têm indicado a presença de resíduos de ingredientes ativos não autorizados ou acima dos valores recomendados (BRASIL, 2011; SESA, 2017).

O *T. harzianum* é um fungo habitante de solo, considerado agressivo, apresenta conídios pequenos e subglobosos (RIFAI, 1969; BAKER, 1987; BETINA; FARKAS, 1998). Além disso é capaz de produzir substâncias antimicrobianas como o furanone (ORDENTLICH et al., 1992). Alguns trabalhos têm utilizado as diferentes espécies deste agente de biocontrole para o controle de doenças na pós-colheita de frutas. Como no controle da antracnose em bananas, na qual a utilização de *Trichoderma* spp. reduziu mais de 50% das lesões causadas por *C. musae* (OLIVEIRA et al., 2016).

Para o controle da podridão de coroa em frutos de banana Alvindia (2013) verificou que a combinação entre *T. harzianum* e bicarbonato de sódio foi tão eficiente quanto os fungicidas sintéticos. No trabalho de Bordbar et al. (2010) dois isolados de *Trichoderma virens* foram efetivos no controle da podridão de frutos de macieira causada por *Penicillium expansum*, pois o tratamento antagonista apresentou menor tamanho de lesão quando comparado aos frutos controle.

Em experimento desenvolvido com mamão e diferentes tempos de inoculação do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, *T. viride* foi eficiente diminuindo o tamanho das lesões causadas pelo patógeno (LANDERO VALENZUELA et al., 2015).

3.4.2 *Bacillus* spp.

O gênero *Bacillus* foi proposto pela primeira vez por Cohn (1872) quando este renomeou o organismo *Vibrio subtilis*, originalmente denominado dessa forma por Ehrenberg (1835) para *Bacillus subtilis* (HARWOOD, 1989).

No âmbito da agricultura, existem diversos produtos formulados para o controle

biológico de fitopatógenos que possuem como ingrediente ativo espécies do gênero *Bacillus*, dentre as principais destacam-se *B. thuringiensis*, *B. sphaericus* e *B. subtilis* (RATZ, 2014). Tais produtos mostram-se efetivos na redução de fitopatógenos e pragas no campo, além de serem menos agressivos ao meio ambiente (LANNA FILHO et al., 2010).

Bactérias antagonicas, como o *Bacillus subtilis*, de modo geral, agem significativamente por antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo e competição. Os micro-organismos que agem por antibiose, geralmente têm amplo espectro de ação, de forma que na inibição dos fungos a produção de substâncias tóxicas é mais efetiva do que qualquer outro mecanismo de ação envolvido (KUPPER et al., 2003).

Assim como no caso do gênero *Trichoderma*, o gênero *Bacillus* também apresentou um impulso na sua utilização pós-colheita devido a busca por alternativas para reduzir a utilização de fungicidas (KARKACHI et al., 2010), e o surgimento dos programas de análises de resíduos de agrotóxicos em alimentos (BRASIL, 2011; SESA, 2017).

O *B. subtilis* é uma bactéria habitante de solo, não patogênica, que apresenta reprodução assexuada dividindo-se por bipartição, possui crescimento rápido com capacidade de capturar o DNA (ácido desoxirribonucleico) exógeno e formar esporos. A formação de endósporos é muito atrativa, pois são estruturas biológicas de maior resistência encontradas na natureza e podem permanecer dormentes por longos períodos (NICHOLSON et al., 2000; VREELAND et al., 2000), pois são resistentes a dessecação, calor, radiação ultravioleta ou solventes orgânicos (LEELASUPHAKUL et al., 2008).

Vários trabalhos de pesquisa vêm sendo desenvolvidos com a espécie *B. subtilis*, na pós-colheita. Para o controle da podridão parda em pêssegos o antagonista teve um efeito preventivo no controle das infecções e a incidência da doença foi reduzida em 25% para variedade ‘Baby Gold’ em comparação com o controle que apresentou 100% da doença (CASALS et al., 2012).

Em estudo desenvolvido por Oliveira et al. (2016) para o controle de antracnose em bananas, *B. subtilis* não foi tão eficiente quanto outros agentes de controle biológico. Mas no controle de antracnose em pimentas, vários isolados de *B. subtilis* inibiram significativamente as infecções pós-colheita causadas por *C. gloeosporioides* (AMARO et al., 2018).

Em citros, para o controle de mofo verde, o tratamento com *B. subtilis* 24 horas antes da inoculação dos esporos fúngicos reduziu a incidência da doença em 86,7%, e os sintomas da doença foram atrasados em até seis dias (LEELASUPHAKUL et al., 2008).

3.5 Estresse oxidativo

Na planta, as espécies reativas de oxigênio (EROs) ocorrem naturalmente, no entanto, em condições estressantes, como a presença de um organismo patogênico, o nível de EROs é aumentado (MITTLER et al., 2011). As EROs são moléculas sinalizadoras que garantem vantagem para as células, pois percebeu-se que uma das funções de grande importância das EROs, é serem mediadores de sinalização intracelular de respostas fisiológicas e biológicas (RECZEK; CHANDEL, 2015). Com o objetivo de minimizar os danos resultantes dos EROs, os organismos vegetais desenvolveram mecanismos para combater, neutralizar ou eliminar a produção destes produtos tóxicos, denominado dessa forma de sistema antioxidante de defesa (ARORA et al., 2002).

Este sistema antioxidante pode ser dividido em não-enzimático e enzimático, sendo que as defesas não-enzimáticas incluem: ácido ascórbico (AA), glutathiona reduzida (GSH), α -tocoferol, carotenóides, compostos fenólicos, flavonoides, e prolina. E os mecanismos enzimáticos que envolvem: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona S-transferase (GST), ascorbato peroxidase (APX), glutathiona peroxidase (GPX) (GILL; TUTEJA, 2010; MILLER et al., 2010; GILL et al., 2011).

Há um equilíbrio entre a produção das EROs e a proteção exercida pelo sistema antioxidante, dessa forma há máxima proteção contra as influências tóxicas oxidativas, entretanto quando esse equilíbrio é perturbado, os sistemas biológicos estão expostos à ação das EROs, resultando no estado de estresse oxidativo (MATÉS, 2000; GEORGIEVA, 2005).

A enzima peroxidase (POD) está relacionada ao escurecimento enzimático, utilizando compostos fenólicos como substratos e provocando alterações indesejáveis na cor, sabor e aroma dos vegetais (VALDERRAMA et al., 2001). A peroxidação lipídica está relacionada com a presença de radicais livres que não foram neutralizados pelo sistema antioxidante, causando uma série de danos celulares (DHINDSA et al., 1981).

Alguns trabalhos tem demonstrado a atividade dos agentes de controle biológico sobre o sistema antioxidante, como a utilização de *Rhodosporidium paludigenum* para o controle de *Penicillium digitatum* que aumentou significativamente as atividades de enzimas relacionadas à defesa, incluindo β -1,3-glucanase, fenilalanina amônia-liase, peroxidase e polifenoloxidase, mecanismo este que pode justificar o fato do agente de biocontrole reduzir a doença fúngica dos citros (LU et al., 2013).

No trabalho de Bordbar et al. (2010) também foi verificada a capacidade de *T. virens*

umentar a atividade da peroxidase, catalase, β -1,3-glucanase e níveis de compostos fenólicos, e este pode ser um dos mecanismos responsáveis por sua atividade de biocontrole.

3.6 Análise sensorial

A qualidade sensorial consiste na percepção dos atributos de um alimento mediante a utilização dos sentidos humanos: visão, gustação, olfato, audição e tato (MORAES, 1988), a qual está totalmente relacionada com a qualidade de um alimento (QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

Compreender as sensações resultantes da interação entre os órgãos dos sentidos é uma atividade muito importante, tanto na produção quanto na comercialização dos alimentos (TREVISAN et al., 2010), na avaliação da qualidade e da aceitabilidade por parte do consumidor (TEIXEIRA et al., 1987), e esta identificação de atributos pode ser feita por meio da análise sensorial.

A análise sensorial é uma função primária do ser humano, que consiste na aceitação ou rejeição de alimentos a partir das sensações sentidas frente a sua ingestão e observação, sendo a qualidade um parâmetro proporcional à resposta do consumidor (COSTEL; DURAN, 1982; CHAVES; SPROESSER, 1993). O sabor, o aroma e a textura ao paladar, em conjunto com a aparência do produto, são aspectos importantes na determinação da aceitação pelo consumidor (CHITARRA, 2000).

No trabalho de Mattos et al. (2010) foram aplicados agentes de controle biológico em laranjas e realizada análise sensorial. Entretanto não foram observadas alterações nas características organolépticas dos frutos, portanto esse resultado demonstra que os agentes de biocontrole não interferiram nos atributos avaliados na análise sensorial.

Visto que são escassos os estudos que aplicaram agentes de controle biológico e avaliaram os atributos de qualidade de frutas após esse tratamento com base em análise sensorial, são necessários outros trabalhos para verificar se há influência negativa dos agentes de biocontrole sobre a qualidade e aceitação das frutas pelo consumidor.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do experimento

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fruticultura e Pós-colheita e no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO) na cidade de Guarapuava, realizando-se testes *in vitro* e *in vivo*.

Foram utilizados cachos de banana ‘Nanicão’ para a realização dos experimentos *in vivo*, oriundos de pomar localizado no município de Novo Itacolomi-PR (23° 45’ 41” S e 51° 30’ 22” W e 620 metros de altitude). O clima da região é classificado como Cfa, subtropical úmido, apresentando verões quentes com tendência de concentração de chuvas e invernos com geadas pouco frequentes, sem estação seca definida (KÖPPEN, 1948). Com temperatura anual variando entre 20 a 22 °C e precipitação anual entre 1600 a 1800 mm (IAPAR, 2018).

Os frutos foram colhidos em 13/07/2018 na fase pré-climatérica no estágio de cor 1 (casca totalmente verde), sob manejo em sistema convencional, conduzido em espaçamento de 2,5 m entre plantas e 2,0 m entre linhas, em pomar com 17 anos de idade.

4.2 Material experimental

A caracterização dos agentes de controle biológico testados: *Trichoderma harzianum* que apresenta concentração de esporos de 48 g L⁻¹ e *Bacillus subtilis* que apresenta concentração de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de 13,68 g L⁻¹, estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Agentes de controle biológico utilizados no experimento.

| Princípio Ativo | Marca Comercial | Formulação | Classe | Concentração i.a. | Titular do Registro |
|------------------------------|-----------------|------------|-----------|-------------------------|----------------------------|
| <i>Trichoderma harzianum</i> | Trichodermil | SC | Biológico | 48 g L ⁻¹ | Koppert Biological Systems |
| <i>Bacillus subtilis</i> | Serenade | SC | Biológico | 13,68 g L ⁻¹ | Bayer S.A. |

SC: Suspensão concentrada

4.3 Experimentos *in vitro*

4.3.1 Isolamento de *Colletotrichum musae*

Os isolados de *C. musae* foram cedidos pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Centro-Oeste, *Campus* Cedeteg. Para recuperação destes isolados foram realizadas repicagens em placas de Petri contendo meio BDA (batata/dextrose/ágar), essas placas foram então vedadas com parafilme e incubadas em câmara de crescimento do tipo BOD à temperatura de $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, sem fotoperíodo.

Após sete dias, discos com o meio de cultura e estruturas do patógeno foram transferidos para o centro de novas placas com meio BDA e novamente incubadas sob as mesmas condições acima descritas por um período de sete dias. Após a confirmação de *C. musae*, com base na morfologia da colônia e nos caracteres dos esporos de acordo com Sutton e Waterson (1970), o fungo foi multiplicado em meio de cultura BDA e armazenado à temperatura de $28 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para a realização dos testes (Figura 1).

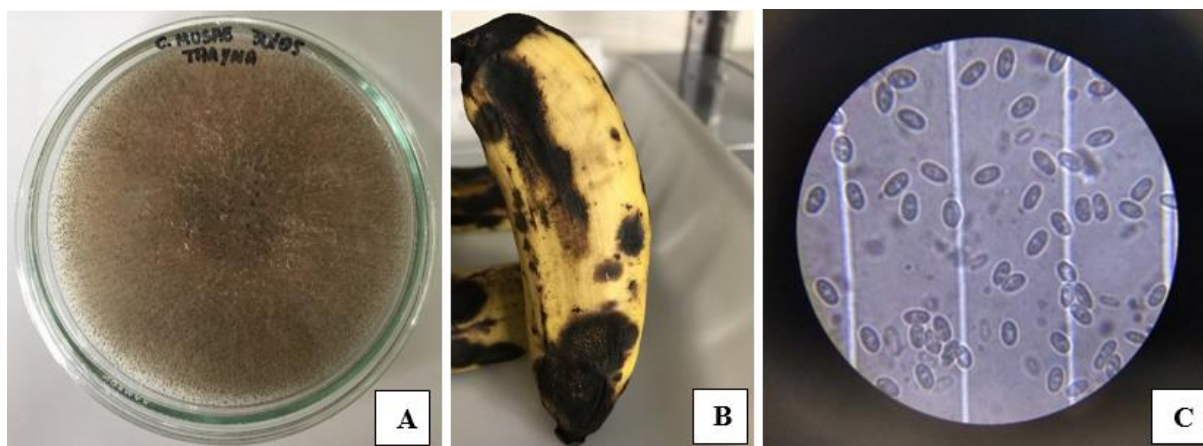


Figura 1. Cultura de *Colletotrichum musae* (A) fruto de banana inoculado com conídios de *Colletotrichum musae* (B) conídios de *Colletotrichum musae* (C). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

4.3.2 Pareamento de *T. harzianum* e *B. subtilis* com *C. musae*

Os testes de pareamento foram conduzidos por meio de confronto direto de acordo com metodologia descrita por Campanile et al. (2007), calculando o índice de antagonismo, realizados em duplicata. Para os testes de pareamento utilizou-se o método de diluição em ágar,

que consiste na adição dos tratamentos ao meio de cultura.

Inicialmente os seguintes tratamentos foram utilizados:

T1: Testemunha (somente composta por meio BDA);

T2: *T. harzianum* na concentração de 5 mL L⁻¹ (0,24 g i.a);

T3: *T. harzianum* na concentração de 10 mL L⁻¹ (0,48 g i.a);

T4: *T. harzianum* na concentração de 15 mL L⁻¹ (0,72 g i.a);

T5: *T. harzianum* na concentração de 20 mL L⁻¹ (0,96 g i.a);

T6: *B. subtilis* na concentração de 2 mL L⁻¹ (0,02736 g i.a);

T7: *B. subtilis* na concentração de 4 mL L⁻¹ (0,05472 g i.a);

T8: *B. subtilis* na concentração de 6 mL L⁻¹ (0,08208 g i.a);

T9: *B. subtilis* na concentração de 8 mL L⁻¹ (0,10944 g i.a);

T10: Tiabendazol (controle padrão) na dose de 0,41 mL L⁻¹.

Todos os produtos foram adicionados a 200 mL do meio BDA, com o meio de cultura ainda fundente, previamente esterilizado a 121 °C por 15 minutos, e vertido em placas de Petri. No tratamento testemunha não foi adicionado nenhum tipo de produto ao meio de cultura.

Após o preparo das placas de Petri, foi repicado o patógeno *C. musae* com 15 dias de cultivo na forma de discos de micélio com 8 mm de diâmetro para o centro das placas de Petri. Estas foram vedadas com parafilme e incubadas em câmara de crescimento do tipo BOD à 28 °C ± 2 °C sem fotoperíodo, durante cinco dias. As placas de Petri, contendo apenas meio de cultura BDA foram utilizadas como testemunha absoluta e aquelas adicionadas do fungicida tiabendazol (0,41 mL L⁻¹) foram utilizadas como controle padrão.

A atividade antagonista dos tratamentos foi determinada a partir da avaliação do crescimento micelial, realizada diariamente por meio de medições do raio micelial (mm) da colônia, com auxílio de paquímetro digital. As placas foram marcadas externamente em sentido perpendicular, com finalidade de mensurar o crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais, calculando-se os valores médios por placa. O crescimento foi medido até que o micélio da placa testemunha preencheu as bordas da placa.

O índice de antagonismo foi avaliado de acordo com a fórmula descrita por Campanile et al. (2007):

$$IA\% = \frac{(RM - rm) \times 100}{RM}$$

Na qual:

IA: Índice de antagonismo em percentual;

RM: Raio micelial sem a presença do antagonista (testemunha);

rm: Raio micelial com a presença do antagonista;

O delineamento foi inteiramente casualizado com 10 tratamentos e 10 repetições. Cada parcela experimental foi constituída por uma placa de Petri.

Com base nos resultados apresentados, verificou-se a necessidade de realizar outro teste, visto que o primeiro não foi capaz de identificar diferenças significativas entre as concentrações de cada tratamento, pois todas inibiram o crescimento micelial do patógeno. Por esse motivo as concentrações foram reduzidas visando encontrar a dose mais adequada.

No teste subsequente foram utilizados os seguintes tratamentos:

T1: Testemunha (somente composta por meio BDA);

T2: *T. harzianum* na concentração de 1 mL L⁻¹ (0,048 g i.a);

T3: *T. harzianum* na concentração de 1,75 mL L⁻¹ (0,084 g i.a);

T4: *T. harzianum* na concentração de 2,5 mL L⁻¹ (0,12 g i.a);

T5: *T. harzianum* na concentração de 3,25 mL L⁻¹ (0,156 g i.a);

T6: *T. harzianum* na concentração de 4 mL L⁻¹ (0,192 g i.a);

T7: *B. subtilis* na concentração de 0,5 mL L⁻¹ (0,00684 g i.a);

T8: *B. subtilis* na concentração de 0,75 mL L⁻¹ (0,01026 g i.a);

T9: *B. subtilis* na concentração de 1 mL L⁻¹ (0,01368 g i.a);

T10: *B. subtilis* na concentração de 1,25 mL L⁻¹ (0,0171 g i.a);

T11: *B. subtilis* na concentração de 1,5 mL L⁻¹ (0,02052 g i.a);

T12: Tiabendazol (controle padrão) na dose de 0,41 mL L⁻¹.

O delineamento foi inteiramente casualizado com 12 tratamentos e 10 repetições. Cada parcela experimental foi constituída por uma placa de Petri.

4.3.3 Teste de controle de germinação de esporos

Para realizar os testes de controle de germinação de esporos, foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo o ensaio realizado em duplicata. Foram realizados testes preliminares testando os seguintes tratamentos:

T1: Testemunha (água destilada);

T2: *T. harzianum* na concentração de 5 mL L⁻¹ (0,24 g i.a);

T3: *T. harzianum* na concentração de 10 mL L⁻¹ (0,48 g i.a);
T4: *T. harzianum* na concentração de 15 mL L⁻¹ (0,72 g i.a);
T5: *T. harzianum* na concentração de 20 mL L⁻¹ (0,96 g i.a);
T6: *B. subtilis* na concentração de 2 mL L⁻¹ (0,02736 g i.a);
T7: *B. subtilis* na concentração de 4 mL L⁻¹ (0,05472 g i.a);
T8: *B. subtilis* na concentração de 6 mL L⁻¹ (0,08208 g i.a);
T9: *B. subtilis* na concentração de 8 mL L⁻¹ (0,10944 g i.a);
T10: Tiabendazol (controle padrão) na dose de 0,41 mL L⁻¹.

O delineamento foi constituído por 10 tratamentos e cinco repetições.

Como o primeiro teste de pareamento não apresentou diferença estatística entre as concentrações, pois todas as doses foram capazes de inibir o crescimento micelial do patógeno, este foi repetido. Dessa forma optou-se também por repetir o teste de germinação, e as concentrações foram reduzidas, seguindo o mesmo padrão utilizado no segundo teste de pareamento. No teste seguinte foram utilizados os seguintes tratamentos:

T1: Testemunha (água destilada);
T2: *T. harzianum* na concentração de 1 mL L⁻¹ (0,048 g i.a);
T3: *T. harzianum* na concentração de 1,75 mL L⁻¹ (0,084 g i.a);
T4: *T. harzianum* na concentração de 2,5 mL L⁻¹ (0,12 g i.a);
T5: *T. harzianum* na concentração de 3,25 mL L⁻¹ (0,156 g i.a);
T6: *T. harzianum* na concentração de 4 mL L⁻¹ (0,192 g i.a);
T7: *B. subtilis* na concentração de 0,5 mL L⁻¹ (0,00684 g i.a);
T8: *B. subtilis* na concentração de 0,75 mL L⁻¹ (0,01026 g i.a);
T9: *B. subtilis* na concentração de 1 mL L⁻¹ (0,01368 g i.a);
T10: *B. subtilis* na concentração de 1,25 mL L⁻¹ (0,0171 g i.a);
T11: *B. subtilis* na concentração de 1,5 mL L⁻¹ (0,02052 g i.a);
T12: Tiabendazol (controle padrão) na dose de 0,41 mL L⁻¹.

O delineamento foi constituído por 12 tratamentos e cinco repetições.

Para a montagem dos testes de germinação, inicialmente foram preparadas suspensões de conídios do patógeno obtidas a partir de colônias puras do isolado de *C. musae* cultivado em meio BDA, com a adição de água destilada + Tween 20, raspagem da placa de Petri com auxílio da alça de Drigalski e filtragem em gaze, a suspensão foi calibrada para 1 x 10⁴ conídios mL⁻¹, com o auxílio da câmara de Neubauer em microscópio óptico (Figura 2A).

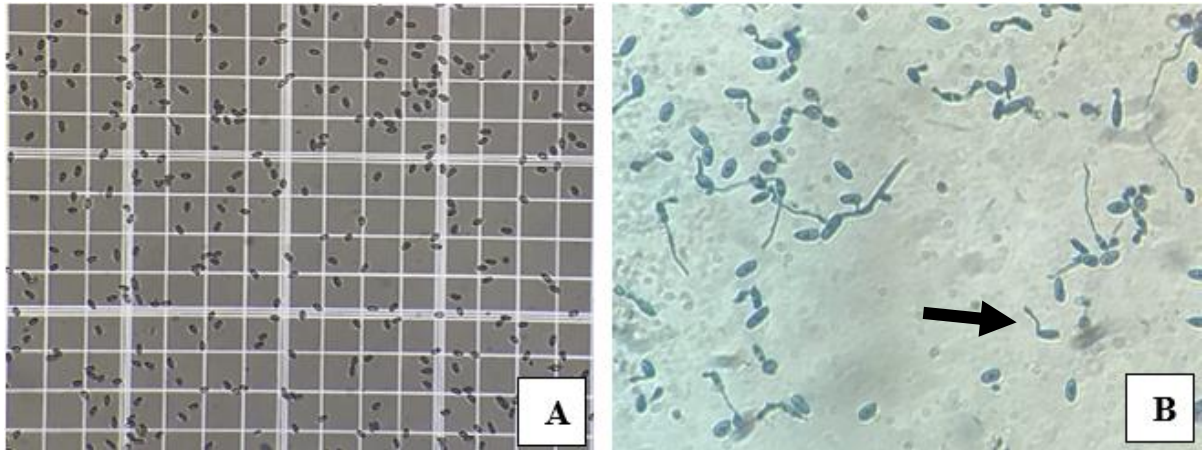


Figura 2. Conídios de *Colletotrichum musae* (A) conídios de *Colletotrichum musae* germinados (B). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

Alíquotas de 40 μL da suspensão de conídios foram pipetadas em cavidades individuais de placas de teste Elisa, onde também foram colocados 40 μL de cada um dos tratamentos. Posteriormente, as placas foram mantidas em câmara de crescimento do tipo BOD a 25 °C sem luminosidade, e após 24 horas de incubação, realizou-se a paralisação da germinação dos conídios acrescentando 20 μL do corante azul algodão de lactofenol em cada cavidade.

Foram considerados germinados os esporos que apresentaram emissão de tubo germinativo, independente do seu tamanho (Figura 2B). Com auxílio de microscópio óptico foram quantificados, aleatoriamente, 50 esporos por cavidade. Os dados foram expressos como porcentagem da germinação de esporos em relação ao total de esporos.

4.4 Experimento *in vivo*

4.4.1 Controle de *C. musae* em pós colheita de frutos de banana

As concentrações que apresentaram melhores resultados nos testes *in vitro*, foram utilizadas para avaliar seu efeito em frutos de banana, a fim de verificar o seu efeito no controle da antracnose durante o armazenamento.

Para avaliação do controle de *C. musae* no teste *in vivo*, os frutos foram colhidos no pomar no estágio pré-climatério, com coloração de casca 1 (casca totalmente verde), segundo a escala de cores com valores que variam de 1 a 7. Estes passaram por câmara de climatização com etileno por três dias, garantindo que todos estivessem no mesmo estágio de maturação

(Figura 3A).



Figura 3. Bananas após climatização em câmara com etileno (A) lavagem de bananas com detergente neutro a 0,2% (B) sanitização de bananas com hipoclorito de sódio a 0,5% (C). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

Foi realizada a despenca dos cachos no quarto dia após a colheita, e formação de buquês de quatro frutos cada. Estes foram lavados em tanque com água e detergente neutro a 0,2 % (2 mL L⁻¹) para a retirada do látex e limpeza superficial (Figura 3B), sanitizados em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% (5 mL L⁻¹) por três minutos e depois lavados com água corrente (Figura 3C).

Com base nos resultados obtidos nos testes *in vitro*, após a higienização os frutos foram imersos, durante um minuto sob constante movimentação, nos seguintes tratamentos e respectivas concentrações:

T1: testemunha absoluta sem inoculação (água destilada);

T2: testemunha inoculada (água destilada);

T3: suspensão de *T. harzianum* (Trichodermil SC[®]) na concentração de 1 mL L⁻¹ (0,048 g i.a.);

T4: suspensão de *B. subtilis* (Serenade[®]) na concentração de 0,5 mL L⁻¹ (0,00684 g i.a.);

T5: suspensão de *T. harzianum* (Trichodermil SC[®]) na concentração de 1 mL L⁻¹ (0,048 g i.a.) + *B. subtilis* (Serenade[®]) na concentração de 0,5 mL L⁻¹ (0,00684 g i.a.);

T6: fungicida tiabendazol (Tecto SC[®]) na dosagem de 0,41 mL L⁻¹, sendo este um produto padrão em pós-colheita de bananas.

Após 24 horas os frutos foram inoculados com suspensão de *C. musae* (1x10⁴ conídios mL⁻¹), por aspersão (pulverizador manual), exceto os frutos do tratamento T1 (testemunha absoluta), que não foram inoculados com os conídios do fungo.

Os frutos tratados com água destilada que não foram inoculados foram considerados como testemunha absoluta, e como testemunha inoculada foram considerados frutos inoculados com os conídios de *C. musae* também tratados com água destilada. Os frutos foram dispostos em bandejas plásticas (Figura 4B), e mantidos em condições ambiente com temperaturas médias diárias entre 24,8 a 26,8 °C e umidade relativa de 29 a 36% (Tabela 2).



Figura 4. Lesão causada por *Colletotrichum musae*, agente causal da antracnose (A) frutos de banana dispostos em bandejas após tratamento e inoculação com conídios de *Colletotrichum musae* (B). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

Tabela 2. Condições de temperatura e umidade relativa (UR) que frutos de banana foram expostos após tratamento pós-colheita com diferentes produtos para o controle de antracnose.

| DATAS | Temperatura máxima | Temperatura mínima | Temperatura média | UR máxima | UR mínima | UR Média |
|------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-----------|-----------|----------|
| 23/07/2018 (9 DAC) | 33,5 | 20,0 | 26,8 | 33,0 | 33,0 | 33,0 |
| 24/07/2018 (10 DAC) | 28,2 | 21,4 | 24,8 | 36,0 | 36,0 | 36,0 |
| 25/07/2018 (11 DAC) | 30,2 | 21,2 | 25,7 | 29,0 | 29,0 | 29,0 |
| 26/07/2018 (12 DAC) | 30,6 | 20,9 | 25,8 | 32,7 | 32,7 | 32,7 |

*DAC dias após a colheita.

Após 48 horas da aplicação dos tratamentos, foi feita diariamente a avaliação da incidência da doença (quatro avaliações), observando-se a porcentagem de frutos com sintomas de antracnose (Figura 4A), determinada com base na fórmula:

$$I = (NFL/NTF) \times 100$$

Na qual:

I = incidência (%);

NFL = número de frutos com lesões;

NFT = número total de frutos.

Também foi avaliada diariamente a severidade da doença, que refere-se a porcentagem da área da casca dos frutos com sintomas de antracnose (Figura 4A), determinada a partir de escala diagramática específica para antracnose em bananas, variando de 0,5% a 64% (Figura 5) de área lesionada por fruto (MORAES et al., 2008).

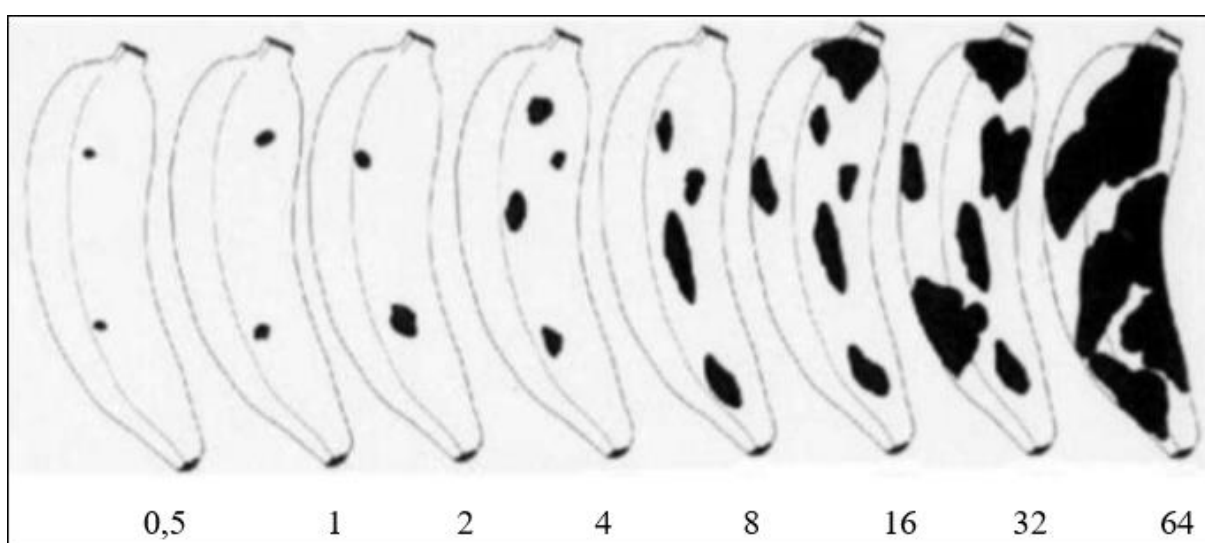


Figura 5. Escala diagramática de antracnose (*Colletotrichum musae*), variando de 0,5 a 64%.

Fonte: MORAES, 2008.

Posteriormente foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença para incidência (AACPI) e para severidade (AACPS), conforme a equação apresentada por Campbell e Madden (1990).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições, compostas por buquês de quatro frutos aderidos.

4.5 Análise enzimática

4.5.1 Coleta e obtenção dos extratos enzimáticos

Foram realizadas duas coletas de amostras, uma aos cinco dias após a inoculação dos frutos e outra aos sete dias após a inoculação dos frutos. Com o auxílio de um bisturi esterilizado foi retirado um disco da casca de cada fruto aleatoriamente com 300 mm². Após coletadas as

amostras de casca dos frutos de banana, estas foram colocadas em pacotes confeccionados com papel alumínio e, em seguida, congeladas em nitrogênio líquido para paralisar todas as reações imediatamente e armazenadas a -20 °C para posterior extração enzimática.

Para a determinação do conteúdo proteico e extração enzimática foram utilizados 0,3 g de amostras congeladas e trituradas em nitrogênio líquido com auxílio de almofariz. Em seguida, foi homogeneizada mecanicamente em 4 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) contendo 0,1 mM EDTA e 1% (p/p) de PVP (poli-vinil-pirrolidona), em almofariz. O homogenato foi centrifugado a 15.000 g durante 30 minutos a 4 °C. Após centrifugação, o sobrenadante obtido foi transferido para microtubos e estes armazenados a -20 °C para posterior determinação (BALBI-PEÑA et al., 2014).

4.5.2 Proteínas totais

A concentração de proteínas foi determinada utilizando-se curva padrão de caseína. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 595 nm, sendo o teor proteico da amostra expresso em mg proteína g massa fresca⁻¹. A quantificação do conteúdo total de proteínas nas amostras foi determinada de acordo com metodologia proposta por Bradford (1976).

4.5.3 Peroxidase

A atividade da peroxidase de pirocatecol (POD, EC 1.11.1.7) foi determinada pela formação de purpurogalina medida em espectrofotômetro a 430 nm (TEISSEIRE; GUY, 2000). Para calcular a atividade específica da enzima foi utilizado o seu coeficiente de extinção molar (2,5 mmol L⁻¹ cm⁻¹) e a atividade foi expressa em U min⁻¹ mg proteína⁻¹.

4.6 Peroxidação lipídica

A reação para a determinação da peroxidação lipídica (TBAR) foi composta por 300 mg de polpa que foi coletada no dia da análise, congelada e triturada em nitrogênio líquido e homogeneizadas em 5 mL de solução contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,25% e ácido tricloroacético (TCA) a 10%. Após a extração a solução foi incubada em banho-maria a 90 °C por 60 minutos. Decorrido este tempo e após resfriamento, a solução foi centrifugada a 10.000 g por 15 minutos, à temperatura ambiente de 25 °C. O sobrenadante foi coletado e as leituras

foram realizadas em espectrofotômetro a 560 e 600 nm. (HEATH; PACKER, 1968 citado por RAMA DEVI; PRASAD, 1998). Para os cálculos utilizou-se o coeficiente de extinção molar do malondialdeído ($155 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol g}$ de massa fresca⁻¹.

4.7 Efeitos dos agentes de controle biológico sobre as características físico-químicas dos frutos

Para avaliação dos efeitos da utilização dos agentes de controle biológico sobre a conservação pós-colheita, os frutos colhidos no pomar foram transportados ao laboratório, realizada a despenca dos cachos, seleção dos buquês, lavagem por meio da imersão dos frutos imediatamente em um tanque com água e detergente neutro 0,2%. Em seguida os buquês foram imersos em uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por três minutos e depois lavados em água corrente.

Com base nos resultados obtidos nos testes *in vitro* determinou-se as concentrações a serem utilizadas nos testes *in vivo*. Após a lavagem e sanitização os frutos foram imersos nos tratamentos, sendo mantidos por um minuto em constante movimentação dentro da solução. Os tratamentos testados foram os seguintes:

T1: Testemunha (água destilada);

T2: *T. harzianum* (Trichodermil SC[®]) na concentração de 1 mL L^{-1} (0,048 g i.a);

T3: *B. subtilis* (Serenade[®]) na concentração de $0,5 \text{ mL L}^{-1}$ (0,00684 g i.a);

T4: *T. harzianum* (Trichodermil SC[®]) na concentração de 1 mL L^{-1} (0,048 g i.a) + *B. subtilis* (Serenade[®]) na concentração de $0,5 \text{ mL L}^{-1}$ (0,00684 g i.a);

T5: Tiabendazol (Tecto SC[®]) na dosagem de $0,41 \text{ mL L}^{-1}$.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições compostas por um buquê de quatro frutos aderidos em cada.

Os efeitos na pós-colheita dos frutos foram determinados pela perda de massa (percentual), coloração dos frutos, firmeza de polpa, teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável, pH e ratio (SS/AT), realizadas conforme as normas do IAL (2008). As avaliações foram feitas após os frutos passarem pela climatização (três dias) aos 4 (Figura 6A), 6, 7, 8, 9 e 10 dias de armazenamento mantidos em condições ambiente com temperaturas médias diárias que variaram entre 19,2 a 24,2 °C e umidade relativa de 15 a 50% (Tabela 3).



Figura 6. Lote inicial de frutos ‘Nanicão’ (A) pesagem dos buquês em balança digital (B). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

Tabela 3. Condições de temperatura e umidade relativa (UR) que frutos de banana foram expostos após tratamento pós-colheita com diferentes produtos para o controle de antracnose.

| DATAS | Temperatura máxima | Temperatura mínima | Temperatura média | UR Máxima | UR mínima | UR Média |
|------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-----------|-----------|----------|
| 17/07/2018 (4 DAC) | 22,5 | 19,2 | 20,9 | 26,0 | 15,0 | 20,5 |
| 19/07/2018 (6 DAC) | 23,6 | 20,1 | 21,9 | 50,0 | 15,0 | 32,5 |
| 20/07/2018 (7 DAC) | 24,2 | 21,6 | 22,9 | 15,0 | 15,0 | 15,0 |
| 21/07/2018 (8 DAC) | 23,1 | 22,6 | 22,8 | 15,0 | 15,0 | 15,0 |
| 22/07/2018 (9 DAC) | 22,5 | 20,1 | 21,3 | 15,0 | 15,0 | 15,0 |
| 23/07/2018 (10 DAC) | 22,3 | 20,0 | 21,1 | 15,0 | 15,0 | 15,0 |

*DAC dias após a colheita.

A perda de massa fresca foi determinada com o auxílio de uma balança semi-analítica fazendo a pesagem dos buquês todos os dias durante o período de armazenamento. Os resultados foram expressos em porcentagem em relação ao peso inicial dos buquês (Figura 6B).

Para a análise de cor, foram realizadas leituras dos frutos nas áreas externas, pois é a área de interesse do consumidor no quesito escolha da fruta. A avaliação colorimétrica, foi mensurada pelo sistema CIEL*a*b, em colorímetro modelo Cromo Meter CR-400/410 (KONICA MINOLTA, 1998), com iluminante C ou D65 e ângulo 10°, previamente calibrado

(Figura 7C). Os parâmetros analisados foram: L^* - luminosidade ($L^* = 0$ - preto e $L^* = 100$ - branco) e a^* e b^* são coordenadas cromáticas ($+a^*$ vermelho e $-a^*$ verde; $+b^*$ amarelo e $-b^*$ azul).

A variação da coloração (ΔE) = $[(\Delta a)^2 + (\Delta b)^2 + (\Delta L)^2]^{1/2}$ foi calculada de acordo com a definição dada pela Konica Minolta (1998), seguindo-se a norma CIE "Commission Internationale de L'Éclairage" (1976). Foram calculados ainda, cromaticidade (croma) $C = [a^2 + b^2]^{1/2}$ e ângulo de tonalidade ($^{\circ}H$) = $\tan^{-1}[a/b]$ (ANTONIOLLI et al., 2011).

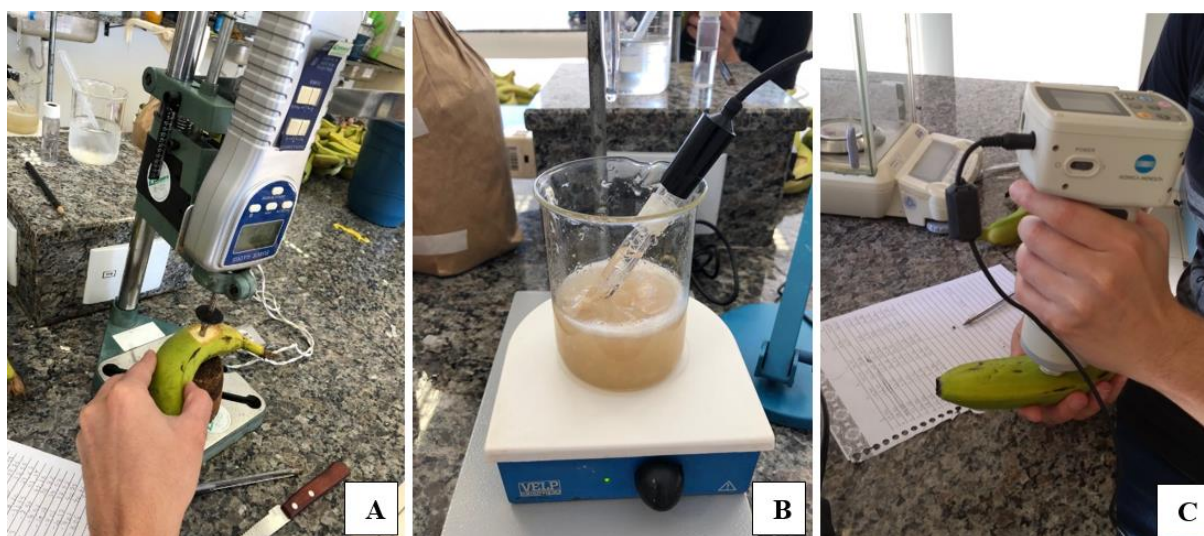


Figura 7. Aferição da firmeza de polpa em penetrômetro digital (A) pH da polpa de frutos de banana (B) coloração da casca com colorímetro digital (C). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

A variável cor de casca também foi analisada visualmente com o auxílio da escala de notas de Von Loesecke (PBMH; PIF, 2006), atribuindo notas de 1 a 7 (Figura 8).

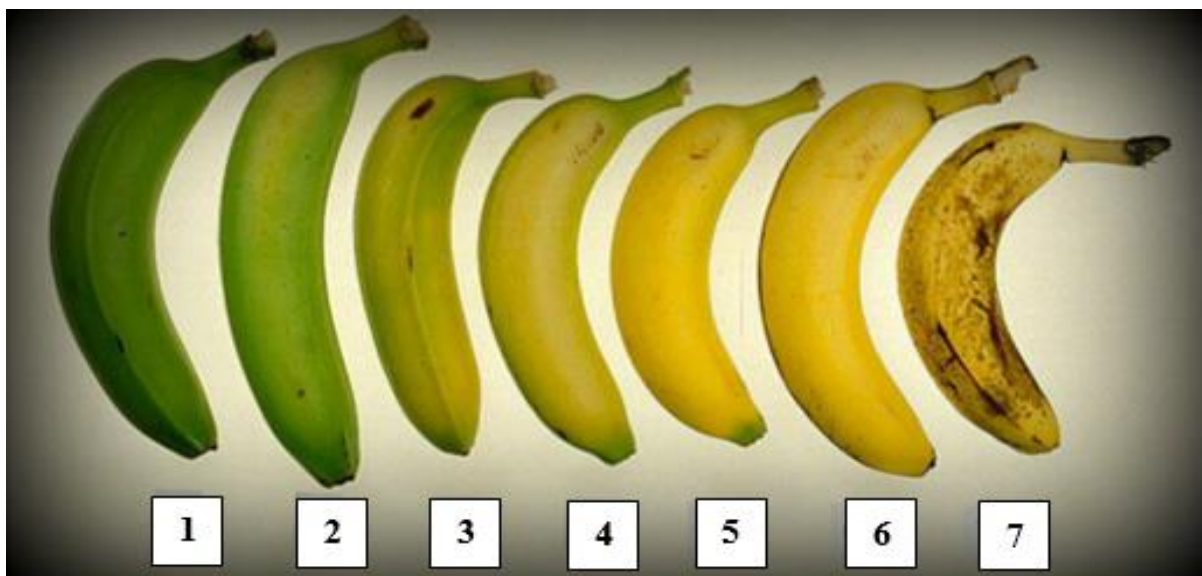


Figura 8. Escala de Von Loesecke. 1 (totalmente verde), 2 (verde com traços amarelos), 3 (mais verde que amarelo), 4 (mais amarela que verde), 5 (amarela com ponta verde), 6 (totalmente amarela) e 7 (amarela com áreas marrons). Fonte: PBMH; PIF, 2006.

Para a mensuração da firmeza de polpa, dos frutos, a aferição foi realizada em dois pontos de lados opostos dos frutos, após a remoção da casca (Figura 7A). Em seguida, os frutos foram perfurados com auxílio de um penetrômetro digital de frutas (FR-5120, Lutron Electronic Enterprise, Taipei, Taiwan) com uma ponteira de 8,0 mm de diâmetro. Os valores foram expressos em Newtons (N).

Após a análise de firmeza de polpa os frutos foram triturados em liquidificador e a polpa foi utilizada para as análises de valor de sólidos solúveis, acidez titulável e pH.

O teor de sólidos solúveis foi determinado por leitura direta em temperatura ambiente em refratômetro digital (Pocket refractometer Pal1, Atago, Tokyo, China), a partir da polpa extraída das amostras dos frutos e os resultados foram expressos em °Brix (IAL, 2008).

Para determinar a acidez titulável foram utilizadas 10 g de polpa dos frutos homogeneizada e diluída em 90 mL de água destilada, assim a solução previamente padronizada foi titulada. Utilizou-se solução de NaOH 0,1M. A titulação foi feita juntamente com um medidor de pH (pHmetro) para determinar a equivalência até um valor próximo a 8,3 de pH (IAL, 2008). Os valores foram expressos em porcentagem de ácido málico 100 g de polpa⁻¹.

O valor de pH da amostra homogeneizada, foi obtido com o uso de um pHmetro digital, devidamente calibrado (Figura 7B). A medição foi realizada em amostras de 10 g de polpa de

banana, com adição de 50 mL de água destilada (IAL, 2008). O valor de ratio foi determinado pela razão entre o teor de sólidos solúveis totais e acidez titulável.

4.8 Análise sensorial

Os testes sensoriais foram conduzidos em cabines individuais, com 36 avaliadores não treinados de ambos os sexos, com faixa etária entre 18 e 30 anos, estudantes do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste. Estes receberam as amostras de banana tratadas com produtos biológicos para a degustação, as quais foram codificadas com três dígitos (obtidos por meio de tabela de número aleatórios – random orders) de forma casualizada, acompanhada de um copo de água mineral (Figura 9). Juntamente com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a participação e a Ficha de Avaliação das amostras.

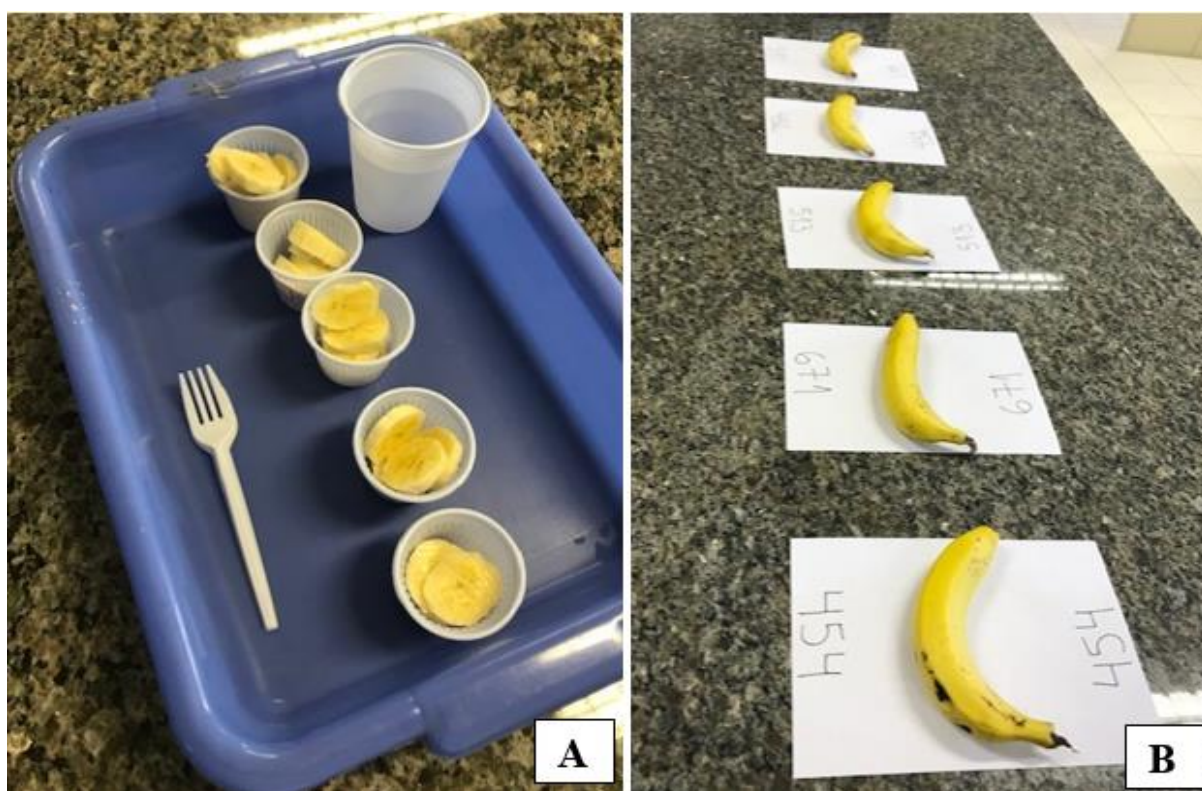


Figura 9. Amostras de banana para degustação (A) amostras de banana numeradas aleatoriamente para avaliação da aparência e cor. Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2019.

As amostras foram submetidas à análise sensorial de preferência, a partir do teste de aceitação de escala hedônica de nove pontos (IAL, 2008), que contém os termos limitantes

definidos “gostei muitíssimo” e “desgostei muitíssimo” contendo um ponto intermediário com o termo “nem gostei/nem desgostei”.

Foi utilizado o teste de Perfil de Característica, utilizando escala estruturada de cinco pontos, no qual os provadores atribuíram valores às características aparência, cor, aroma, sabor doce, sabor estranho e textura, sendo o escore mínimo um (péssimo) e o máximo cinco (excelente). Por fim foi realizado o teste de escala de atitude ou de intenção compra (IAL, 2008), que apresentou sete pontos, onde os termos definidos e identificados numericamente se situaram entre “compraria sempre” e “nunca compraria”. Esse teste indica a aceitabilidade do produto.

Os dados de análise sensorial e de características físico-químicas foram padronizados e realizada a análise multivariada de componentes principais (ACP). Inicialmente, 17 atributos que apresentaram dados completos em todos os tratamentos: aparência, aroma, sabor doce, intenção de compra, cor, sabor estranho, preferência, textura, acidez titulável, firmeza de polpa, perda de massa, pH, sólidos solúveis, ratio, luminosidade, ângulo hue e croma, foram analisados por análise de fator (AF), que foi capaz de identificar por meio dos valores das comunalidades, qual dos atributos eram mais interessantes para compor a ACP.

Atributos com comunalidades abaixo de 0,70 não foram considerados importantes no conjunto de dados para compor a AF e, portanto, as variáveis aroma, sabor doce, textura, perda de massa, luminosidade, ângulo hue e croma, foram descartadas deste conjunto de dados. As outras variáveis restantes, que foram as mais importantes para explicar a estrutura de dados, foram utilizadas para a ACP. A correlação entre os atributos foi verificada pela matriz de correlação de Pearson.

4.9 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e homogeneidade de variância por Cochran C antes de cada teste estatístico, e então submetidos à análise de variância (ANOVA), regressão polinomial e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 5% de significância, através do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2014). Os dados da enzima peroxidase não apresentaram normalidade e foram transformados por $\sqrt{x + 1}$.

Os dados de características físico-químicas, foram submetidos ao modelo de Equações de Estimções Generalizadas (GEE), utilizando o software SPSS versão 18.0.0. Os dados de

características físico-químicas não apresentaram normalidade, então foi utilizada distribuição de probabilidade gama com função de ligação log e matriz intercambiável. As médias foram comparadas pelo teste de Bonferroni, ao nível de 5% de significância.

Os dados de análise sensorial e de características físico-químicas foram padronizados e realizada a análise multivariada de componentes principais (ACP). A correlação entre os atributos foram verificadas pela matriz de correlação de Pearson, estas análises foram realizadas utilizando-se o programa Ambiente R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Experimentos *in vitro*

5.1.1 Pareamento de *T. harzianum* e *B. subtilis* com *C. musae*

Com relação ao crescimento micelial, quando adicionado o fungo *T. harzianum* ao meio de cultura, todas as concentrações testadas, não apresentaram crescimento micelial de *C. musae*, nem o tratamento com tiabendazol, sendo que todos os tratamentos se diferiram da testemunha (Figura 10).

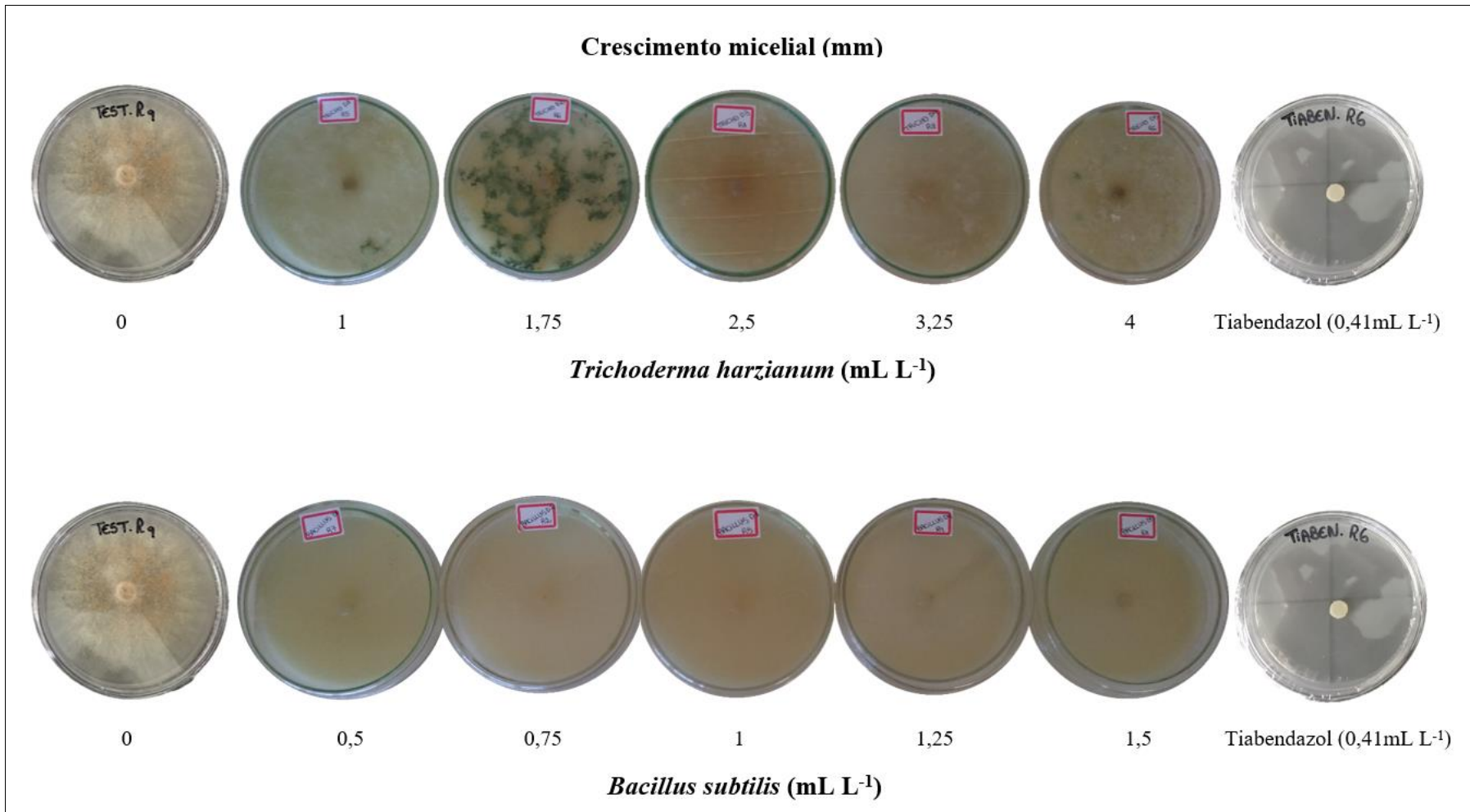


Figura 10. Crescimento micelial (mm) de *T. harzianum* e *B. subtilis* sobre *C. musae*. Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

As espécies do gênero *Trichoderma* são muito conhecidas pela sua atividade de biocontrole sobre fungos patogênicos (LORITO et al., 2010; MONTEIRO et al., 2010). O *C. musae* é um dos fungos antagonizados pelo gênero *Trichoderma* no cultivo de culturas pareadas, ele apresenta crescimento rápido, característica esta que lhe confere vantagem no quesito competição por nutrientes e espaço (BONETT et al., 2013).

Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que *T. harzianum* foi eficiente no controle do crescimento micelial de *C. musae* com 100% de inibição do fitopatógeno. Sangheeta et al. (2009) também verificaram altos percentuais de inibição do crescimento micelial de *C. musae* por diferentes espécies de *Trichoderma*, sendo a maior inibição por *T. harzianum* 1 e *T. pseudokoningii* (ambos 87,5%), seguido por *T. harzianum* 2 (82,2%).

Oliveira et al. (2016) encontraram índice de inibição de 84% de *Trichoderma* spp. sobre *C. musae* e no trabalho de Bonett et al. (2013), a espécie *T. harzianum* antagonizou *C. musae* em 56,71% pelo rápido crescimento sobre o patógeno, vencendo o patógeno por competição por espaço e nutrientes.

Na aplicação de *B. subtilis* ao meio de cultura, semelhante ao observado para *T. harzianum* não houve crescimento micelial de *C. musae*, para todas as concentrações testadas, nem para o tratamento com tiabendazol, com desenvolvimento de micélio somente no tratamento testemunha (concentração zero) (Figura 10).

As espécies do gênero *Bacillus* também são muito conhecidas pela sua atividade antagonica, com versatilidade para vencer os fitopatógenos (LANNA FILHO et al., 2010). De modo geral as bactérias antagonicas agem por antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo e competição (KUPPER et al., 2003). O *C. musae* é um dos fungos antagonizados pelo gênero *Bacillus* no cultivo de culturas pareadas (OLIVEIRA et al., 2016).

Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que *B. subtilis* foi eficiente no controle do crescimento micelial de *C. musae* com 100% de inibição do fitopatógeno. Oliveira et al. (2016) encontraram índice de inibição de 74% de *B. subtilis* sobre *C. musae*. No trabalho de Amaro et al. (2018) alguns isolados da espécie *B. subtilis* antagonizaram *C. gloeosporioides* em 100%, pelo mecanismo de antibiose sobre o fitopatógeno.

O tratamento químico com tiabendazol também foi eficiente no controle do crescimento de *C. musae* com 100% de inibição do fitopatógeno, ação que já era esperada visto que este é um fungicida registrado para o controle de *C. musae* (AGROFIT, 2018).

5.1.2 Teste de controle de germinação de esporos

Com relação à germinação de esporos, este processo fisiológico apresentou efeito quadrático conforme o aumento das concentrações de *T. harzianum*, e houve diferença estatística entre tais concentrações e os tratamentos testemunha e tiabendazol (Figura 11).

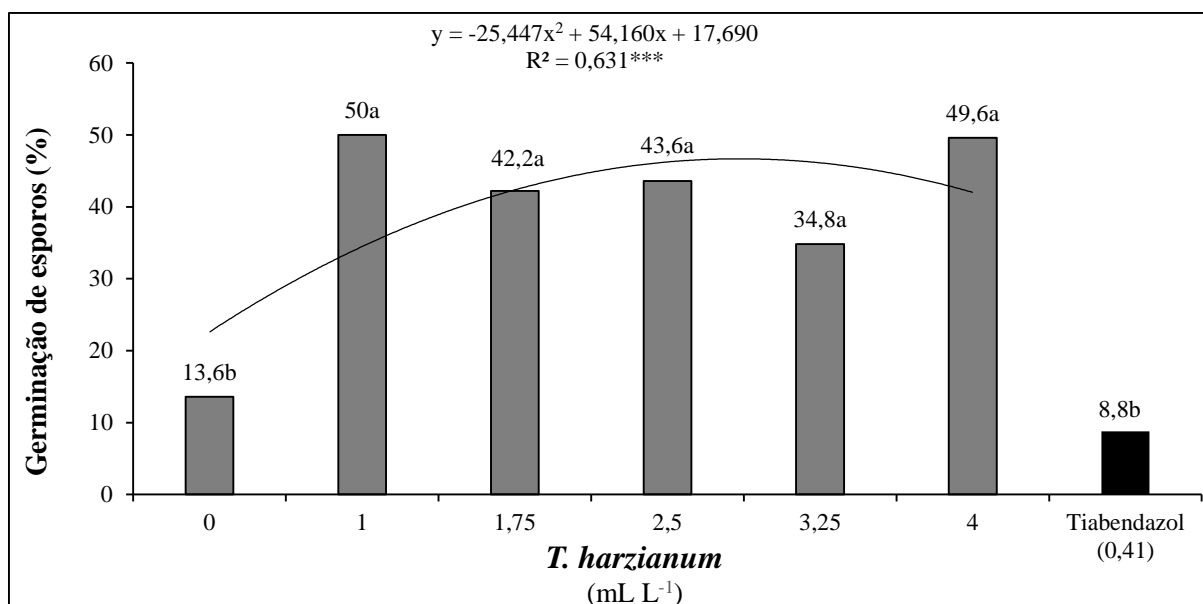


Figura 11. Porcentagem da germinação de esporos de *C. musae* tratados com *T. harzianum*. Ensaio realizado em duplicata. Médias (n = 10) seguidas de letras distintas, na mesma avaliação, diferem pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR, 2018.

Na aplicação de *B. subtilis* houve efeito linear na germinação de esporos em função das concentrações crescentes do produto biológico testado, e houve diferença estatística entre estas concentrações e os tratamentos testemunha e tiabendazol (Figura 12).

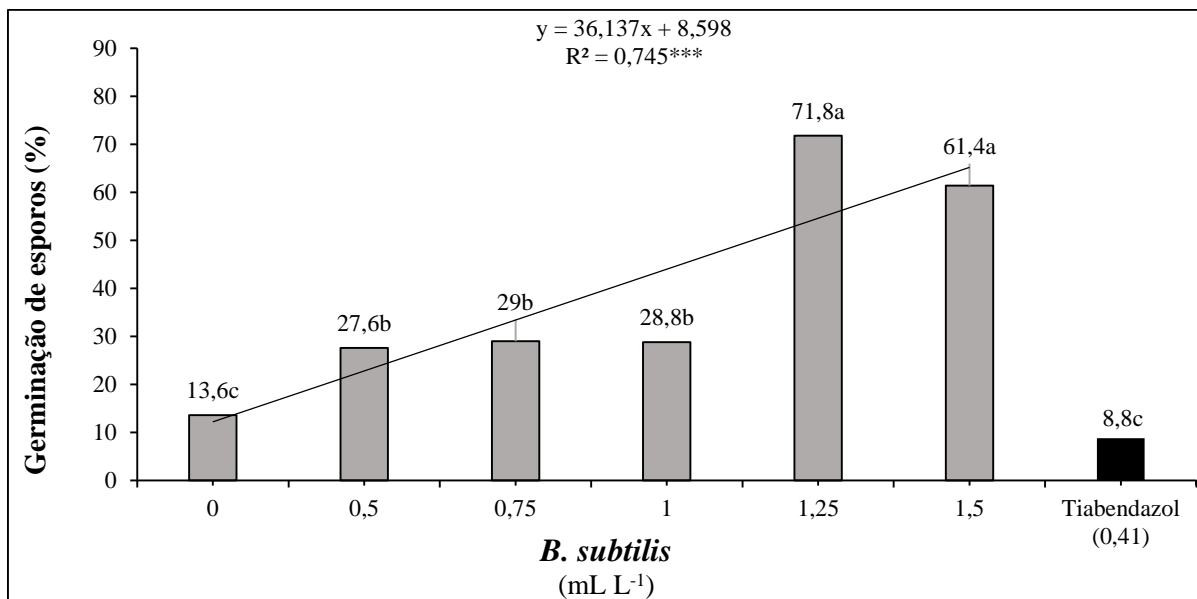


Figura 12. Porcentagem da germinação de esporos de *C. musae* tratados com *B. subtilis*.

Ensaio realizado em duplicata. Médias (n = 10) seguidas de letras distintas, na mesma avaliação, diferem pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR, 2018.

Em relação à baixa germinação de esporos em água detectada neste trabalho (13,6%) resultados semelhantes foram encontrados por outros autores, sendo que o isolado de *C. musae* obteve percentual de conídios germinados de 15,7% em água destilada, quando estes foram incubados à temperatura de 27 °C (COUTO; MENEZES, 2004). A baixa germinação de esporos no tratamento químico com tiabendazol já era esperada, como já citado anteriormente este é um fungicida sistêmico registrado para o controle de antracnose na pós-colheita da banana (AGROFIT, 2018).

Os fungicidas sistêmicos são absorvidos e podem se movimentar na planta pelo sistema condutor proporcionando uma ação protetora prolongada (REIS et al., 2010). O tiabendazol é um fungicida sistêmico que faz parte do grupo dos benzimidazóis, estes atuam na inibição da mitose durante a divisão celular na fase da metáfase, e na biossíntese de tubulina (REIS et al., 2007), interferindo desta forma no desenvolvimento do patógeno.

Por outro lado, a maior germinação de esporos apresentada pelos tratamentos com *T. harzianum* e *B. subtilis*, possivelmente está relacionado à presença de nutrientes na sua formulação comercial para manter estes agentes de biocontrole viáveis, também conhecidas como substâncias inertes ao produto (MORANDI; BETTIOL, 2009). Além disso, em situações de estresse e competição, os fungos patogênicos recebem estímulos para sua germinação, com a finalidade de perpetuar a espécie (AGRIOS, 2005).

5.2 Experimento *in vivo*

A partir dos resultados obtidos nos testes *in vitro* foram desenvolvidos os testes *in vivo* nos laboratórios de Fitopatologia e Fruticultura, para verificar o controle de *C. musae* na pós-colheita, além dos efeitos dos tratamentos sobre a atividade enzimática, peroxidação lipídica e nas características físico-químicas dos frutos.

Tendo em vista que no pareamento todas as concentrações de *T. harzianum* e *B. subtilis* foram eficientes no controle de *C. musae*, para determinar a concentração a ser utilizada nos frutos em pós-colheita, foram selecionadas as concentrações que apresentaram as menores porcentagens de germinação de esporos do patógeno.

Para *T. harzianum* todas as concentrações estimularam a germinação de *C. musae* sem diferença estatística entre elas, desse modo, foi escolhida a menor concentração (1 mL L⁻¹). Para *B. subtilis* também foi escolhida a menor concentração (0,5 mL L⁻¹) visto que esta estimulou menos a germinação de *C. musae* não diferindo das concentrações de 0,75 mL⁻¹ e 1 mL L⁻¹.

5.2.1 Controle de *C. musae* em pós colheita de frutos de banana

Com relação à incidência da doença, não houve diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 4). Todos os frutos apresentaram os sintomas da doença, os quais iniciaram cinco dias após a inoculação. Na avaliação da severidade o tratamento *T. harzianum* se diferiu da testemunha inoculada com redução de 48% da severidade, entretanto ambos não se diferiram dos demais tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação das médias de incidência (AACPI) e severidade (AACPS) de antracnose em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos. Unicentro, Guarapuava/PR.

| | Testemunha absoluta | Testemunha inoculada | <i>Trichoderma harzianum</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> | Tiabendazol |
|--------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------|---|--------------------|
| INCIDÊNCIA | 243,75 ns | 250 ns | 243,75 ns | 250 ns | 250 ns | 243,75 ns |
| ERRO PADRÃO | 6,25 | 0,00 | 6,25 | 0,00 | 0,00 | 6,25 |
| CV (%) | 0,05 | 0,00 | 0,05 | 0,00 | 0,00 | 0,05 |
| SEVERIDADE | 45,12 ab | 53,00 a | 27,56 b | 47,12 ab | 41,56 ab | 45,12 ab |
| ERRO PADRÃO | 6,55 | 5,55 | 5,00 | 7,08 | 4,28 | 2,53 |
| CV (%) | 29,04 | 20,95 | 36,29 | 30,06 | 20,64 | 11,24 |

Médias (n=16) seguidas de letras distintas na mesma linha diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (p<0,05).

Em relação a incidência nenhum dos tratamentos foi capaz de conter o aparecimento da doença nos frutos, entretanto outros estudos já verificaram a redução na incidência por agentes de controle biológico. Alvindia (2018) verificou redução na incidência de antracnose em mangas por *Trichoderma* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. No trabalho de Sangheeta et al. (2009) também observaram redução na incidência da podridão de coroa em bananas por espécies de *Trichoderma* consorciadas sobre *Colletotrichum musae*.

Quando os frutos estão verdes, o patógeno permanece quiescente devido a presença de taninos na casca dos frutos, até que inicie a maturação e a quantidade de etileno no fruto se eleve, dando início ao desenvolvimento das lesões (CORDEIRO; KIMATI, 1997). Inicialmente os sintomas de antracnose são de difícil identificação, pois as lesões formadas sobre os frutos maduros são escuras, o que confunde muito com as manchas características da cultivar Nanicão, sendo possível ter maior certeza quando as lesões progridem e passam a apresentar aspecto deprimido, com a formação de uma massa de coloração rosada composta por conídios do fungo (COUTO; MENEZES, 2004; CORDEIRO et al., 2005).

Mesmo que a polpa não seja atingida pelo fungo, os frutos tornam-se de aspecto indesejável para o consumo, com sintomas inviáveis para a comercialização (CELOTO, 2005), desse modo, os frutos ainda podem ser utilizados pela indústria da banana na produção de farinha, flocos, néctar, doce em massa, produto liofilizado, chips, geléia, suco, fruta cristalizada, licor, vinho, vinagre e álcool etílico (EMBRAPA, 2006).

Mesmo que a doença tenha se desenvolvido em todos os tratamentos, quando avaliada a severidade (AACPS) os frutos tratados com *Trichoderma harzianum* apresentaram uma redução de 48% desta variável em relação a testemunha inoculada.

Oliveira et al. (2016) verificaram atividade antagonista de *Trichoderma* spp. sobre o agente causal da antracnose em testes *in vivo* com bananas, com percentual de inibição da doença de 56%, diferindo dos demais micro-organismos testados e da testemunha, resultado este que corrobora aos dados do presente estudo.

5.3 Análise enzimática

5.3.1 Peroxidase

Quando iniciaram os primeiros sintomas de antracnose cinco dias após a inoculação de *C. musae* foi avaliada a atividade da POD. Neste momento os frutos

tratados com *T. harzianum* + *B. subtilis* apresentaram a maior atividade diferindo-se dos demais tratamentos. Seguido deste, os tratamentos *T. harzianum* e *B. subtilis*, quando utilizados isolados, também apresentaram aumento na atividade de peroxidase, mesmo não diferindo dos frutos iniciais e da testemunha absoluta, mas apresentando diferença quando comparados à testemunha inoculada e tiabendazol (Figura 13).

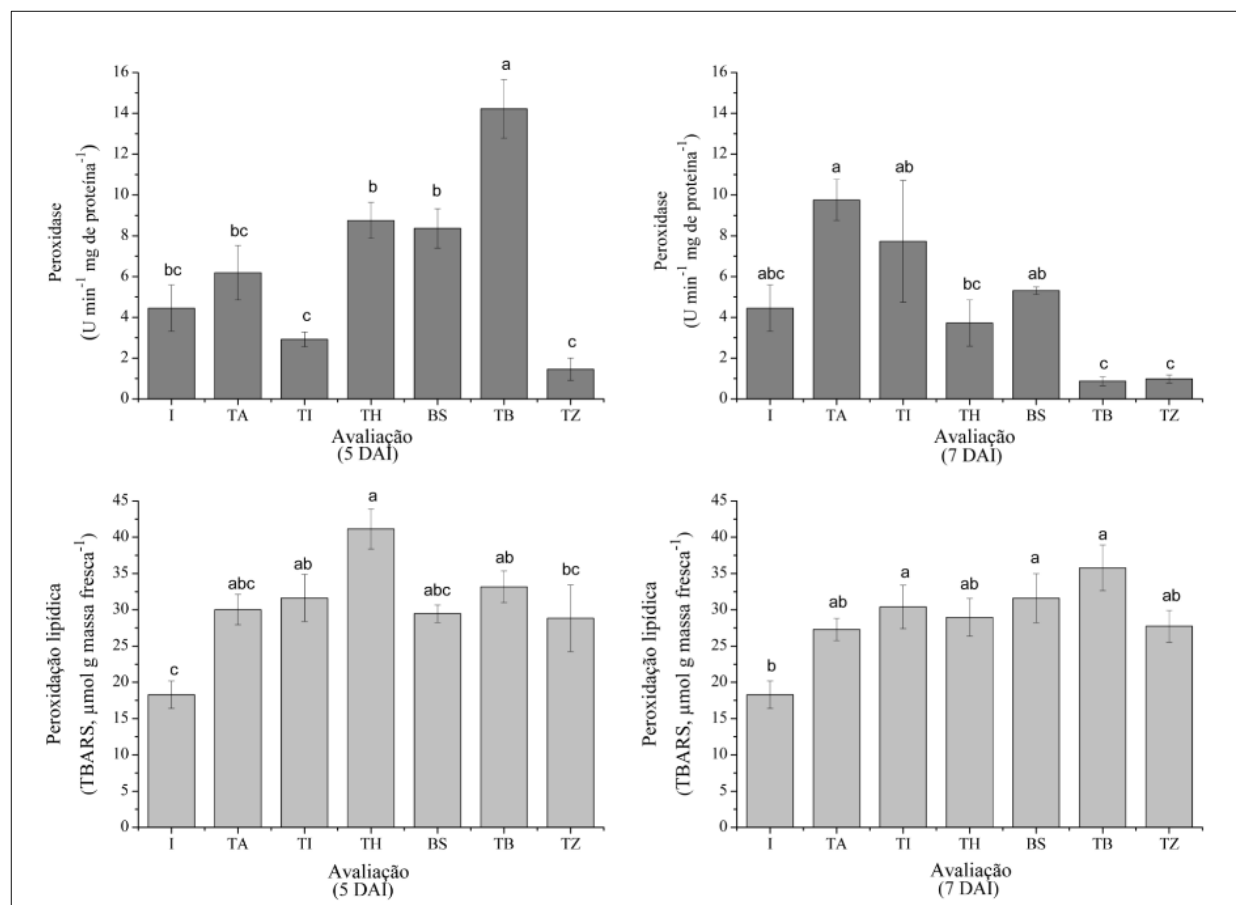


Figura 13. Atividade da enzima peroxidase (POD) e peroxidação lipídica (5 e 7 dias após inoculação) em frutos de banana inoculados com *C. musae* e tratados com diferentes produtos. Inicial (I) testemunha absoluta (TA) testemunha inoculada (TI) *T. harzianum* (TH) *B. subtilis* (BS) *T. harzianum* + *B. subtilis* (TB) tiabendazol (TZ). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma das EROs, produzido *in vivo* pela dismutação do radical ânion superóxido pela enzima superóxido dismutase (SOD) ou pela β -oxidação de ácidos graxos (BARREIROS et al., 2006). Caracterizado como um forte oxidante, pode desencadear dano oxidativo localizado, conduzindo à perda das funções metabólicas e da integridade celular nos sítios onde ele se acumula (FOYER et al., 1997). Também pode causar quebra de DNA (ácido desoxirribonucleico) e atuar na inativação de enzimas (CHARLES; HALLIWELL, 1981). Além disso, o H_2O_2 pode atuar como um mensageiro secundário na indução seletiva de genes de defesa (FOYER et al., 1997).

Para evitar os efeitos danosos causados pelo peróxido, são ativadas enzimas capazes de eliminar esta molécula, como a catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutationa peroxidase (GPX) e peroxidase (POD) (MITTLER, 2017).

A enzima POD está relacionada ao escurecimento enzimático, utilizando compostos fenólicos como substratos e provocando alterações indesejáveis na cor, sabor e aroma dos vegetais (VALDERRAMA et al., 2001). Entretanto quando verificados visualmente, os frutos tratados com *T. harzianum* + *B. subtilis*, que apresentaram a maior atividade da enzima, estavam com a melhor aparência da casca (Figura 14B).

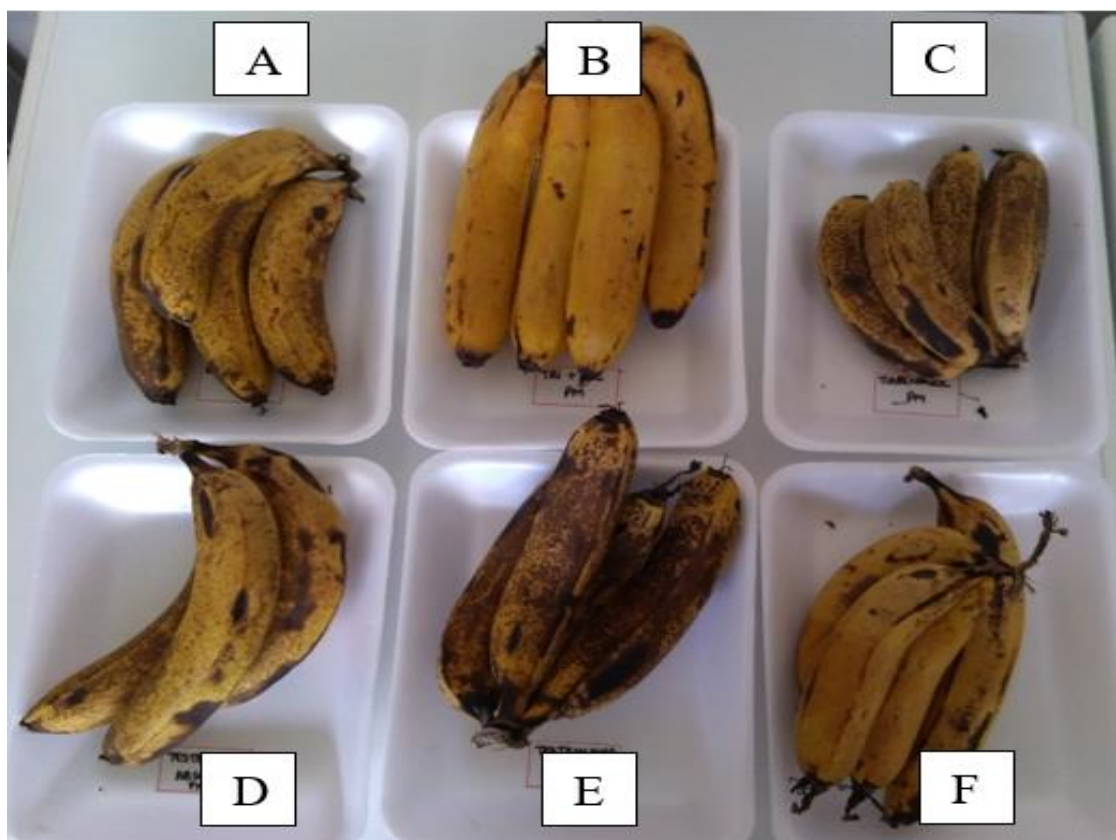


Figura 14. Frutos submetidos à análise enzimática 5 dias após a inoculação com *C. musae*. *B. subtilis* (A) *T. harzianum* + *B. subtilis* (B) tiabendazol (C) testemunha absoluta (D) testemunha inoculada (E) *T. harzianum* (F). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

Na última avaliação dos frutos, sete dias após a inoculação com *C. musae*, novamente não houve diferença entre os tratamentos quando comparados aos frutos iniciais, sendo que nesta avaliação nota-se um pequeno aumento na atividade da enzima para as testemunhas absoluta e inoculada, em relação a avaliação anterior, e uma leve queda na atividade da enzima para os demais tratamentos (Figura 13).

Durante os estádios iniciais de amadurecimento do fruto, o sistema antioxidante protege os frutos dos efeitos destrutivos do progressivo estresse oxidativo. Porém, com o início da senescência, a atividade das enzimas é diminuída, em decorrência da desintegração das membranas das organelas, dessa forma ocorrem os danos oxidativos pela dificuldade encontrada para eliminar as EROs (MONDAL et al., 2004), além de atuar no escurecimento dos frutos, a POD também atua na deterioração e perda de qualidade (VALDERRAMA et al., 2001), como foi observado no presente estudo, pois aos sete dias após a inoculação os frutos estavam com aparência escurecida e deteriorados.

5.4 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica caracteriza-se como um processo marcado pela permanência das EROs nas células, devido à não ativação do sistema oxidativo, ou até mesmo da ineficiência, pela baixa expressão das enzimas capazes de destruir as EROs (MONDAL et al., 2004).

Esse fato ocorre quando os frutos estão em estádios mais avançados, pois os radicais livres, não combatidos, causam uma série de danos celulares, entre eles a peroxidação lipídica (DHINDSA et al., 1981), que inicia as mudanças destrutivas associadas ao amadurecimento (MEIR et al., 1991; DU; BRAMLAGE, 1994).

Os lipídios da membrana e os ácidos graxos livres são altamente susceptíveis à oxidação e, o aumento do estresse oxidativo é indicado pelo acúmulo de subprodutos da peroxidação lipídica, como o malondialdeído (MOLLER et al., 2007; TRIANTAPHYLIDES et al., 2008).

Quando avaliada a peroxidação lipídica no primeiro momento, cinco dias após a inoculação de *C. musae*, o tratamento *T. harzianum* apresentou o maior índice de lipoperoxidação (Figura 13), mas não diferiu das testemunhas absoluta e inoculada, de *B. subtilis* e *T. harzianum* + *B. subtilis*.

Na última avaliação da peroxidação lipídica sete dias após a inoculação de *C. musae*, *T. harzianum* + *B. subtilis*, testemunha inoculada e *B. subtilis* apresentaram altos índices de lipoperoxidação, entretanto não diferiram estatisticamente dos demais tratamentos, exceto dos frutos iniciais (Figura 13).

O acúmulo de produtos da peroxidação lipídica é uma prova do aumento do estresse oxidativo que ocorre na fase de senescência dos frutos. Este processo foi observado no presente estudo, sendo a senescência dos frutos acompanhada por um aumento do estresse oxidativo que afeta a saturação de lipídios (HALLIWELL, 2006).

5.5 Efeitos dos agentes de controle biológico sobre as características físico-químicas dos frutos

As variáveis de perda de massa, coloração, firmeza, sólidos solúveis, acidez titulável, pH e ratio (SS/AT), apresentaram resposta significativa entre tratamento e tempo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Bonferroni (Tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise de Equações de Estimações Generalizadas (GEE) para as fontes de variação tratamento e tempo. Unicentro, Guarapuava/PR.

| VARIÁVEIS | Fontes de Variação (Valores de Fc) | | |
|----------------------|------------------------------------|--------|--------------------|
| | Tratamento | Tempo | Tratamento * tempo |
| Perda de massa (%) | 0,002* | 0,000* | 0,000* |
| Luminosidade | 0,000* | 0,000* | 0,000* |
| Ângulo hue | 0,000* | 0,000* | 0,000* |
| Chroma | 0,000* | 0,000* | 0,000* |
| Firmeza (N) | 0,000* | 0,000* | 0,000* |
| Sólidos solúveis | 0,784 | 0,000* | 0,000* |
| Acidez titulável (%) | 0,000* | 0,000* | 0,000* |
| pH | 0,025* | 0,000* | 0,000* |
| Ratio SS/AT | 0,737 | 0,000* | 0,000* |

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

Os frutos climatéricos como a banana apresentam rápida maturação, conseqüentemente, são altamente perecíveis e apresentam vida útil pós-colheita curta (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011). Os métodos utilizados na pós-colheita, não melhoram a qualidade da fruta, apenas retardam o processo de senescência, garantindo melhor conservação e aumentando o tempo para comercialização (BOTREL et al., 2001).

No processo de maturação dos frutos ocorrem alterações nos atributos físicos e químicos. Inicialmente ocorre a degradação da clorofila e a síntese de novos pigmentos, culminando em modificações na cor, como a pigmentação amarela da casca. Também ocorre a conversão do amido em açúcar, mudanças no sabor e aroma pela redução da acidez e da adstringência. Além de mudanças na textura, devido ao amaciamento da polpa em decorrência da solubilização das pectinas, características da banana madura (TRINDADE et al., 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Quando analisada a variável perda de massa, dentro de cada intervalo de tempo, apenas no 2º dia de avaliação (seis dias após a colheita), observou-se que a testemunha e *B. subtilis* apresentaram maiores perdas, diferindo-se do tratamento com tiabendazol que apresentou menor valor, entretanto os tratamentos *T. harzianum* e *T. harzianum* + *B. subtilis* não tiveram diferenças em relação aos demais tratamentos (Figura 15).

No estudo de Huang et al. (2014) foi observado o mesmo comportamento para os tratamentos testemunha e tiabendazol. Os frutos testemunha apresentaram a maior perda de massa em relação aos outros tratamentos aos 10 dias de armazenamento. E os frutos

tratados com tiabendazol apresentaram a menor perda de massa em relação aos demais tratamentos aos 18 dias após o tratamento (NEGREIROS et al., 2013).

Quando analisada a variável perda de massa de um mesmo tratamento dentro dos diferentes intervalos de tempo, houve diferença estatística significativa, visto que a perda de massa aumentou ao longo dos dias de armazenamento. Do início das avaliações até o 4º dia, momento em que os frutos começaram a entrar na fase de senescência, a perda de massa aumentou em média 2,46%. Entretanto nas últimas duas avaliações, a perda de massa para todos os tratamentos atingiu os maiores valores, visto que já estavam em avançado estágio de senescência (Figura 15).

A perda de massa está relacionada principalmente com a perda de água pelos frutos, ocasionada tanto pela transpiração como pela respiração (SIGRIST, 1992), sendo esta perda superior quando as frutas são armazenadas em altas temperaturas e/ou baixa umidade relativa (BOTREL et al., 2001).

Essa perda de massa também é acentuada quanto maior o grau de amadurecimento da fruta, chegando a níveis elevados na senescência da fruta. Além disso, a presença de micro-organismos nos tecidos tem a capacidade de estimular o processo de senescência, aumentando a atividade respiratória e, conseqüentemente, a perda de peso (NEGREIROS et al., 2013).

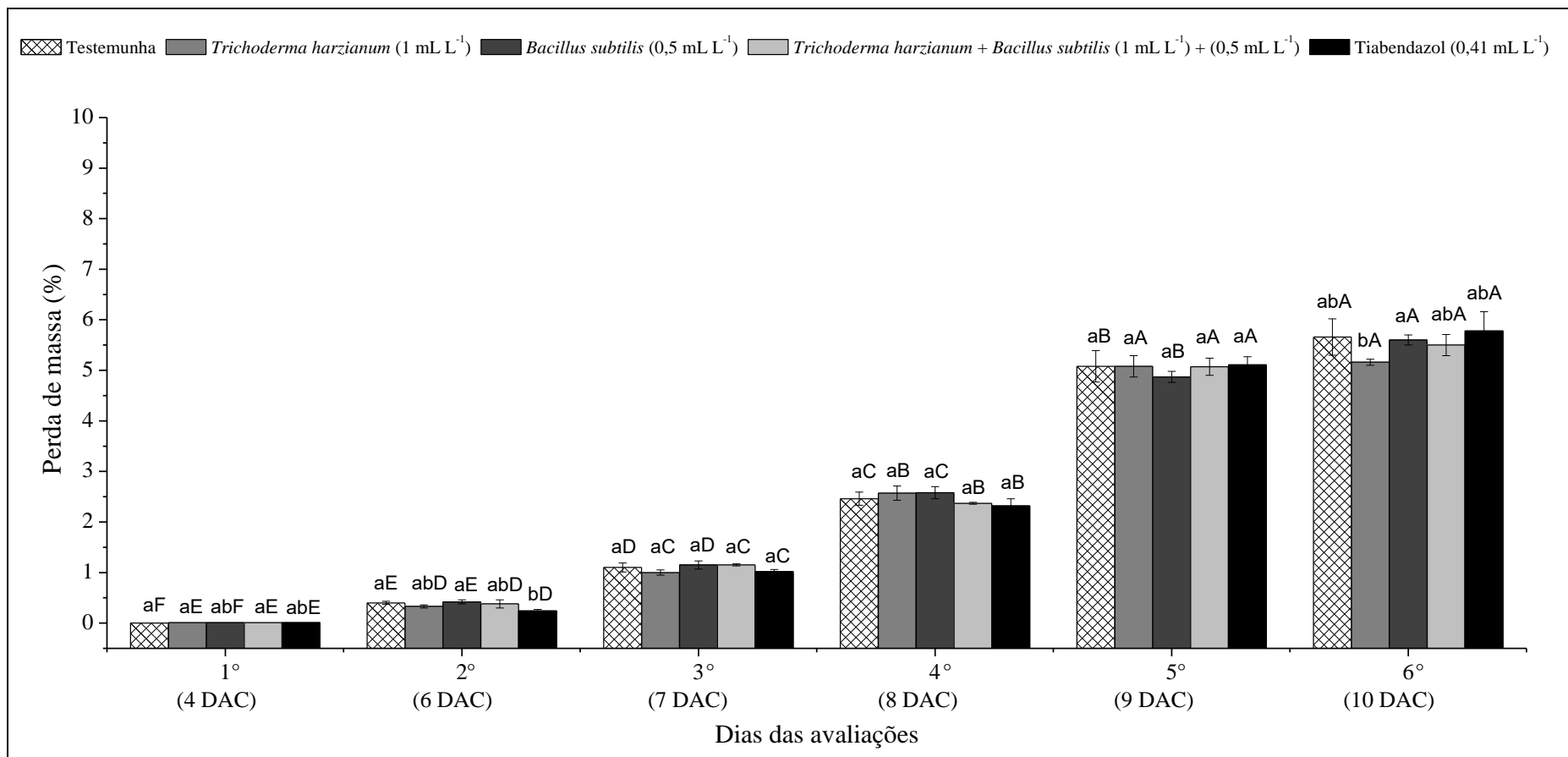


Figura 15. Percentual de perda de massa aos 4, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a colheita (DAC), em frutos de banana ‘Nanicão’, tratadas com diferentes agentes de controle biológico em pós-colheita. Barras indicam erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo tempo. Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos tempos. Letras distintas, diferem pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

Quando analisadas as variáveis de cor, dentro de cada intervalo de tempo, para a luminosidade, no 3º dia de avaliação (sete dias após a colheita) estádio que caracteriza-se como ideal para o consumo do fruto, observou-se diferença estatística significativa entre o tratamento *B. subtilis* e tiabendazol, com maior e menor luminosidade neste intervalo, respectivamente. Entretanto, ambos não diferiram dos demais tratamentos (Tabela 6).

Para o ângulo hue, no 3º dia de avaliação (sete dias após a colheita), houve diferença estatística significativa entre os tratamentos *T. harzianum* e *B. subtilis* de tiabendazol, com os maiores valores de hue para os tratamentos com agentes de biocontrole e menor valor para tiabendazol neste intervalo (Tabela 7). E para a análise de croma, no 3º dia de avaliação (sete dias após a colheita) não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos neste intervalo (Tabela 8).

Ao analisar a luminosidade (Tabela 6), o ângulo hue (Tabela 7) e croma (Tabela 8), de um único tratamento nos diferentes intervalos de tempo, houve diferença estatística significativa, visto que estas variáveis foram diminuindo ao longo dos dias de armazenamento.

Tabela 6. Comparação múltipla das médias de luminosidade (L*) em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos.

| TEMPOS | | Testemunha | <i>Trichoderma harzianum</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> | Tiabendazol |
|--------------------------|----------------|-----------------|------------------------------|--------------------------|--|----------------|
| Dias de avaliação (dias) | 1° (4 DAC) | 56,46±0,35 cC | 60,37±0,94 abAB | 58,67±0,96 bcABC | 62,71±0,48 aA | 60,24±0,45 bA |
| | 2° (6 DAC) | 61,40±0,70 aA | 61,63±0,40 Aa | 61,75±0,33 Aa | 60,80±0,77 aAB | 59,79±1,29 aAB |
| | 3° (7 DAC) | 60,00±0,99 abAB | 59,51±0,85 abAB | 60,26±0,33 aB | 57,79±1,34 abBC | 58,48±0,52 bA |
| | 4° (8 DAC) | 59,68±0,75 aA | 56,58±0,88 abBC | 54,19±1,64 bCD | 55,53±1,03 bC | 54,73±0,90 bC |
| | 5° (9 DAC) | 55,95±0,81 aBC | 54,07±1,32 aC | 52,62±1,48 aCD | 54,72±1,30 aC | 52,89±1,27 aBC |
| | 6° (10 DAC) | 51,63±0,70 bD | 54,60±0,17 aC | 53,25±1,79 abD | 54,08±0,60 abC | 51,78±0,81 bC |

DAC (dias após a colheita). O valor após a média (n= 16) indica o erro padrão. Letras minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas indicam médias diferentes pelo teste de Bonferroni (p<0,05).

Tabela 7. Comparação múltipla das médias de hue em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos.

| TEMPOS | Testemunha | <i>Trichoderma harzianum</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> | Tiabendazol | |
|--------------------------|----------------|------------------------------|--------------------------|--|------------------|----------------|
| Dias de avaliação (dias) | 1° (4 DAC) | 106,28±0,51 aA | 92,34±3,32 bcA | 87,31±0,45 cA | 89,68±0,50 bA | 87,18±0,30 cA |
| | 2° (6 DAC) | 87,86±0,82 aB | 87,36±0,18 aA | 87,48±0,25 aA | 87,04±1,01 aAB | 86,96±1,12 aA |
| | 3° (7 DAC) | 86,89±1,14 abBC | 86,30±0,49 aA | 86,08±0,23 aB | 84,28±1,29 abBCD | 84,17±0,48 bB |
| | 4° (8 DAC) | 85,64±0,45 aC | 82,13±0,86 bBC | 80,08±1,05 bC | 82,95±0,44 bC | 80,98±0,91 bC |
| | 5° (9 DAC) | 81,88±0,41 aD | 82,23±0,62 aB | 79,28±0,16 bC | 80,83±0,75 abCD | 79,96±0,68 abC |
| | 6° (10 DAC) | 78,10±0,55 aE | 80,01±0,86 aC | 80,69±0,85 aC | 79,92±0,71 aD | 79,32±1,19 aBC |

DAC (dias após a colheita). O valor após a média (n= 16) indica o erro padrão. Letras minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas indicam médias diferentes pelo teste de Bonferroni (p<0,05).

Tabela 8. Comparação múltipla das médias de croma em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos.

| TEMPOS | Testemunha | <i>Trichoderma harzianum</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> | Tiabendazol | |
|--------------------------|----------------|------------------------------|--------------------------|--|----------------|----------------|
| Dias de avaliação (dias) | 1° (4 DAC) | 38,13±0,17 bA | 39,76±0,29 aA | 37,77±0,68 abAB | 40,72±1,32 abA | 36,99±0,93 bA |
| | 2° (6 DAC) | 40,15±1,13 aA | 41,00±0,90 aA | 40,96±0,89 aA | 38,86±0,79 aA | 39,09±1,84 aA |
| | 3° (7 DAC) | 37,31±2,01 aAB | 37,81±0,85 aA | 37,07±1,08 aB | 34,48±1,61 aAB | 35,15±1,23 aA |
| | 4° (8 DAC) | 34,34±0,85 aBC | 33,80±0,83 abBC | 31,84±1,43 abC | 31,44± 0,55 bB | 32,44±1,57 abA |
| | 5° (9 DAC) | 32,57±0,43aB | 32,71±1,12 aB | 30,91±0,50 aC | 31,45±1,30 aB | 31,12±1,07 aB |
| | 6° (10 DAC) | 29,73±1,00 aC | 31,86±1,19 aC | 31,10±1,47 aC | 32,25±0,54 aB | 30,50±1,57 aB |

DAC (dias após a colheita). O valor após a média indica o erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas indicam médias diferentes pelo teste de Bonferroni (p<0,05).

Com base nos parâmetros da colorimetria é possível identificar que todas as variáveis de cor foram diminuindo ao longo dos dias de armazenamento independente dos tratamentos, para a variável L o valor variou de 56,46 a 51,63 que indica redução na luminosidade. Para a variável croma variou de 36,99 a 29,73 que indica valor intermediário na escala entre cores intensas e neutras. Para a variável hue o valor variou de 106,28 a 78,10° valores estes muito próximos de 90° que corresponde a coloração amarela, cor característica dos frutos de banana.

A partir da escala de cores de Von Loesecke também foi possível identificar estas mudanças na coloração da casca dos frutos, sendo que antes de serem adquiridos passaram por câmara de climatização com etileno por três dias. Quando chegaram ao laboratório estavam com casca no estágio 4 (mais amarelo do que verde), por esse motivo na colorimetria não foram observados valores de ângulo hue próximos de 180°, e sim próximos de 90° característico da cor amarela (PBMH; PIF, 2006).

Ao relacionar as diferenças de luminosidade e ângulo hue entre *B. subtilis* e tiabendazol, não foi identificada variação de cor entre os dois tratamentos. Porém foi identificada diferença de variação de cor entre o tratamento com *T. harzianum* + *B. subtilis* em relação ao tratamento testemunha e *B. subtilis* (Tabela 9).

Tabela 9. Comparação das médias de variação de cor em frutos de banana ‘Nanicão’ tratadas na pós-colheita com diferentes produtos.

| Variável | Testemunha | <i>Trichoderma harzianum</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> | Tiabendazol |
|----------------|-------------|------------------------------|--------------------------|---|--------------|
| Varição de cor | 0,01±0,00 b | 4,16±1,28 ab | 2,74±1,05 b | 7,69±1,32 a | 4,41±2,67 ab |

O valor após a média indica o erro padrão da média (n=16). Letras distintas indicam médias diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05).

A característica cor da casca, é um fator muito importante na determinação da vida de prateleira da banana, que funciona como um guia para a sua distribuição e comercialização. A clorofila que confere cor verde aos frutos de banana no estágio de pré-climatério, é rapidamente degradada, tornando-se visível os carotenoides, pigmentos de coloração amarela, característica da banana madura (VILAS BOAS et al., 2001). Esse processo de degradação e síntese de pigmentos ocorre durante o amadurecimento (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

A cor verde se deve a presença das clorofilas a e b, as quais sofrem quebra em sua

estrutura devido a alterações de pH, pela presença de sistemas oxidantes e pela atividade de clorofilases (AWAD, 1993). Simultaneamente a degradação das clorofilas, outros pigmentos como os carotenoides são sintetizados, originando a cor característica do fruto maduro (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Quando analisada a variável firmeza, dentro de cada intervalo de tempo, no 2° dia de avaliação os frutos do tratamento com tiabendazol foi significativamente superior aos demais tratamentos (Figura 16).

Também nota-se diferença estatística significativa no 3° dia de avaliação (sete dias após a colheita), momento este em que os frutos estão no estágio ideal de consumo, onde o tratamento com *B. subtilis* apresentou a menor firmeza de polpa, entretanto não se diferindo do tratamento com *T. harzianum* + *B. subtilis* (Figura 16).

Assim como ocorre no processo de perda de massa, a presença de microorganismos nos tecidos tem a capacidade de estimular a senescência dos frutos, aumentando a atividade respiratória (NEGREIROS et al., 2013). Fato este que pode estar relacionado com a menor firmeza de polpa apresentada pelos agentes de biocontrole *B. subtilis* e *T. harzianum* + *B. subtilis*.

Quando analisada a variável firmeza de um mesmo tratamento dentro dos diferentes intervalos de tempo, também houve diferença estatística significativa, visto que os frutos perderam firmeza ao longo dos dias de armazenamento (Figura 16). A partir do 3° dia de avaliação, momento em que os frutos começaram a entrar na fase de senescência, a perda de firmeza se manteve com pequenas oscilações, visto que os frutos já estavam totalmente degradados (Figura 16).

A diminuição na firmeza em frutos de banana durante o amadurecimento também foi observada no trabalho de Nascimento Júnior et al., (2008). Após a colheita, os frutos apresentaram valores elevados de firmeza, mas conforme o avanço do processo de maturação, ocorreu mudanças na textura, e tais alterações podem ser explicadas pelo amaciamento da polpa pela produção de enzimas pectinolíticas e hidrolíticas como a celulase e pectinametilesterase, que promovem a degradação da parede celular e causam a solubilização das pectinas (TRINDADE et al., 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005; TREVISAN et al., 2013).

A perda de firmeza pelos frutos também pode ocorrer devido ao aumento da umidade da polpa em razão de trocas osmóticas com a casca. Os açúcares da polpa aumentam mais rapidamente durante o amadurecimento do que os da casca, contribuindo para uma mudança diferencial na pressão osmótica. Além de perder água para a polpa, a

casca da banana perde água para o meio ambiente, pela transpiração (MATSUURA; FOLEGATTI, 2001).

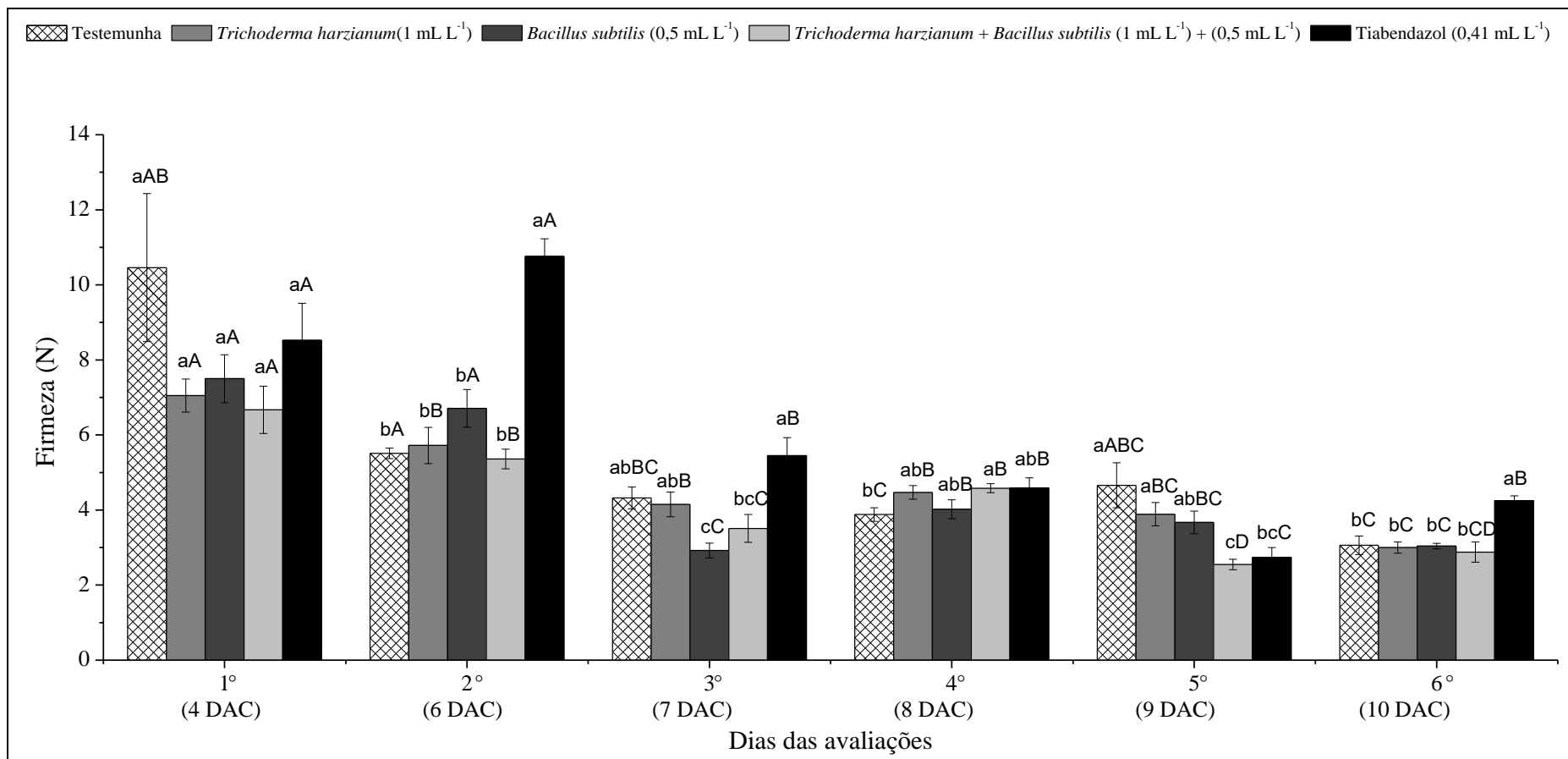


Figura 16. Firmeza de polpa aos 4, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a colheita (DAC), em frutos de banana ‘Nanicão’, tratadas com diferentes agentes de controle biológico em pós-colheita. Barras indicam erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo tempo. Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos tempos. Letras distintas, diferem pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

Para a variável sólidos solúveis quando analisada, dentro de cada intervalo de tempo, houve diferença estatística significativa no 3º dia de avaliação entre o tratamento *B. subtilis* que apresentou o maior valor de sólidos solúveis, e o tratamento tiabendazol que apresentou o menor valor da variável analisada (Tabela 10).

Quando analisado o valor dos sólidos solúveis de um mesmo tratamento dentro dos diferentes intervalos de tempo também houve diferenças estatísticas significativas para todos os tratamentos, visto que os frutos aumentaram o teor de sólidos solúveis a partir do 2º dia de avaliação, permanecendo com leves alterações ao longo dos demais dias de armazenamento (Tabela 10).

A banana verde caracteriza-se por apresentar uma quantidade significativa de amido em sua composição. Ao longo do processo de amadurecimento dos frutos ocorre a hidrólise do amido e aumento no teor de açúcares solúveis para garantir o sabor de polpa desejado (MOHAPATRA et al., 2010; MOSCATELLO et al., 2011).

Em algumas espécies de banana, o conteúdo de sólidos solúveis aumenta até um pico e logo diminui, em outras eles continuam seu aumento com o amadurecimento (DADZIE; ORCHARD, 1997). Nesse estudo nota-se o aumento no teor de sólidos solúveis, sendo que os frutos atingiram até 24,05 °Brix quando maduros. De acordo com outros estudos o teor de sólidos solúveis para a banana, independente da cultivar, pode variar de 19,72 a 22,36 °Brix para o fruto maduro (CANO et al., 1997; PINHEIRO, 2004; IMSABAI et al., 2006). No estudo de Nascimento Junior et al. (2008), quando analisada a cultivar Nanicão, esta apresentou um valor de 17,13 °Brix, oito dias após a colheita, estágio ideal para consumo.

Tabela 10. Comparação múltipla das médias de sólidos solúveis em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos.

| TEMPOS | Testemunha | <i>Trichoderma harzianum</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> | Tiabendazol | |
|--------------------------|---------------|------------------------------|--------------------------|---|-----------------|----------------|
| Dias de avaliação (dias) | 1 (4 DAC) | 18,25±0,97 aC | 18,30±0,50 aC | 17,97±0,23 aB | 19,32±0,63 aC | 19,27±0,61 aC |
| | 2 (6 DAC) | 23,25±0,14 aB | 22,67±0,37 aB | 23,27±0,26 aA | 23,45±0,44 aAB | 22,02±0,45 aB |
| | 3 (7 DAC) | 23,60±0,42 abAB | 23,55±0,40 abAB | 24,05±0,20 aA | 23,55±0,25 abAB | 23,12±0,07 bAB |
| | 4 (8 DAC) | 23,77±0,20 aA | 24,15±0,26 aAB | 23,30±0,37 aA | 24,35±0,32 aA | 24,10±0,50 aA |
| | 5 (9 DAC) | 24,00±0,33 aAB | 23,72±0,41 aA | 24,10±0,20 aA | 23,47±0,23 aAB | 24,75±0,80 aA |
| | 6 (10 DAC) | 23,72±0,38 aAB | 23,77±0,19 aAB | 22,62±0,48 aA | 23,20±0,24 aB | 23,20±0,30 aA |

DAC (dias após a colheita). O valor após a média indica o erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas indicam médias diferentes pelo teste de Bonferroni (p<0,05).

Para a acidez titulável, não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos dentro de cada intervalo de tempo (Figura 17). Entretanto, quando analisada a acidez titulável de um mesmo tratamento dentro dos diferentes intervalos de tempo houve diferenças estatísticas significativas para todos os tratamentos, visto que os frutos reduziram a acidez ao longo dos dias de armazenamento (Figura 17). Nas duas últimas avaliações a acidez titulável se manteve sem alterações, pelo fato dos frutos já estarem em avançado estágio de senescência, não apresentando mais compostos para transformação.

A banana no estágio verde caracteriza-se por apresentar uma baixa acidez, e na fase de maturação ocorre um aumento nos níveis de ácidos orgânicos, com predominância do ácido málico (MATSUURA; FOLEGATTI, 2001). A maioria das espécies de *Musa* são caracterizadas pelo aumento na acidez titulável com o avanço do desenvolvendo dos frutos, até atingir um máximo quando a casca está totalmente amarela, para posteriormente decrescer (BLEINROTH et al., 1992). Em outras espécies não existem mudanças significativas na acidez titulável da polpa durante o amadurecimento dos frutos (DADZIE; ORCHARD, 1997).

As transformações observadas neste estudo foi contrastante com os estudos descritos anteriormente, entretanto a acidez dos frutos pode diminuir ou aumentar,

dependendo da espécie em questão, visto que ácidos orgânicos são utilizados na respiração para produção de ATP, resultando na diminuição da acidez dos frutos, como também o próprio processo respiratório produz ácidos orgânicos que podem acumular-se no fruto, ocasionando um leve aumento da acidez dos mesmos (PIMENTEL et al., 2010).

Quando comparados os valores apresentados no 3º dia de avaliação obtiveram uma variação de 0,44 a 0,47% estágio onde os frutos estavam com a casca totalmente amarela. Outros autores encontraram valores de 0,35 a 0,36% para a cultivar Nanicão, no mesmo estágio de maturação (CAMPOS et al., 2003; NASCIMENTO JÚNIOR et al., 2008).

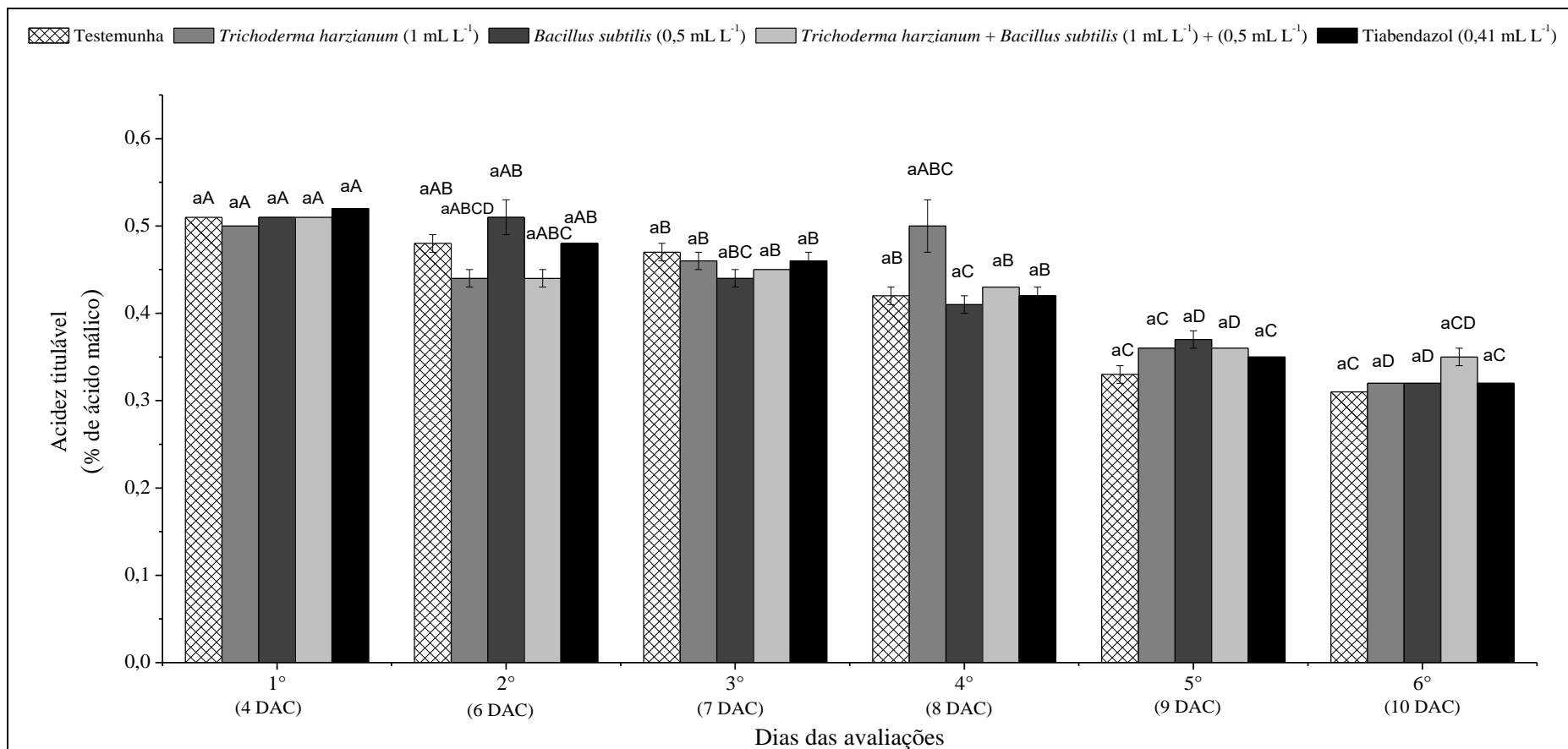


Figura 17. Acidez titulável aos 4, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a colheita (DAC), em frutos de banana ‘Nanicão’, tratadas com diferentes agentes de controle biológico em pós-colheita. Barras indicam erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo tempo. Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos tempos. Letras distintas, diferem pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

Para a variável pH quando analisada, dentro de cada intervalo de tempo, houve diferença estatística significativa no 3º dia de avaliação entre o tratamento testemunha que apresentou o menor valor de pH, e o tratamento *B. subtilis* que apresentou o maior valor da variável analisada (Tabela 11).

Quando analisado o valor de pH de um mesmo tratamento dentro dos diferentes intervalos de tempo também houve diferenças estatísticas significativas para todos os tratamentos, visto que os frutos aumentaram o pH ao longo dos dias de armazenamento (Tabela 11). Para a maioria dos tratamentos o pH sofreu queda da 1ª para a 2ª avaliação apresentando diferenças estatísticas significativas, a partir desse momento manteve o valor de pH até o 4º dia de avaliação. Enquanto que nas duas últimas avaliações o valor do pH voltou a aumentar novamente.

A maioria das espécies de *Musa* são caracterizados por uma diminuição do pH na polpa com o avançar da idade da fruta, enquanto que em outras espécies não existem mudanças significativas no pH durante o amadurecimento da fruta (DADZIE; ORCHARD, 1997). Isso ocorre devido ao aumento nos níveis de ácidos orgânicos, com predominância do ácido málico, causando o decréscimo do pH (MATSUURA; FOLEGATTI, 2001; NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008).

Entretanto o valor do pH ao longo do amadurecimento no presente estudo apresentou uma elevação em seu valor, fato este que pode estar associado a queda na acidez titulável. O pH observado para a cultivar Nanicão quando os frutos estão verdes é de 5,14, e ao longo do amadurecimento quando os frutos estão no estágio de coloração 6 (totalmente amarelos) o valor é de 4,76 (NASCIMENTO JUNIOR et al., 2008).

Tabela 11. Comparação múltipla das médias de pH em frutos de banana tratadas na pós-colheita com diferentes produtos.

| TEMPOS | Testemunha | <i>Trichoderma harzianum</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> | Tiabendazol |
|---------------|--------------|------------------------------|--------------------------|---|---------------|
| 1 (4 DAC) | 4,68±0,01 aD | 4,67±0,02 aC | 4,67±0,01 aD | 4,70±0,03 aC | 4,74±0,02 aC |
| 2 (6 DAC) | 4,93±0,03 aC | 4,97±0,03 aB | 4,98±0,03 aBC | 5,03±0,02 aB | 5,03±0,02 aB |
| 3 (7 DAC) | 4,89±0,03 bC | 4,95±0,03 abB | 5,04±0,01 aC | 4,96±0,05 abB | 4,99±0,03 abB |
| 4 (8 DAC) | 4,97±0,02 aC | 4,97±0,02 aB | 5,05±0,03 aBC | 4,99±0,02 aB | 5,02±0,01 aB |
| 5 (9 DAC) | 5,35±0,03 aA | 5,26±0,04 aA | 5,26±0,02 aA | 5,32±0,03 aA | 5,28±0,02 aA |
| 6 (10 DAC) | 5,19±0,04 aB | 5,17±0,02 aA | 5,19±0,04 aAB | 5,13±0,05 aAB | 5,17±0,01 aA |

DAC (dias após a colheita). O valor após a média indica o erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas distintas nas linhas e maiúsculas nas colunas indicam médias diferentes pelo teste de Bonferroni (p<0,05).

A variável *ratio* é obtida a partir da relação entre sólidos solúveis e acidez titulável (SS/AT). Com base nos resultados pode-se notar que quando analisada a variável, dentro de cada intervalo de tempo, não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos (Figura 18).

Entretanto, quando analisada a variável de um mesmo tratamento dentro dos diferentes intervalos de tempo houve diferença estatística significativa para todos os tratamentos, visto que os frutos aumentaram gradualmente o *ratio* ao longo dos dias (Figura 18).

O sabor agradável dos frutos é garantido pelo equilíbrio entre as proporções de açúcares e a quantidade de ácidos orgânicos (BERBARI et al., 1998). Quanto maior a relação SS/AT, maior será o equilíbrio entre o doce e o ácido, o que torna os frutos mais atrativos para consumo (SCHNEIDER et al., 2013).

Outros trabalhos com agentes de controle biológico com frutos de maçã, pêra e pêsego mantidos em temperatura de 20 °C demonstram que tais agentes não causaram alterações nos parâmetros de qualidade pós-colheita, dentre os parâmetros encontram-se os sólidos solúveis totais (SST) e a acidez titulável (AT) que compõem o *ratio* (ZHANG et al., 2007; 2008; 2009).

Alvindia (2013) também evidenciou com seus resultados que o processo de maturação de frutos banana não foram afetados pelo uso de *Trichoderma* spp. combinado com bicarbonato

de sódio, sendo mantida a qualidade geral dos frutos.

De maneira geral dois tratamentos apresentaram um maior número de diferenças nas características físico-químicas, são eles o tratamento com *B. subtilis* que apresentou maiores valores nas variáveis luminosidade, ângulo hue, sólidos solúveis e pH e menor valor de firmeza. E o tratamento tiabendazol que apresentou menores valores para as variáveis luminosidade, ângulo hue e sólidos solúveis.

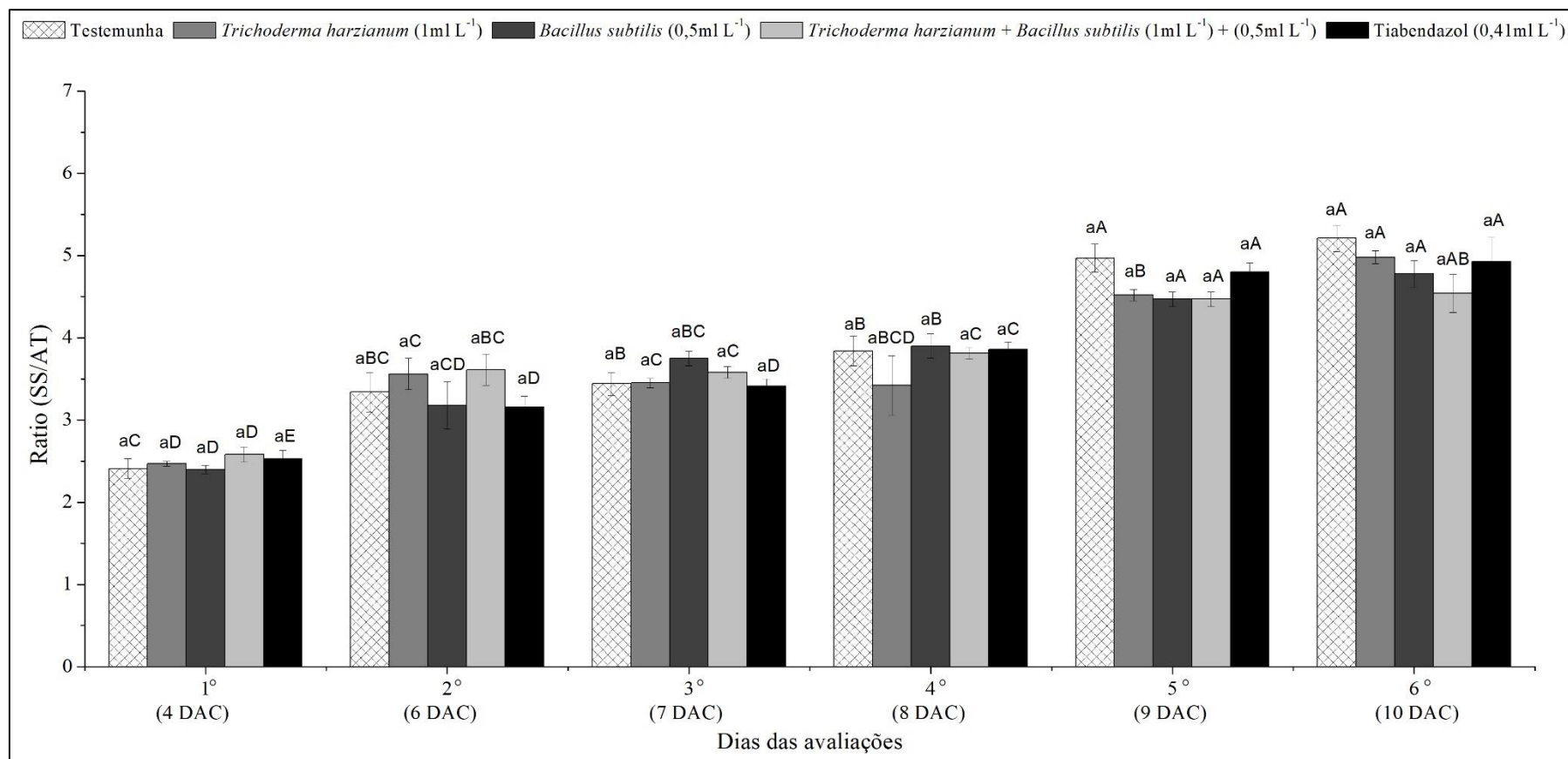


Figura 18. Ratio aos 4, 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a colheita (DAC), em frutos de banana ‘Nanicão’, tratadas com diferentes agentes de controle biológico em pós-colheita. Barras indicam erro padrão da média (n = 16). Letras minúsculas comparam os tratamentos no mesmo tempo. Letras maiúsculas comparam o mesmo tratamento nos tempos. Letras distintas, diferem pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Unicentro, Guarapuava/PR. Fonte: VIENCZ, 2018.

5.6 Análise sensorial

Para melhorar a interpretação dos resultados foi realizada a Análise de Componentes Principais (ACP), afim de determinar a distribuição espacial dos tratamentos em um espaço de dimensão menor e a relação das amostras com os atributos em cada um dos tratamentos.

A partir desta análise foi possível verificar e classificar os tratamentos aplicados em frutos de banana na pós-colheita sobre os 10 diferentes atributos que explicaram os agrupamentos adequadamente, com base nos vetores e clusters (Figuras 19 e 20). Além desta análise, foram cheçadas as correlações entre as variáveis, por meio da matriz de correlação de Pearson.

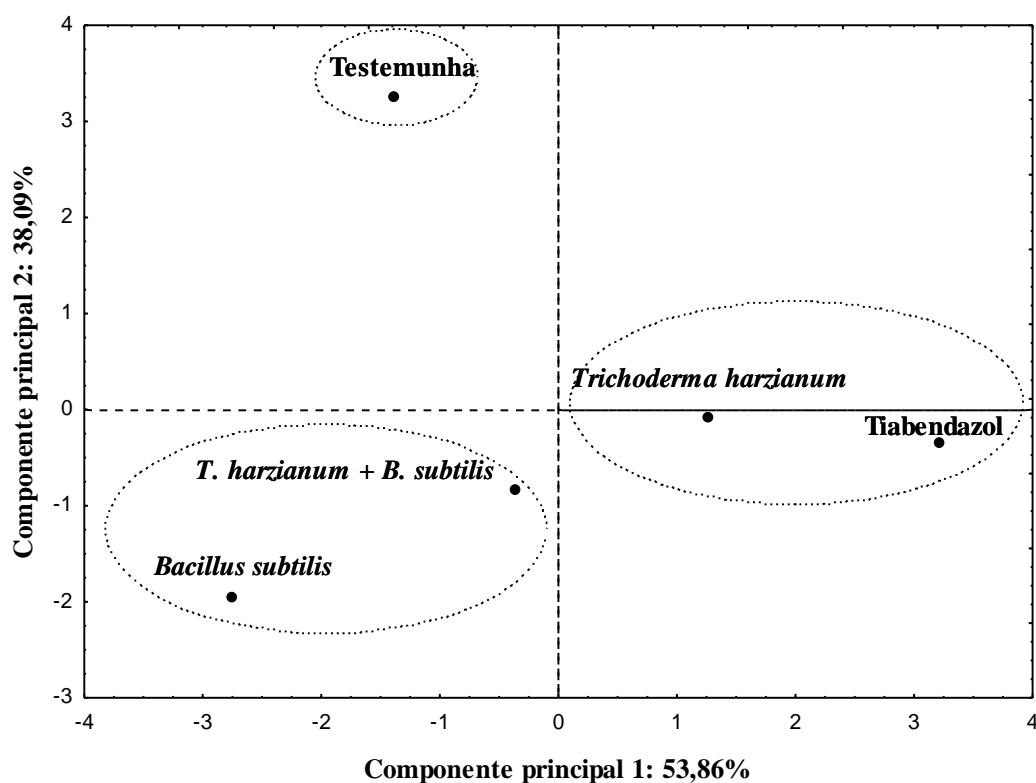


Figura 19. Análise de Componentes Principais (ACP), tratamentos em frutos de banana na pós-colheita sobre diferentes variáveis. Unicentro, Guarapuava/PR, 2019.

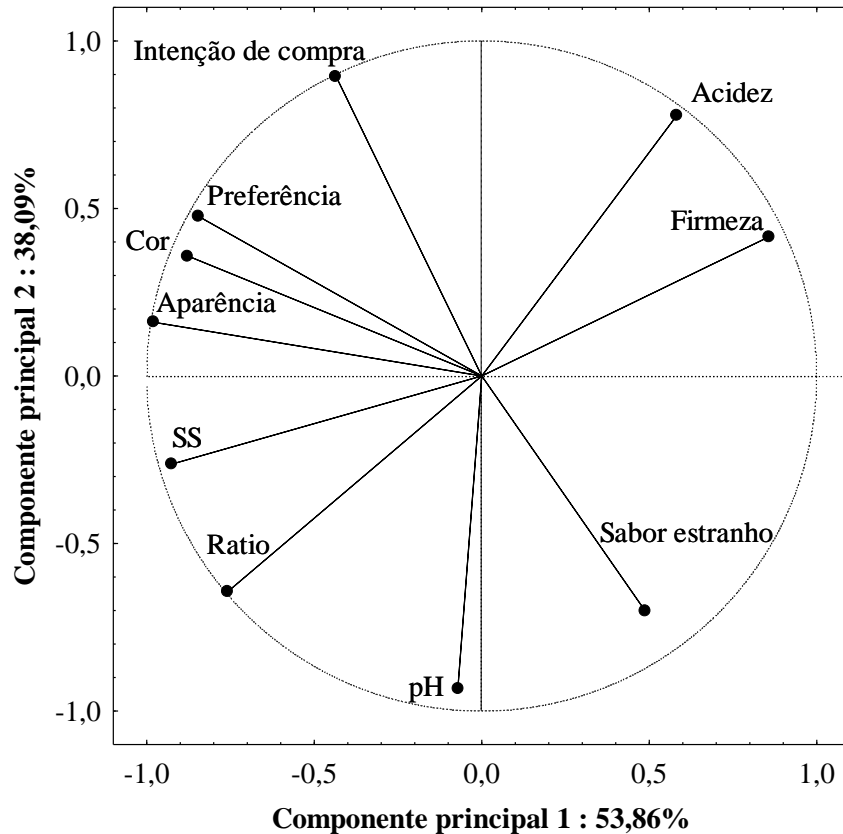


Figura 20. Análise de Componentes Principais (ACP), tratamentos em frutos de banana na pós-colheita sobre diferentes variáveis. Unicentro, Guarapuava/PR, 2019.

Com base na ACP, composta por duas componentes principais (PC1 e PC2) foi possível verificar 91,94% da variância dos dados, ou seja, aproximadamente 92% da variabilidade dos dados pode ser explicada por este modelo, detectando as diferenças entre os cinco tratamentos e as variáveis avaliadas.

É possível observar que a análise de ACP separou os cinco tratamentos em três grupos diferentes, demonstrando que houve diferença entre os tratamentos, dado pelas suas posições distintas. O tratamento testemunha, localizado no quadrante II (Figura 19) apresentou como principais características, que o levou a estar nesta posição, maiores valores em quatro dos 10 atributos analisados quando comparado aos demais tratamentos pela ACP, dentre eles: intenção de compra, preferência, cor e aparência. Em contrapartida, apresentou os menores valores para a variável sabor estranho (Figura 20).

Este resultado também pôde ser observado na matriz de correlação, onde a variável sabor estranho foi inversamente proporcional às variáveis intenção de compra (-0,792) e preferência (-0,830) (Tabela 12).

Tabela 12. Matriz de correlação das variáveis físico-químicas e sensoriais em frutos de banana ‘Nanicão’ tratadas na pós-colheita com diferentes produtos. Guarapuava/ PR, 2019.

| | Aparência | Cor | Sabor estranho | Preferência | Intenção de compra | Firmeza | Acidez | pH | Sólidos solúveis | Ratio |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------|---------------------|------------------|-------|
| Aparência | 1,000 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cor | 0,891* | 1,000 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sabor estranho | -0,625 ^{ns} | -0,525 ^{ns} | 1,000 | - | - | - | - | - | - | - |
| Preferência | 0,933* | 0,849* | -0,830* | 1,000 | - | - | - | - | - | - |
| Intenção de compra | 0,569 ^{ns} | 0,724* | -0,792* | 0,790* | 1,000 | - | - | - | - | - |
| Firmeza | -0,745* | -0,701* | -0,023 ^{ns} | -0,462 ^{ns} | -0,022 ^{ns} | 1,000 | - | - | - | - |
| Acidez | -0,468 ^{ns} | -0,205 ^{ns} | -0,257 ^{ns} | -0,164 ^{ns} | 0,431 ^{ns} | 0,793* | 1,000 | - | - | - |
| pH | -0,058 ^{ns} | -0,376 ^{ns} | 0,439 ^{ns} | -0,330 ^{ns} | -0,836* | -0,348 ^{ns} | -0,771* | 1,000 | - | - |
| Sólidos solúveis | 0,843* | 0,737* | -0,283 ^{ns} | 0,615 ^{ns} | 0,149 ^{ns} | -0,922* | -0,680* | 0,324 ^{ns} | 1,000 | - |
| Ratio | 0,651 ^{ns} | 0,411 ^{ns} | 0,053 ^{ns} | 0,357 ^{ns} | -0,247 ^{ns} | -0,893* | -0,962* | 0,675* | 0,852* | 1,000 |

*Valores significativos a 5% de probabilidade pelo teste de correlação de Pearson.

Entretanto quando observado os resultados obtidos pelo teste de Tukey, não houve diferença entre a testemunha e os demais tratamentos para as variáveis intenção de compra (5,47) e preferência (7,33), mas ela apresentou os maiores valores médios nas duas variáveis. Para a variável sabor estranho, a testemunha apresentou a menor média (1,83), também sem diferir estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 13). As únicas diferenças observadas foram na variável cor e aparência, onde a testemunha obteve as maiores médias e se diferiu dos frutos tratados com tiabendazol (Tabela 13).

Tabela 13. Comparação das médias das variáveis físico-químicas e sensoriais em frutos de banana ‘Nanicão’ tratadas na pós-colheita com diferentes produtos.

| Variáveis | Testemunha | <i>Trichoderma harzianum</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> | Tiabendazol |
|---------------------------|--------------|------------------------------|--------------------------|---|--------------|
| Aparência | 4,30±0,23 a | 3,75±0,07 ab | 4,36±0,23 a | 4,02±0,12 ab | 3,55±0,11 b |
| Aroma | 3,63±0,21 a | 3,66±0,12 a | 3,36±0,12 a | 3,86±0,15 a | 3,58±0,23 a |
| Intenção de compra | 5,47±0,20 a | 5,13±0,43 a | 5,11±0,24 a | 5,16±0,36 a | 5,05±0,52 a |
| Cor | 4,47±0,13 a | 4,08±0,12 ab | 4,27±0,17 a | 4,22±0,14 ab | 3,58±0,23 b |
| Sabor doce | 3,86±0,07 a | 3,61±0,16 a | 3,80±0,10 a | 3,97±0,24 a | 3,69±0,20 a |
| Sabor estranho | 1,83±0,18 a | 2,02±0,19 a | 1,94±0,26 a | 2,05±0,18 a | 2,00±0,30 a |
| Preferência | 7,33±0,12 a | 6,91±0,15 a | 7,19±0,22 a | 7,05±0,43 a | 6,88±0,17 a |
| Textura | 4,19±0,12 a | 4,05±0,19 a | 3,94±0,21 a | 4,25±0,17 a | 4,08±0,20 a |
| Acidez | 0,47±0,01 a | 0,46±0,01 a | 0,43±0,01 a | 0,44±0,00 a | 0,46±0,01 a |
| Firmeza | 4,58±0,32 ab | 4,15±0,38 ab | 2,92±0,24 b | 3,51±0,43 b | 5,45±0,56 a |
| Perda de massa | 0,99±0,07 a | 1,00±0,06 a | 1,15±0,09 a | 1,15±0,02 a | 1,01±0,04 a |
| pH | 4,85±0,02 a | 4,95±0,03 a | 5,04±0,01 a | 4,96±0,06 a | 4,99±0,03 a |
| Ratio | 3,44±0,23 a | 3,45±0,07 a | 3,75±0,10 a | 3,58±0,08 a | 3,41±0,10 a |
| SS | 23,76±0,64 a | 23,55±0,46 a | 24,05±0,23 a | 23,55±0,29 a | 23,12±0,08 a |
| Luminosidade | 60,50±1,45 a | 59,51±0,98 a | 60,26±0,38 a | 57,79±1,55 a | 58,48±1,22 a |
| Hue | 87,86±1,25 a | 86,29±0,57 a | 86,08±0,27 a | 84,28±1,49 a | 84,17±0,56 a |
| Croma | 38,39±2,90 a | 37,81±0,98 a | 37,07±1,25 a | 34,48±1,86 a | 35,15±1,42 a |

O valor após a média indica o erro padrão da média (n=16). Letras distintas indicam médias diferentes pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados contrastantes aos observados neste estudo, foram verificados no trabalho de Anjos et al. (2015), em que os frutos testemunha foram aqueles que apresentaram pior aparência e intenção de compra quando comparados aos demais tratamentos, inclusive quando comparado a tratamentos com agentes de biocontrole.

A partir da matriz de correlação também foi possível observar as correlações positivas entre preferência e intenção de compra. A variável cor também apresentou correlação com os atributos preferência e intenção de compra, e a variável aparência apresentou correlação com a cor e a preferência (Tabela 12).

Com base nos resultados foi possível observar que a preferência dos consumidores e a sua intenção de compra em relação ao produto, podem ser influenciadas principalmente pelos atributos de aparência e cor dos frutos, obtidos a partir do sentido da visão, além da presença de sabor estranho ao paladar.

A aparência da fruta é fortemente influenciada pela cor, que durante o processo de amadurecimento sofre alterações nos atributos físicos e químicos da fruta, principalmente a degradação da clorofila e a síntese de outros pigmentos, que causam modificações na cor, como a pigmentação amarela da casca (CHITARRA; CHITARRA, 2005; WALL, 2006).

Ao contrário do tratamento testemunha os tratamentos com *Trichoderma harzianum* e tiabendazol agrupados no quadrante IV, foram aqueles que apresentaram maiores valores para a variável sabor estranho e os menores valores para as variáveis intenção de compra, preferência, cor e aparência observado na ACP (Figura 20). Corroborando com os resultados obtidos na matriz de correlação, em que o sabor estranho foi inversamente proporcional à preferência e a intenção de compra (Tabela 12).

Em estudo realizado por Mattos (2010) não foi verificado sabor diferente em suco de laranjas tratadas com antagonistas na pós-colheita, aspecto considerado importante, pois demonstra que os agentes de biocontrole não influenciaram essa característica sensorial.

Mesmo que distribuídos no mesmo quadrante, os tratamentos com *Trichoderma harzianum* e tiabendazol apresentaram valores diferentes nos atributos sabor estranho, preferência, cor, intenção de compra e aparência, que pode ser observado na ACP pela posição diferente dos vetores no gráfico (Figura 20). Entretanto pelo teste de Tukey, não houve diferença entre *Trichoderma harzianum* e tiabendazol, apesar dos valores médios para os atributos serem diferentes (Tabela 13).

No quadrante III, estão alocados os tratamentos *Bacillus subtilis* e *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* devido ao posicionamento dos vetores, indicando maiores índices de sólidos solúveis, ratio, e pH, e menores valores para acidez e firmeza, observados pela ACP (Figura 20). Valores estes que podem ser confirmados pelas correlações inversamente proporcionais entre firmeza e as variáveis sólidos solúveis e ratio. E também pela variável

acidez inversamente proporcional as variáveis sólidos solúveis, ratio e pH. Além das relações inversamente proporcionais destacam-se as correlações positivas entre a firmeza e a variável acidez. E entre sólidos solúveis e ratio, e pH e ratio.

Mesmo que distribuídos no mesmo quadrante, os tratamentos com *Bacillus subtilis* e *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis*, apresentaram diferenças de valores nos atributos firmeza, acidez, sólidos solúveis, pH e ratio, que pode ser observado na ACP pela posição diferente dos vetores no gráfico (Figura 20). Entretanto pelo teste de Tukey, apesar dos valores médios para os atributos serem diferentes não houve diferença estatística significativa entre os dois tratamentos (Tabela 13).

A banana verde é um fruto rico em amido e durante o processo de amadurecimento este amido é convertido em açúcares aumentando o teor de sólidos solúveis na polpa, afim de garantir o sabor desejado (MOHAPATRA et al., 2010; MOSCATELLO et al., 2011). Também ocorre aumento na acidez devido ao acúmulo de ácidos orgânicos, com predominância do ácido málico, para então decrescer (MATSUURA; FOLEGATTI, 2001), e consequente decréscimo no pH na polpa (DADZIE; ORCHARD, 1997). Além de mudanças na textura, devido ao amaciamento da polpa em decorrência da solubilização das pectinas, reduzindo a firmeza do fruto (TRINDADE et al., 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Além do processo natural de maturação que leva a perda de firmeza, assim como ocorre no processo de perda de massa, a presença de micro-organismos nos tecidos tem a capacidade de estimular a senescência dos frutos, aumentando a atividade respiratória (NEGREIROS et al., 2013).

Diante do exposto, sensorialmente o tratamento que merece destaque são os frutos testemunha. Já o tratamento com *Bacillus subtilis* apesar de garantir o processo de maturação dos frutos, evidenciado pelas características físico-químicas, sensorialmente apresentou resultado inferior para as variáveis sensoriais.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No controle do crescimento micelial de *C. musae*, os tratamentos *T. harzianum*, *B. subtilis* e tiabendazol foram eficientes com 100% de inibição do fitopatógeno em condições *in vitro*.

O patógeno *C. musae* necessita de nutrientes para o processo de germinação, por esse motivo os tratamentos com os antagonistas *T. harzianum* e *B. subtilis* apresentaram maior germinação de esporos do fungo *in vitro*, visto que para manterem viáveis esses agentes de biocontrole os produtos comerciais apresentam tais substâncias em sua composição, conhecidas como substâncias inertes. Além disso, sob condições de estresse e competição o patógeno *C. musae* sofre estímulos para germinar e perpetuar a espécie.

Nos testes *in vivo* apesar de que nenhum tratamento foi capaz de conter o aparecimento de antracnose nos frutos, o tratamento *T. harzianum* reduziu a severidade da doença em 48% quando comparado a testemunha inoculada.

Quando analisada a atividade da enzima peroxidase e peroxidação lipídica, o comportamento dos tratamentos foi muito variável, não sendo possível afirmar o que houve com os frutos, entretanto uma suposição é que o sistema antioxidativo não foi capaz de controlar os danos causados pelas EROs.

Ao analisar a variável perda de massa nenhum dos tratamentos se destacou garantindo menor perda de massa aos frutos tratados na pós-colheita ao longo das seis avaliações. Para as variáveis de cor foram detectadas diferenças de luminosidade e ângulo hue com maiores valores para *B. subtilis* e menores valores para tiabendazol, entretanto ao analisar a variação de cor não houve diferença entre os dois tratamentos.

Em relação a firmeza de polpa os frutos tratados com agentes de biocontrole *B. subtilis* e *T. harzianum* + *B. subtilis* foram influenciados por estes micro-organismos, apresentando-se mais moles ao longo do armazenamento, entretanto nenhum dos demais tratamentos foi capaz de manter a firmeza dos frutos. A acidez titulável sofreu redução ao longo dos dias de armazenamento para todos os tratamentos, e conseqüentemente o valor do pH aumentou.

Os frutos aumentaram o teor de sólidos solúveis ao longo do armazenamento, e os tratamentos *B. subtilis* e tiabendazol, apresentaram o maior e menor valor, respectivamente, para essa variável no 3º dia de avaliação. Para a relação SS/AT houve aumento gradual dessa variável ao longo dos dias de armazenamento, entretanto nenhum dos tratamentos merece destaque nesse quesito.

Os frutos tratados com *B. subtilis* e tiabendazol apresentaram um maior número de diferenças nas características físico-químicas quando comparados aos demais tratamentos, e apesar de *B. subtilis* apresentar maiores valores para essas variáveis, quando realizada a análise sensorial seu resultado foi inferior nos atributos sensoriais quando comparado ao tratamento testemunha, que foi o melhor tratamento.

Visto que seria interessante obter um tratamento efetivo no controle de podridões causadas por *Colletotrichum musae*, mas que ao mesmo tempo não proporcione sabor indesejável ao produto, nenhum dos tratamentos com agentes de biocontrole apresentou essa combinação de efeitos.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados nas condições deste experimento, a aplicação de *T. harzianum* em frutos de banana ‘Nanicão’ foi eficiente no controle da severidade de podridões causadas por *Colletotrichum musae*, entretanto o tratamento com o agente biológico *B. subtilis* não foi eficiente neste processo. No sistema antioxidativo não foram observados efeitos significativos para ambos os agentes biológicos. E na qualidade pós-colheita os tratamentos com agentes de biocontrole não apresentaram efeito satisfatório.

8. REFERÊNCIAS

- ABANO, E. E.; SAM-AMOA, L. K. Application of antagonistic microorganisms for the control of postharvest decays in fruits and vegetables. **International Journal of Advanced Biological Research**, v. 2, p. 1-8, 2012.
- ABDEL-RAHIM, I. R.; ABO-ELYOUSR, K. A. M. Using of endophytic *Saccharomycopsis fibuligera* and thyme oil for management of gray mold rot of guava fruits. **Biological Control**, v. 110, p. 124–131, jul. 2017.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Academic Press, 2005. 952 p.
- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 10 set. 2018.
- AHMED, Z. F. R.; PALTA, J. P. Postharvest dip treatment with a natural lysophospholipid plus soy lecithin extended the shelf life of banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 113, p. 58–65, mar. 2016.
- ALEMU, K. Importance and pathogen spectrum of crown rot of banana in Jimma Town, Southwestern Ethiopia. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 4, p. 106–111, 2014.
- ALVES, E. J.; OLIVEIRA, M. A.; DANTAS, J. L. L.; OLIVEIRA, S. L. Exigências climáticas. In: ALVES, E.J. **A cultura da banana: Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais**. Brasília: Embrapa, 1999, p. 35-46.
- ALVINDIA, D. G. Sodium bicarbonate enhances efficacy of *Trichoderma harzianum* DGA01 in controlling crown rot of banana. **Journal of General Plant Pathology**, v. 79, n. 2, p. 136–144, mar. 2013.
- ALVINDIA, D. G. The Antagonistic Action of *Trichoderma harzianum* Strain DGA01 against anthracnose causing pathogen in mango cv. ‘Carabao’. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 6, p. 591–602, 3 jun. 2018.
- AMARO, J. K. C.; VIEIRA, B. S.; SOUZA, L. A. Biological control of *Colletotrichum gloeosporioides* in pepper with isolates of *Bacillus subtilis*. **Brazilian Journal of Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 195–209, 2018.
- ANJOS, V. D. de A.; TERAPO, D.; VIECELLI, M. P.; SILVA, A. M. **Aspectos qualitativos de laranja pêra submetida a tratamento alternativo na pós-colheita para controle de podridão**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PROCESSAMENTO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 4., 2015, Búzios. Qualidade de vida, tecnologia e inovação do campo a mesa: anais... Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Processamento de Frutas e Hortaliças (SBPFH), 2015. 7 p.
- ANTONIOLLI, L. R.; SILVA, G. A. da; ALVES, S. A. M.; MORO, L. Controle alternativo de

podridões pós-colheita de framboesas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 9, p. 979–984, set. 2011.

ARA, I.; RIZWANA, H.; AL-OTHMAN, M.R.; BAKIR, M.A. Studies of actinomycetes for biological control of *Colletotrichum musae* pathogen during post harvest anthracnose of banana. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 17, p. 3879-3886, maio. 2012.

ARORA, A.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Oxidative stress and antioxidant system in plants. **Current Science**, v. 82, n. 10, p. 1227-1238, 2002.

ARX, J. A. von. Die Arten der Gattung *Colletotrichum*. **Phytopathologische Zeitschrift**, v. 29, n. 4, p. 413-468, 1957.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993.

BAKER, R. Mycoparasitism: ecology and physiology. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 9, n. 4, p. 370–379, dez. 1987.

BALBI-PEÑA, M. I.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Oxidative burst and the activity of defense-related enzymes in compatible and incompatible tomato *Alternaria solani* interactions. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 2399, 5 nov. 2014.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113–123, fev. 2006.

BAZIE, S.; AYALEW, A.; WOLDETSADIK, K. Integrated management of postharvest banana anthracnose (*Colletotrichum musae*) through plant extracts and hot water treatment. **Crop Protection**, v. 66, p. 14–18, dez. 2014.

BEDENDO, I. P. et al. Controles cultural, físico e biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2011. p. 451- 458.

BENÍTEZ, T.; RINCÓN, A.; LIMÓN, M. C.; C. CODÓN, A. Mecanismos de biocontrole de cepas de *Trichoderma*. **International Microbioly**, v. 7, n. 4, p. 249-260, 2004.

BERBARI, S. A. G.; NOGUEIRA, J. N.; CAMPOS, S. D. da S. Efeito de diferentes tratamentos pré-congelamento sobre a qualidade do morango Var. Chandler congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, abr. 1998.

BETINA, V.; FARKAS, V. Sporulation and light-induced development in *Trichoderma*. In: KUBICEK, P.; HARMAN, G. E. ***Trichoderma and Gliocladium: basic biology, taxonomy and genetics***. London: Taylor e Francis, v. 1, 1998. p. 3-34.

BETTIOL, W et al. **Produtos comerciais à base de agentes de biocontrole de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2012. 155 p.

BHUTIA, D. D.; ZHIMO, Y.; KOLE, R.; SAHA, J. Antifungal activity of plant extracts against *Colletotrichum Musae*, the postharvest anthracnose pathogen of banana cv. Martaman. **Nutrition & Food Science**, v. 46, n. 1, p. 2–15, 8 fev. 2016.

BLEINROTH, E. W. et al. **Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais**. Campinas: ITAL, 1992. 203 p.

BONETT, L. P.; HURMANN, E. M. de S.; POZZA JÚNIOR, M. C.; ROSA, T. B.; SOARES, J. L. Biocontrole *in vitro* de *Colletotrichum musae* por isolados de *Trichoderma* spp. **Uniciências**, v. 17, p. 5-10, 2013.

BORDBAR, F.; ETEBARIAN, H.; SAHEBANI, N.; ROHANI, H. Control of postharvest decay of apple fruit with *Trichoderma Virens* isolates and induction of defense responses. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 2, 1 jan. 2010.

BORGES, A. L. et al. **Sistema de produção da bananeira irrigada**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2009. 116 p.

BOTREL, N.; SILVA, O. F.; BITTENCOURT, A. M. Procedimentos Pós-colheita. In: **Banana pós-colheita**. Brasília: Embrapa/SPI, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, maio 1976.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de análises de resíduos de agrotóxicos em alimentos 2011 (PARA)**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/219201/2782895/Relatório+PARA+Versão+Final/1230de7d-306d-4249-a62c-a68708fab153>>. Acesso em: 10 set. 2018.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. **Cadeia produtiva de frutas**. Brasília: IICA/MAPA/SPA, 2007. 102 p.

CAMPANILE, G.; RUSCELLI, A.; LUISI, N. Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by *in vitro* and en plant tests. **European Journal of Plant Pathology**, p. 117, 2007.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990. 532 p.

CAMPOS, R. P.; VALENTE, J. P.; PEREIRA, W. E. Conservação pós-colheita de banana cv. nanicao climatizada e comercializada em Cuiabá - MT e região. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, p. 172–174, abr. 2003.

CANO, M. P.; DE ANCOS, B.; MATAALLANA, M. C.; CÁMARA, M.; REGLERO, G.; TABERA, J. Differences among spanish and latin-american banana cultivars: Morphological, chemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 411–419, jul. 1997.

CARVALHO, R. V.; ASCHERI, J. L. R.; CAL-VIDAL, J. Efeito dos parâmetros de extrusão nas propriedades físicas de extrusados de misturas de farinhas de trigo, arroz e banana. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 5, p.1006-1018. 2002.

CASALS, C.; ELMER, P. A. G.; VIÑAS, I.; TEIXIDÓ, N.; SISQUELLA, M.; USALL, J. The combination of curing with either chitosan or *Bacillus subtilis* CPA-8 to control brown rot infections caused by *Monilinia Fructicola*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 64, n. 1, p. 126–132, fev. 2012.

CELOTO, M. I. B. **Atividade antifúngica de extratos de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) sobre *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis)** Arx. 2005. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira/SP, 2005.

CHARLES, S. A.; HALLIWELL, B. Light Activation of fructose bisphosphatase in isolated spinach chloroplasts and deactivation by hydrogen peroxide: A physiological role for the thioredoxin system. **Planta**, v. 151, n. 3, p. 242–246, mar. 1981.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1993, 81 p.

CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Manejo pós-colheita e amadurecimento comercial de banana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.19. n. 6, p. 761-771. 1984.

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

CHITARRA, M. I. F. **Tecnologia e qualidade pós-colheita de frutos e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 68 p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

COELHO, A. R.; HOFFMANN, F. L.; HIROOKA, E. Y. Biocontrole de doenças pós-colheita de frutas por leveduras: perspectivas de aplicação e segurança alimentar. **Semina**, v. 24, n. 2, p. 337-358, jul./dez. 2003.

COELHO, A. F. S.; DIAS, M. S. de C.; RODRIGUES, M. L. M.; LEAL, P. A. M. Controle pós-colheita da antracnose da banana prata anã tratada com fungicidas e mantida sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 1004-1008, jul./ago. 2010.

COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉCLAIRAGE CIE 31: **Glare and Uniformity in Road Lighting Installations**. 1976

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Indicadores da Agropecuária**. Brasília: Conab, 2018. 114 p.

CORDEIRO, Z. J. M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.) In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia – Doenças de Plantas Cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica

Ceres, 1997, v. 2, p.112-136.

CORDEIRO, Z. J. M. **Banana. Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 143 p.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. In: KIMATI, H. AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 99-117.

COSTEL, E.; DURAN, L. El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos. IV. Reaización y análisis de los datos. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 1-21, mar. 1982

COUTO, E. F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 406–412, ago. 2004.

DADZIE, B. K.; ORCHARD, J. E. **Evaluación rutinaria postcosecha de híbridos de bananos y plátanos: critérios y métodos**. Roma: IPGRI, 1997. 63 p.

DANTAS, J. L. L.; SOARES FILHO, W. S. Classificação botânica, origem e evolução da bananeira. In: ALVES, E. J; DANTAS, J. L. L. **Banana para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: Embrapa, 1995. p. 9-13.

DHINDSA, R. S.; PLUMB-DHINDSA, P.; THORPE, T. A. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. **Journal of Experimental Botany**, v. 32, n. 1, p. 93–101, 1981.

DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. Superoxide dismutase activities in senescing apple fruit (*Malus Domestica Borkh.*). **Journal of Food Science**, v. 59, n. 3, p. 581–584, maio 1994.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A cultura da banana**. 3. ed. rev. e amp. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 110 p.

FAO - Food and Agricultural Organization. **FAOSTAT: Banco de dados de estatísticas**, 2016. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em: 10 set. 2018.

FARZANEH, M.; KIANI, H.; SHARIFI, R.; REISI, M.; HADIAN, J. Chemical composition and antifungal effects of three species of Satureja (*S. hortensis*, *S. spicigera*, and *S. khuzistanica*) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 109, p. 145–151, nov. 2015.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109–112, abr. 2014.

FIGUEIREDO, D. V.; BRIOSO, P. S. T. PCR multiplex para a detecção de BSV e CMV em bananeiras micropropagadas. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 229–232, set. 2007.

FIGUEIREDO, Y.; ALTOÉ, L.; GONÇALVES, L.; RODRIGUEZ, G.; SILVA, M. Controle alternativo de *Colletotrichum musae* com extrato de mil folhas. **Revista Fitos**, v. 11, n. 2, p. 119-249, 2017.

FIORAVANÇO, J. C. Mercado mundial da banana: produção, comércio e participação brasileira. **Informações Econômicas**, v.33, n.10, out. 2003.

FOYER, C. H.; LOPEZ-DELGADO, H.; DAT, J. F.; SCOTT, I. M. Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. **Physiologia Plantarum**, v. 100, n. 2, p. 241–254, jun. 1997.

FREITAS, S. S.; PIZZINATTO, M. A. Ação de rizobactérias sobre a incidência de *Colletotrichum gossypii* e promoção de crescimento de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*). **Summa Phytopathologica**, v. 23, p. 36-41, 1997.

GEORGIEVA, N. V. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems – a review. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2005.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, dez. 2010.

GILL, S. S.; KHAN, N. A.; ANJUM, N. A.; TUTEJA, N. Amelioration of cadmium stress in crop plants by nutrients management: morphological, physiological and biochemical aspects. **Plant Stress**, Special Issue 1, p. 1–23. 2011.

GOOS, R. D.; TSCHIRSCH, M. Effect of environmental factors on spore germination, spore survival, and growth of *Gloeosporium musarum*. **Mycologia**, v.54, p.353-367, 1962.

GUERRA, I. C. D.; DE OLIVEIRA, P. D. L.; DE SOUZA PONTES, A. L.; LÚCIO, A. S. S. C.; TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MADRUGA, M. S.; DE SOUZA, E. L. Coatings comprising chitosan and mentha piperita L. or mentha villosa huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 214, p. 168–178, dez. 2015.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 312–322, 1 jun. 2006.

HARWOOD, C.R. *Bacillus*. New York: Plenum press, 1989. p 29–38.

HOWELL, C. R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. **Plant Disease**, v. 87, n. 1, p. 4–10, jan. 2003.

HUANG, H.; JING, G.; WANG, H.; DUAN, X.; QU, H.; JIANG, Y. The combined effects of phenylurea and gibberellins on quality maintenance and shelf life extension of banana fruit during storage. **Scientia Horticulturae**, v. 167, p. 36–42, mar. 2014.

IAL - INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4 ed. 1 ed. digital. São Paulo, 2008.

IAPAR – Instituto Agrônomo do Paraná. **Cartas climáticas do Paraná**. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>. Acesso em: 10 set. 2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Agropecuária, jan. 2018. Relatório de pesquisa.

IMSABAI, W.; KETSA, S.; VAN DOORN, W. G. Physiological and biochemical changes during banana ripening and finger drop. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, n. 2, p. 211–216, fev. 2006.

JEGER, M. J.; EDEN-GREEN S.; THRESH J. M.; JOHANSON A.; WALLER J. M.; BROWN A. E. Banana disease. In: GOWEN, S. **Bananas and plantains**. London: Chapman & Hall, 1995. p.317-381.

KARKACHI, N. E.; GHARBI, S.; KIHAL, M.; HENNI, J. E. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolated from Algerian tomato by *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens* and *Trichoderma harzianum*. **Research Journal of Agronomy**, v. 4, n. 2, p. 31–34, 1 fev. 2010.

KIM, T. G.; KNUDSEN, G. R. Relationship between the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* and the phytopathogenic fungus *Fusarium Solani* f. sp. *Pisi*. **Applied Soil Ecology**, v. 68, p. 57–60, jun. 2013.

KIRK, P.; CANNON, P.; DAVID, J.; STALPERS, J. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi**. [s.l: s.n.], 2001.

KIST, B. B et al. **Anuário Brasileiro da Fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018. 88 p.

KONICA MINOLTA SENSING Inc. **Comunicação precisa da cor**. 1998. 57p.

KÖPPEN, W. **Climatologia: com um estudo de los climas de La tierra**. México: Fondo de Cultura Econômica, 1948. 478 p.

KRAUSS, U.; BIDWELL, R.; INCE, J. Isolation and preliminary evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of crown rot of banana. **Biological Control**, v. 13, n. 2, p. 111–119, out. 1998.

KUMAR, D. P.; THENMOZHI, R.; ANUPAMA, P. D.; NAGASATHYA, A.; THAJUDDIN, N.; PANEERSELV, A. Selection of potential antagonistic *Bacillus* and *Trichoderma* isolates

from tomato rhizospheric soil against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 2, n. 1, p. 78-89, 2012.

KUPPER, K. C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 251–257, jun. 2003.

LANDERO VALENZUELA, N.; NIETO ANGEL, D.; TÉLIZ ORTIZ, D.; ALATORRE ROSAS, R.; FREDY ORTÍZ GARCÍA, C.; OROZCO SANTOS, M. Biological Control of Anthracnose by Postharvest Application of Trichoderma Spp. on Maradol Papaya Fruit. **Biological Control**, v. 91, p. 88–93, dez. 2015.

LANNA FILHO, R. L.; FERRO, H. M.; DE PINHO, R. S. C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 2, 2010.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium Digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, n. 1, p. 113–121, abr. 2008.

LICHTEMBERG, L. A.; LICHTEMBERG, P. dos S. F. Avanços na bananicultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. spe1, p. 29–36, out. 2011.

LIMA, M. B.; SILVA, S. de O. e.; FERREIRA, C. F. 2. ed. rev. e ampl. **Banana: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2012. 214 p.

LIU, J.; SUI, Y.; WISNIEWSKI, M.; DROBY, S.; LIU, Y. Review: Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, n. 2, p. 153–160, out. 2013.

LORITO, M.; WOO, S. L.; HARMAN, G. E.; MONTE, E. Translational research on *Trichoderma*: from Omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, n. 1, p. 395–417, jul. 2010.

LU, L.; LU, H.; WU, C.; FANG, W.; YU, C.; YE, C.; SHI, Y.; YU, T.; ZHENG, X. *Rhodosporidium paludigenum* induces resistance and defense-related responses against *Penicillium digitatum* in citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, p. 196–202, nov. 2013.

LUCON, C. M. M. **Promoção de crescimento de plantas com o uso de *Trichoderma* spp.** 2009. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/trichoderma/index.htm>. Acesso em: 28 dez. 2018.

LUCON, C.M.M. ***Trichoderma* no controle de doenças causadas por patógenos de solo**. São Paulo: Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal, 2008.

MAFIA, R. G.; ALFENAS A. C.; LOOS, R. A. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre doenças no eucalipto cultura no Brasil. In: GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W.

Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil. São Paulo: Embrapa Meio Ambiente, 2011. cap.12, p. 213-225.

MANICA, I. Principais cultivares e melhoramento. In: **Fruticultura tropical - banana.** Porto Alegre: Cinco Continentes, 1997. p. 66-99.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; RAMACHANDRAN, S.; SMITH, D. R.; ALDERSON, P. G. Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. **Crop Protection**, v. 29, n. 10, p. 1136–1141, out. 2010.

MATÉS, J. M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. **Toxicology**, v. 153, n. 1-3, p. 83-104, 2000.

MATTOS, L. P. V. de. **Controle de *Guignardia citricarpa* e *Penicillium digitatum* em laranja com óleos essenciais e agentes de biocontrole.** 2010. 104 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu/SP, 2010.

MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S. **Banana: pós-colheita.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 71 p.

MEDINA, J. C. **Banana.** Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 1961. 61 p.

MEIR, S.; PHILOSOPH-HADAS, S.; ZAUBERMAN, G.; FUCHS, Y.; AKERMAN, M.; AHARONI, N. Increased formation of fluorescent lipid-peroxidation products in avocado peels precedes other signs of ripening. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 116, p. 823-826, 1991.

MELLO, S. C. M.; ÁVILA, Z. R.; BRAÚNA, L. M.; PÁDUA, R. R.; GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Fitosanidad**, v. 11, n. 1, p.3-9, 2007.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 4, p. 453–467, abr. 2010.

MITTLER, R. ROS Are Good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11–19, jan. 2017.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; SUZUKI, N.; MILLER, G.; TOGNETTI, V. B.; VANDEPOELE, K.; GOLLERY, M.; SHULAEV, V.; VAN BREUSEGEM, F. ROS Signaling: The new wave? **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 6, p. 300–309, jun. 2011.

MOHAPATRA, D.; MISHRA, S.; SINGH, C. B.; JAYAS, D. S. Post-harvest processing of banana: opportunities and challenges. **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 327-339, 2010.

MOLLER, I. M.; JENSEN, P.E.; HANSSON, A. Oxidativo modificações para componentes celulares em plantas. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 459-481, 2007.

- MONDAL, K.; SHARMA, N. S.; MALHOTRA, S. P.; DHAWAN, K.; SINGH, R. Antioxidant systems in ripening tomato fruits. **Biologia Plantarum**, v. 48, n. 1, p. 49–53, 2004.
- MONTEIRO, V. N.; DO NASCIMENTO SILVA, R.; STEINDORFF, A. S.; COSTA, F. T.; NORONHA, E. F.; RICART, C. A. O.; DE SOUSA, M. V.; VAINSTEIN, M. H.; ULHOA, C. J. New insights in *Trichoderma harzianum* antagonism of fungal plant pathogens by secreted protein analysis. **Current Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 298–305, out. 2010.
- MORAES, M. A. C. **Métodos para a avaliação sensorial dos alimentos**. 7. ed. Campinas: Unicamp, 1988. 93 p.
- MORAES, W. da S.; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J. D.; SALOMÃO, L. C. C.; CECOM, P. Quimioterapia de banana “Prata-Anã” no controle de podridões em pós-colheita. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 1, p. 79–84, jan./mar., 2008.
- MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 7-14.
- MOREIRA, R. S. **Banana: teoria e prática de cultivo**. São Paulo: Fundação Cargill, 1999.
- MOREIRA, R. S.; SAES, L.A. **Considerações sobre o banco de germoplasma do IAC**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7., 1984, Florianópolis, SC. Anais... Florianópolis, SC: SBF/ EMPASC, 1984. v.1, p. 220-236.
- MOREIRA, R.S. **Banana: teoria e prática de cultivo**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 335 p.
- MOSCATELLO, S.; FAMIANI, F.; PROIETTI, S.; FARINELLI, D.; BATTISTELLI, A. Sucrose synthase dominates carbohydrate metabolism and relative growth rate in growing kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv Hayward). **Scientia Horticulturae**, v. 128, n. 3, p. 197–205, abr. 2011.
- MOTA, T. M. **Análise do perfil de expressão de genes da família Hsp70 de *Trichoderma asperellum* (TR356) durante o micoparasitismo e estresses abióticos**. 2018. 86 F. Dissertação (Mestrado em Ciências biológicas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO, 2018.
- NASCIMENTO JUNIOR, B. B. do; OZORIO, L. P.; REZENDE, C. M.; SOARES, A. G.; FONSECA, M. J. de O. Diferenças entre bananas de cultivares prata e nanicão ao longo do amadurecimento: características físico-químicas e compostos voláteis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 649–658, set. 2008.
- NAVA, C. **El plátano: su cultivo em Venezuela**. Maracaibo: Astro Data, 1997. 122 p.
- NEGREIROS, R. J. Z. de; SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, O. L.; CECOM, P. R.; SIQUEIRA, D. L. de. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas ‘prata’ com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 51–58, mar. 2013.

NERY-SILVA, F. A.; MACHADO, J. da C.; RESENDE, M. L. V. de; LIMA, L. C. de O. Metodologia de inoculação de fungos causadores da podridão peduncular em mamão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1374–1379, out. 2007.

NGUYEN, T. Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, n. 2, p. 187–193, nov. 2003.

NICHOLSON, W. L.; MUNAKATA, N.; HORNECK, G.; MELOSH, H. J.; SETLOW, P. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. **Microbiology and molecular biology reviews: MMBR**, v. 64, n. 3, p. 548–572, set. 2000.

OLIVEIRA, A. A. R.; SANTOS FILHO, H. P. **Podridão de Rhizopus**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. 2007. 2 p. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMF/24011/1/mamao_26.pdf>. Acesso em: 10 set. 2018.

OLIVEIRA, C. A. de; SOUZA, P. E. de; POZZA, E. A.; PINTO, J. E. B. P.; BARRETTI, P. B. Efeito de variáveis ambientais, épocas e métodos de plantio na intensidade da seca da haste (*Botrytis cinerea*) em *Hibiscus sabdariffa*. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 2, p. 101–106, jun. 2011.

OLIVEIRA, E. S. de; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 340–350, dez. 2016.

ORDENTLICH, A.; WIESMAN, Z.; GOTTLIEB, H. E.; COJOCARU, M.; CHET, I. Inhibitory furanone produced by the biocontrol agent *Trichoderma Harzianum*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 2, p. 485–486, fev. 1992.

PALOU, L.; ALI, A.; FALLIK, E.; ROMANAZZI, G. GRAS, Plant and animal derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of postharvest diseases of fresh horticultural produce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 122, p. 41–52, dez. 2016.

PARISI, M. C. M.; HENRIQUE, C. M.; PRATI, P. Perdas pós-colheita: um gargalo na produção de alimentos. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 9, n. 2, p. 1-5, jul./dez. 2012.

PBMH & PIF – Programa Brasileiro para a Modernização da Horticultura & Produção Integrada de frutas. **Normas de classificação de banana**. São Paulo: CEAGESP, 2006.

PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A. de; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. de H.; SANTOS, A. M. G. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p. 147–151, jun. 2007.

PIMENTEL, R. M. de A.; GUIMARÃES, F. N.; SANTOS, V. M. dos; RESENDE, J. C. F. de. Qualidade pós-colheita dos genótipos de banana PA42-44 e Prata-Anã cultivados no norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 407–413, 7 jun. 2010.

PINHEIRO, A. C. M. **Qualidade pós-colheita de banana ‘maçã’ submetida ao 1-mcp**. 2004. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Lavras/MG, 2004.

PLOETZ, R. C.; THOMAS, J. E.; SLABAUGH, W. R. Diseases of banana and plantain. In: PLOETZ, R. C. **Diseases of tropical fruit crops**. Wallingford: Centre for Agriculture and Biosciences International, 2003. p.73-134.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R.O. **Análise Sensorial para a Avaliação da Qualidade dos Alimentos**. Rio Grande: Editora da FURG, 2006. 268 p.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Version 2.12.1. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2010.

RAMA DEVI, S.; PRASAD, M. N. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail), a free floating macrophyte: Response of antioxidant enzymes and antioxidants. **Plant Science**, v. 138, p. 157–165, nov. 1998.

RATZ, R. J. **Uso de bactérias do gênero *Bacillus* como promotoras de crescimento para a cultura do milho e da soja**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado Em Engenharia Química) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo/PR, 2014.

RECZEK, C. R.; CHANDEL, N. S. ROS-Dependent signal transduction. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 33, p. 8–13, abr. 2015.

REIS, E. M.; REIS A. C.; FORCELINI, C. A. **Manual de fungicidas – guia para o controle químico de doenças**. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2007. 157p.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CARMONA, M. A. **Manual de fungicidas: guia para o controle químico de doenças de plantas**. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2010. 226p.

RIFAI, M. A. A revision of the genus *Trichoderma*. **Mycological Papers**, v. 116, p. 1-56, 1969.

SAMUELS, G. J. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. **Phytopathology**, v. 96, n. 2, p. 195–206, fev. 2006.

SANGHETHA, G.; USHARANI, S.; MUTHUKUMAR, A. Biocontrol with *Trichoderma* species for the management of postharvest crown rot of banana. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 48, p. 214–225, 2009.

SCHNEIDER, R. P.; ECHER, M. de M.; DALASTRA, G. M.; FIAMETTI, M. S.; HACHMANN, T. L.; VILLA, F. Produtividade e qualidade de morangueiros submetidos ao sombreamento no Oeste do Paraná. **Cultivando o Saber**, v. 6, n. 6, p. 56-66, jan./abr. 2013.

SESA - Secretaria de Estado da Saúde do Paraná (PR). **Programa de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos**. Relatório [Internet] 2017. Disponível em: <<http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/PARAESTADUAL2017.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2018.

SHU, C.; CHEN, Q.; PI, L.; ZHANG, D.; PANHWAR, Q. A.; ZHOU, E. Identification and antifungal activity analysis of two biocontrol antagonists to *Colletotrichum Musae*. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 7–8, p. 554–561, ago. 2017.

SIGRIST, J. M. M. Transpiração. In: BLEINROTH, E. W. et al. **Tecnologia de pós-colheita de frutas tropicais**. 2. ed. Campinas: ITAL, 1992. p. 33-40.

SILVA, C. de S. et al. Amadurecimento da banana-prata climatizada em diferentes dias após a colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 1, p. 103–111, fev. 2006.

SILVA, M. S. e; CARVALHO, F. C. Q.; SILVA, J. R. da; LINS, S. R. de O.; OLIVEIRA, S. M. A. de. Uso de antagonistas e produtos alternativos no manejo pós-colheita de podridão mole em pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 4, p. 718–725, dez. 2014.

SIMMONDS, N. W. **Los plátanos**. Barcelona: Blume, 1973. 539 p.

SIMMONDS, N.W. **Bananas**. 2.ed. London: Tropical Agriculture Series, 1966. 512 p.

SIVAKUMAR, D.; BAUTISTA-BAÑOS, S. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. **Crop Protection**, v. 64, p. 27–37, out. 2014.

SOTO BALLESTERO, M. **Bananos: cultivo y comercialización**. 2. ed. San José: Litografía e Imprenta LIL, 1992. 674 p.

SPONHOLZ, C.; BATISTA, U. G.; ZAMBOLIM, L.; SALOMÃO, L. C. C.; CARDOSO, A. A. Efeito do tratamento hidrotérmico e químico de frutos de banana ‘Prata’ no controle da antracnose em pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 480–485, out. 2004.

STANIER, R. Y.; DOUDOROFF, M.; ADELBERG, E. A. **O mundo dos micróbios**. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 1969. 741 p.

SUTTON, B. C.; WATERSON, J. M. “*Colletotrichum musae*”. **CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria**, v. 49, n. 221, p. 1-5, 1970.

TAN, D.; FU, L.; HAN, B.; SUN, X.; ZHENG, P.; ZHANG, J. Identification of an endophytic antifungal bacterial strain isolated from the rubber tree and its application in the biological control of banana *Fusarium Wilt*. **PLOS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0131974, 2 jul. 2015.

TATAGIBA, J. S.; LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; COSTA, H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 186–192, abr. 2002.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, p. 65–72, abr. 2000.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: Editora da UFSC, 1987. 180 p.

TREVISAN, R.; PIANA, C. F. B.; TREPTOW, R. O.; GONÇALVES, E. D.; ANTUNES, L. E. C. Perfil e preferências do consumidor de pêssego (*Prunus persica*) em diferentes regiões produtoras no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 90-100, 2010.

TREVISAN, M. J.; JACOMINO, A. P.; CUNHA JUNIOR, L. C.; ALVES, R. F. Aplicação de 1-metilciclopropeno associado ao etileno para minimizar seus efeitos na inibição do amadurecimento do mamão “golden”. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 384–390, jun. 2013.

TRANTAPHYLIDES, C.; KRISCHKE, M.; HOEBERICHTS, F. A.; KSAS, B.; GRESSER, G.; HAVAUX, M.; VAN BREUSEGEM, F.; MUELLER, M. J. Singlet oxygen is the major reactive oxygen species involved in photooxidative damage to plants. **Plant Physiology**, v. 148, n. 2, p. 960–968, ago. 2008.

TRINDADE, A. V. et al. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004, 279 p.

VALDERRAMA, P.; FABIANE, M.; CLEMENTE, E. Efeito do tratamento térmico sobre a atividade de peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) em maçã (*Mallus Comunis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, dez. 2001.

VENTURA, J. A.; HINZ, R. H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do; Monteiro, A. J. A.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas fruteiras**. Viçosa: UFV, 2002, v.1, p. 839-938.

VERMA, M.; BRAR, S. K.; TYAGI, R. D.; SURAMPALLI, R. Y.; VALÉRO, J. R. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 1, p. 1–20, out. 2007.

VEY, A.; HOAGLAND, R. E.; BUTT, T. M. Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. In: BUTT, T.M.; JACKSON, C.N. **Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential**. Bristol: CAB International, 2001, p.311-46.

VILAPLANA, R.; HURTADO, G.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Hot water dips elicit disease resistance against anthracnose caused by *Colletotrichum musae* in organic bananas (*Musa acuminata*). **LWT**, v. 95, p. 247–254, set. 2018a.

VILAPLANA, R.; PAZMIÑO, L.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum Musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. **Postharvest Biology and Technology**, v. 138, p. 56–63, abr. 2018b.

VILAS BOAS, E. V. de. et al. Características da fruta. In: MATSUURA, F. C. A. U.;

FOLEGATTI, M. I. S. **Banana: Pós-colheita**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 71 p.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E. L.; MARRA, R.; BARBETTI, M. J.; LI, H.; WOO, S. L.; LORITO, M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 72, n. 1–3, p. 80–86, jan. 2008.

VIVAS, M.; SILVEIRA, S. F. da; PEREIRA, M. G.; CARDOSO, D. L.; FERREGUETTI, G. A. Análise dialéctica em mamoeiro para resistência a mancha-de-phoma. **Ciência Rural**, v. 43, n. 6, p. 945–950, 10 maio 2013.

VREELAND, R. H.; ROSENZWEIG, W. D.; POWERS, D. W. Isolation of a 250 million year old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. **Nature**, v. 407, n. 6806, p. 897–900, out. 2000.

WALL, M. Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 19, p. 434-445, 2006.

WISNIEWSKI, M.; WILSON, C. L.; CHALUTZ, E.; HERSHBERGER, W. Biological control of postharvest diseases of fruit: inhibition of *Botrytis* rots on apples by microorganisms for the control of postharvest decays in fruits and vegetables antagonistic yeast. **Proceedings of the Electron Microscopic Society of America**, v. 46, p. 290–291, 1988.

ZHANG, H.; ZHENG, X.; YU, T. Biological control of postharvest diseases of peach with *Cryptococcus Laurentii*. **Food Control**, v. 18, n. 4, p. 287–291, maio 2007.

ZHANG, H.; WANG, S.; HUANG, X.; DONG, Y.; ZHENG, X. Integrated control of postharvest blue mold decay of pears with hot water treatment and *Rhodotorula glutinis*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 49, n. 2, p. 308–313, ago. 2008.

ZHANG, H.; WANG, L.; MA, L.; DONG, Y.; JIANG, S.; XU, B.; ZHENG, X. Biocontrol of major postharvest pathogens on apple using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. **Biological Control**, v. 48, n. 1, p. 79–83, jan. 2009.

ZIVKOVIC, S.; STOJANOVIC, S.; IVANOVIC, Z.; GAVRILOVIC, V.; POPOVIC, T.; BALAZ, J. Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum Acutatum* and *Colletotrichum Gloeosporioides*. **Archives of Biological Sciences**, v. 62, n. 3, p. 611–623, 2010.