



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS**



DÉBORA CRISTINA DA SILVA

**FUNGOS CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA EM BANANAS E
SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM UNIDADES DE BENEFICIAMENTO
NO CARIRI CEARENSE**

**RIO LARGO - AL
2022**

DÉBORA CRISTINA DA SILVA

**FUNGOS CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA EM BANANAS E
SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM UNIDADES DE BENEFICIAMENTO
NO CARIRI CEARENSE**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Orientação: Profa. Dra. Kamila Câmara Correia

Coorientação: Prof. Dr. Sami Jorge Michereff

**RIO LARGO - AL
2022**

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Campus de Engenharias e Ciências Agrárias – CECA
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana

S586f Silva, Débora Cristina da.

Fungos causadores de podridões pós-colheita em bananas e severidade da antracnose em unidades de beneficiamento no Cariri Cearense. / Débora Cristina da Silva. – 2022.

73 f.: il.

Orientadora: Kamila Camara Correia.

Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2022.

Inclui Bibliografia

1. *Musa* spp., Podridao pos-colheita, Casa de embalagem.

CDU:632.4: 634.773

DÉBORA CRISTINA DA SILVA

FUNGOS CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA EM BANANAS E SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM UNIDADES DE BENEFICIAMENTO NO CARIRI CEARENSE

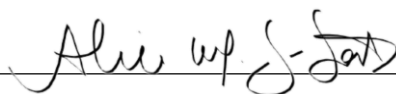
Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.



Prof.^a Dr.^a Kamila Câmara Correia (Orientadora)
Universidade Federal do Cariri

Banca Examinadora: 24/02/2022

Prof.^a Dr.^a Sarah Jacqueline Cavalcanti da Silva
Universidade Federal de Alagoas



Prof.^a Dr.^a Alice Maria Gonçalves Santos
Universidade Federal do Piauí



Dr.^a Ana Paula Oliveira de Barros
Universidade Federal Rural de Pernambuco



Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima
Universidade Federal de Alagoas

Á Deus, por ser essencial em minha vida, autor do meu destino, e meu socorro em momentos de angústia;

Aos meus irmãos, que eu amo muito e que são meu porto seguro, em especial a Mônica Franciele da Silva que nunca mediu esforços para me ouvir e me consolar quando eu mais precisei

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelas bênçãos recebidas durante toda a minha vida;

Aos Professores Dra. Kamila Câmara Correia e Dr. Sami Jorge Michereff pela orientação e ensinamentos que contribuíram para minha formação;

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas do Centro de Ciências Agrárias, pelos ensinamentos;

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo;

Aos produtores de banana do Cariri cearense, os quais me deram a oportunidade de realizar as coletas para a realização dos experimentos;

Aos que fazem parte do Laboratório de Fitopatologia da UFCA, pela ótima convivência, em especial a Karol e Ilmar que não mediam esforços para ajudar na fase experimental do trabalho.

À Ana Barros, pelos conselhos e por ter realizado extração e amplificação do DNA dos isolados do estudo.

Ao meu namorado Josuelton Rodrigues, por ser um ótimo companheiro pelo amor e paciência nos momentos difíceis.

As minhas amigas Lívia Francine e Renata Pereira, por todo carinho e apoio durante o curso.

Aos meus irmãos amados, Mônica Francyele, Marcelo Francisco, Pedro Henrique e Deyvison Felipe por todo apoio.

RESUMO GERAL

A podridão da coroa e a antracnose são importantes doenças da banana em nível mundial. Atualmente existem poucas informações sobre a etiologia da podridão da coroa, havendo a necessidade de identificação precisa dos seus agentes causais para a elaboração de medidas de manejo eficientes. Para a antracnose, diversos estudos sobre a etiologia e epidemiologia estão disponíveis. No entanto, não se conhece o comportamento dessa doença nas fases pós-colheita do fruto. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo identificar as espécies de *Nigrospora* associadas à podridão da coroa e monitorar a severidade da antracnose em bananas coletadas em etapas de beneficiamento do fruto no Cariri cearense. Para identificar as espécies de *Nigrospora*, isolados obtidos da coroa de bananas com sintomas de podridão, e com características morfológicas semelhantes ao gênero, foram submetidos ao processo de extração de DNA e sequenciamento da região ITS e dos genes TUB2 e EF1- α . Após a identificação, foi realizada a avaliação da patogenicidade e agressividade dos isolados. Com base na análise morfológica e genética, os isolados obtidos pertencem às espécies *N. hainensis* e *N. lacticolonina*. Todos os isolados induziram lesões necróticas nos frutos inoculados. Esse é o primeiro relato de espécies de *Nigrospora* caracterizadas geneticamente associadas à podridão pós-colheita em banana. Para avaliar a severidade da antracnose, bananas foram coletadas em três etapas de beneficiamento pós-colheita em dois períodos do ano. As bananas foram colocadas em câmara úmida até o aparecimento dos sintomas e a severidade da doença foi avaliada com o auxílio de escala diagramática. Não houve diferença significativa entre os níveis de severidade da antracnose entre as amostragens dentro do mesmo período do ano. Por outro lado, houve diferença significativa nos níveis de severidade entre os períodos do ano e entre as etapas de beneficiamento pós-colheita. Na maioria das situações, a severidade da antracnose foi mais elevada no período úmido. Porém, não foi constatado um padrão nos níveis de severidade da doença nas diferentes etapas de beneficiamento. No Cariri cearense, *N. lacticolonina* é a espécie de *Nigrospora* com maior frequência associada à podridão da coroa e a severidade da antracnose nas etapas de beneficiamento pós-colheita está associada às rotinas adotadas nas áreas de produção de banana.

Palavras chaves: *Musa* spp., Podridão pós-colheita, Casa de embalagem.

ABSTRACT

Crown rot and anthracnose are important banana diseases worldwide. Currently, there is little information about the etiology of crown rot, and there is a need to accurately identify its causal agents for the development of efficient management measures. For anthracnose, several studies on the etiology and epidemiology are available. However, the behavior of this disease in the post-harvest phases of the fruit is not known. Thus, the present work aimed to identify the species of *Nigrospora* associated with crown rot and monitor the severity of anthracnose in bananas collected in fruit processing stages in Cariri, Ceará. To identify the species of *Nigrosporas*, isolates obtained from the crown of bananas with symptoms of rot, and with morphological characteristics similar to the genus, were submitted to the process of DNA extraction and sequencing of the ITS region and the TUB2 and EF1- α genes. After identification, the pathogenicity and aggressiveness of the isolates were evaluated. Based on morphological and genetic analysis, the isolates obtained belong to the species *N. hainensis* and *N. laticolonia*. All isolates induced necrotic lesions in the inoculated fruits. This is the first report of a genetically characterized *Nigrospora* species associated with postharvest rot in bananas. To assess the severity of anthracnose, bananas were collected in three stages of post-harvest processing in two periods of the year. The bananas were placed in a humid chamber until the appearance of symptoms and the severity of the disease was evaluated with the aid of a diagrammatic scale. There was no significant difference between the levels of anthracnose severity between samples within the same period of the year. On the other hand, there was a significant difference in the severity levels between the periods of the year and between the post-harvest processing stages. In most situations, the severity of anthracnose was higher in the wet season. However, no pattern was found in the levels of disease severity in the different stages of processing. In Cariri Ceará, *N. laticolonia* is the *Nigrospora* species most frequently associated with crown rot and the severity of anthracnose in the post-harvest processing stages is associated with the routines adopted in banana production areas.

Keywords: *Musa* spp., Post-harvest rot, Packing house.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Despencamento dos cachos	14
Figura 2. Primeira lavagem dos frutos	15
Figura 3. Segunda lavagem e seleção dos frutos	15
Figura 4. Buquês de bananas com sintomas de podridão da coroa	38
Figura 5. Escala de maturação de Von Loesecke. Fonte: PBMH & PIF, 2006 ...	44
Figura 6. A- Injúria realizada antes da inoculação; B- Inoculação com disco de micélio; C- Preparação da câmara úmida; D- Medição das lesões	45
Figura 7. Características morfológicas dos isolados de <i>Nigrospora</i> . A – Colônia fúngica em meio BDA; B e C – Hifas e conídios; D – Célula conidiogênica e conídio	46
Figura 8. Árvore de máxima verossimilhança das espécies <i>Nigrospora</i> inferida do conjunto de dados combinado da região ITS e dos genes EF1- α e TUB2. Os valores de suporte de bootstrap fornecidos nos nós. Os isolados obtidos neste estudo estão indicados em negrito	49
Figura 9. Bananas utilizadas no teste de patogenicidade. A – Fruto não inoculado. B – Fruto inoculado com o isolado D508.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos primers utilizados na identificação das espécies de <i>Nigrospora</i>	41
Tabela 2- Isolados utilizadas neste estudo	42
Tabela 3- Agressividade (tamanho de lesão) de isolados de <i>Nigrospora</i> associados a podridões nas coroas em bananas coletadas em unidades de beneficiamento de frutos no Cariri cearense, inoculadas em banana (cv. Prata) no estágio de maturação comercial	51

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERTURA	12
2.1. Produção e colheita da banana	13
2.2. Manejo pós-colheita da banana	14
2.3. Doenças pós-colheita em banana	14
2.4. Podridão da coroa da banana	18
2.4.1. Importância	18
2.4.2. Sintomatologia	18
2.4.3. Agentes causais	19
2.4.4. Ciclo da doença e epidemiologia	20
2.4.5. Medidas de controle	21
2.5. Antracnose da banana	22
2.5.1. Importância	23
2.5.2. Sintomatologia	23
2.5.3. Agentes causais	23
2.5.4. Ciclo da doença e epidemiologia	24
2.5.5. Medidas de controle	25
2.6 Efeitos sazonais no desenvolvimento de doenças pós-colheita	26
2.7 Monitoramento de doenças da banana no processo beneficiamento pós-colheita	27
REFERÊNCIAS.....	29
3. CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE <i>Nigrospora</i> ASSOCIADAS A PODRIDÃO DA COROA DA BANANA NO CARIRI CEARENSE	34
RESUMO	35
ABSTRACT	36
3.1. Introdução	37
3.2. Material e Métodos	39
3.2.1 Coleta de amostras	39
3.2.2 Obtenção dos isolados	39
3.2.3 Caracterização morfológica	40
3.2.4 Preservação dos isolados	40
3.2.5 Cultura monospórica	41
3.2.6 Extração de DNA, Amplificação e sequenciamento	41
3.2.7 Análise filogenética	42

3.2.8 Teste de patogenicidade	45
3.2.9 Análises dos dados	46
3.3 Resultado e Discussão	47
3.3.1 Caracterização morfológica	47
3.3.2 Análise filogenética	48
3.3.3 Teste de patogenicidade	51
3.4 Conclusões	54
REFERÊNCIAS.....	55
4. CAPÍTULO II: SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM BANANAS COLETADAS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO E ETAPAS DE BENEFICIAMENTO PÓS-COLHEITA NO CARIRI CEARENSE	59
NORMAS DA REVISTA	69

1 INTRODUÇÃO GERAL

A produção de banana tem grande importância econômica e social no Cariri cearense, pois é cultivada numa extensa área por médios e pequenos agricultores e, a partir da última década, por empresas de grande porte, gerando emprego e renda. No entanto, com o aumento das áreas plantadas e a instalação de unidades de beneficiamento para atender ao processamento pós-colheita, tem sido constatado um aumento das principais doenças dessa fase, a podridão da coroa e a antracnose.

A podridão da coroa é causada por um complexo de espécies fúngicas e se destaca como importante doença pós-colheita da banana produzida em regiões de clima semiárido, na qual se enquadra o Cariri cearense. Nessas regiões, a podridão da coroa muitas vezes supera a antracnose em importância, que predomina em banana produzida em climas úmidos. A antracnose é uma das doenças mais comuns e importantes da cultura da bananeira, afeta a área da superfície da casca e é considerada a principal doença pós-colheita em diversas culturas.

Apesar da importância da podridão da coroa em nível mundial, existem poucas informações sobre a etiologia, epidemiologia e controle da doença. No Brasil, Silva (2018) identificou 11 taxas fúngicas associados a podridão da coroa. Porém a classificação foi realizada apenas em nível de gênero, o que não é suficiente para compreender a relação desses patossistemas, bem como para a escolha de medidas de manejo adequadas.

Por outro lado, existem estudos recentes e de elevada qualidade sobre a etiologia da antracnose (VIEIRA *et al.*, 2017a), bem como estudos mais antigos sobre a epidemiologia da doença. No entanto, estudos abordando o monitoramento da antracnose na fase pós-colheita da banana são escassos.

Diante do exposto, esse trabalho preenche uma importante lacuna em relação às informações sobre o monitoramento da antracnose na fase pós-colheita da banana e sobre a etiologia da podridão da coroa da banana produzida no Cariri cearense.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção e colheita da banana

Com origem no Continente Asiático, a bananeira (*Musa* spp.) é resultado de eventos de hibridização envolvendo duas espécies selvagens semeadas: *Musa acuminata* Colla (genoma A) e *Musa balbisiana* Colla (genoma B) (ALAKONYA *et al.*, 2018). No entanto, acredita-se que algumas cultivares tenham se originado da hibridação de *Musa schizocarpa* N.W. Simmonds (genoma S) com *M. acuminata* ou *M. balbisiana*, e que um clone tenha resultado da hibridação entre *M. balbisiana* e *Musa textilis* Née (genoma T) (D'HONT *et al.*, 2000; SIMMONDS, 1962).

Cultivada principalmente nas regiões tropicais, a bananeira está presente em mais de 80 países, ocupando área superior a 20 milhões de hectares e produção que ultrapassa de 100 milhões de toneladas (ROBINSON; SAÚCO, 2010). Os principais países produtores, que também são os principais consumidores, são: Brasil, Índia, China e Indonésia. A Índia se destaca como principal produtor mundial, com 30.460.000 milhões de toneladas (t), seguida pela China (11.655.700 t), Indonésia, (7.280.659 t) e Brasil (6.812.708 t) (FAO, 2022).

Existem cerca de 180 variedades de bananeiras, distribuídas em bananas comestíveis, industriais e ornamentais (ROBINSON; SAÚCO, 2010). No Brasil, as cultivares comestíveis mais difundidas são Prata, Pacovan, Prata Anã, Maçã, Mysore, Terra e D'Angola, pertencentes ao grupo genômico AAB e consumidas somente no mercado interno. Para o mercado de exportação destacam-se as cultivares Nanica, Nanicão e Grande Naine, pertencentes ao grupo genômico AAA. Estima-se que as exportações globais de bananas, excluindo a banana-da-terra, tenham atingido um novo recorde (20,2 milhões de toneladas) em 2019, um aumento de 5% em relação a 2018 (FAO, 2021). As cultivares Prata, Prata Anã e Pacovan são responsáveis por aproximadamente 60% da área cultivada com banana no Brasil (FERREIRA *et al.*, 2016).

Em 2020 foram cultivados 81.358.954 hectares com bananeira no Brasil, sendo produzidos 6.718.160 t de frutos (IBGE, 2022). A importância da cultura varia de acordo com o local de cultivo. Por vezes, ela é plantada para servir de complemento da alimentação da família (fonte de amido), como receita principal ou complementar da propriedade. Frequentemente, o cultivo da bananeira é feito em condições ecológicas adversas, mas, em vista da proximidade de um bom mercado consumidor, esta atividade se torna economicamente viável (NETO; MELO, 2003).

O cultivo da bananeira é realizado em todos os estados brasileiros, sendo a região Sudeste a maior produtora. O estado de São Paulo é o maior produtor brasileiro, com 1.089.820 t, seguido pela Bahia, com 1.084.548 t, se destacando como principal produtor da região Nordeste (IBGE, 2022).

O estado do Ceará é o sexto maior produtor de banana do País (430.336 t) e Jaguaribe é o principal município produtor da fruta nesse estado (91.751 t), seguido pelo município de Missão Velha, localizado na região do Cariri (IBGE, 2022). Nessa região, mais de 3 mil hectares são destinados ao plantio da bananeira e quase todos os municípios produzem a fruta. O cultivo gera um elevado número de empregos, principalmente nos municípios de Missão Velha e Barbalha, onde são colhidas mais de 68.000 t de banana por ano (IBGE, 2022).

A bananicultura possui grande importância econômica e social no Cariri cearense, sendo cultivada numa extensa área por médios e pequenos agricultores e, a partir da última década, por empresas de grande porte que produzem principalmente a cultivar Prata sob irrigação, obtendo uma elevada produção da fruta, que é distribuída para várias regiões brasileiras.

A bananeira pode se adaptar de forma eficiente para produzir altos rendimentos sob uma ampla faixa de condições climáticas (FERREIRA *et al.*, 2016; ROBINSON; SAÚCO, 2010). Existem vários sistemas de cultivo da bananeira no Brasil e o nível tecnológico adotado depende da disponibilidade financeira para investimento na infraestrutura de produção (FERREIRA *et al.*, 2016). No entanto, não menos importante é a fase de pós-colheita, pois a negligência nessa etapa tem levado a perdas de até 40% do total produzido, influenciadas principalmente por: danos mecânicos, decorrentes do manuseio excessivo e inadequado durante e após a colheita; por condições inadequadas de armazenamento e pela ocorrência de doenças (MEDINA; PEREIRA, 2004).

2.2 Manejo pós-colheita da banana

As práticas de manejo na pós-colheita são determinantes para a qualidade da banana. Nas unidades de beneficiamento, também chamados de galpões de embalagem, os cachos de banana são dispostos um ao lado do outro, suspensos em ganchos móveis embutidos em trilhos. A primeira etapa do beneficiamento compreende a lavagem dos cachos com jato de água, para remover a sujeira de campo, e a despistilagem, que consiste na remoção manual dos restos florais que permanecem na ponta dos frutos das pencas. Após a

despistilagem, é realizado o despencamento dos cachos (Figura 1), com a utilização de facas curvas que facilitam o corte próximo da ráquis (engaço), objetivando deixar o máximo de almofada das pencas.



Figura 1. Despencamento dos cachos

As pencas são colocadas no primeiro tanque de lavagem (Figura 2), etapa que, além de melhorar a aparência dos frutos, ajuda a reduzir o calor de campo, resfriando o fruto e, conseqüentemente, reduzindo as taxas respiratórias que aceleram a maturação. A água utilizada nesse processo deve ser limpa para melhor lavagem das bananas, na qual é adicionado detergente neutro a 0,1%, e sulfato de alumínio a 0,5%. Além de limpar, o detergente tem efeito profilático e coagula o látex que exsuda da região de corte da almofada. Caso este não seja removido, causa queimaduras na epiderme da casca, as quais só se manifestam na forma de manchas escuras após o amadurecimento. O sulfato de alumínio auxilia na decantação do látex dentro do tanque. Após a primeira lavagem, as pencas são colocadas em outro tanque, contendo água com detergente e sulfato de alumínio, como no tanque anterior (ROBINSON; SAÚCO, 2010).



Figura 2. Primeira lavagem dos frutos

Na segunda lavagem, as pencas são divididas em subpencas (buquês), com um mínimo de seis e máximo de 12 frutos unidos pela almofada. Os frutos com danos mecânicos ou físicos, devido ao ataque de pragas ou ao transporte inadequado, são eliminados, o que às vezes compromete todo o buquê, que é então descartado (Figura 3). Completada a lavagem e seleção final, os buquês são pesados e acondicionados em bandejas plásticas, tendo em vista que são destinados ao mercado interno.



Figura 3. Segunda lavagem e seleção dos frutos

As bananas podem ser conservadas sob refrigeração ($17-20^{\circ}\text{C}$) pelo período de uma a três semanas, findo o qual são removidas para câmaras de maturação, onde são tratadas com etileno. Nas câmaras de maturação, as temperaturas são mantidas entre 15 e 17°C ,

com a aplicação de etileno puro a 0,1% ou 28 litros para cada 28 metros cúbicos da câmara. A temperatura afeta a velocidade de maturação e a combinação com diferentes tempos de exposição ao etileno e permite a obtenção de frutos em variados graus de maturação, dentro de um esquema pré-estabelecido (MEDINA; PEREIRA, 2004).

O cuidado com o manuseio da fruta durante a colheita e pós-colheita é essencial para que sua boa qualidade seja mantida. Ter colhedores e operadores adequadamente treinados para evitar todo e qualquer tipo de dano aos frutos durante o manuseio é imprescindível, uma vez que dela depende, em grande parte, o sucesso da sua comercialização in natura (RINALDI, 2011). O período de pós-colheita é caracterizado por grandes perdas da qualidade mercadológica causadas por deteriorações. Após a colheita, o produto que estraga rapidamente é geralmente manuseado de forma rudimentar, o que vai acarretar danos físicos e deteriorações fisiológicas, os quais favorecem a infecção de patógenos causadores de doenças pós-colheita (RINALDI, 2011; CENCI; SOARES; FREIRE JUNIOR, 1997).

2.3 Doenças pós-colheita em banana

As doenças podem ser graves problemas para os produtores que não conseguem manejá-las com práticas integradas, pois afetam todas as partes da planta (raiz, rizoma, pseudocaule, folhas e frutos). As infecções nos frutos reduzem a qualidade destes, a vida de prateleira e de comercialização. Embora a qualidade da polpa raramente seja afetada, os frutos manchados são descartados devido aos defeitos e ao mau aspecto que apresentam, os quais levam os consumidores a rejeitá-los, resultando em baixas vendas e baixos preços (CORDEIRO, 2000; ROBINSON; SAÚCO, 2010).

Alguns patógenos que causam doenças foliares, também podem causar danos nos frutos na pré-colheita. Porém os problemas mais severos nos frutos são causados por patógenos específicos, que atacam os frutos antes ou após a colheita, causando-lhes manchas ou podridões, as quais só podem ser observadas após a colheita, motivo pelo qual são conhecidas como doenças pós-colheita (CORDEIRO, 2000; PESSOA; OLIVEIRA, 2006; ROBINSON; SAÚCO, 2010).

As principais doenças pós-colheita da banana são a antracnose e a podridão da coroa. As doenças normalmente aparecem em frutas que amadurecem tanto nos pontos de venda (supermercados, mercearias) ou mais tarde, após a compra pelo consumidor

final. Ocorrência destas duas doenças está intimamente ligada ao manejo cultural inadequado e da presença dos patógenos na área de produção, unidades de beneficiamento mal sanitizadas e manuseio pós-colheita inadequado (CORDEIRO, 2000; PESSOA; OLIVEIRA, 2006; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; PLOETZ; KEMA; MA, 2015; ROBINSON; SAÚCO, 2010).

2.4 Podridão da coroa da banana

2.4.1 Importância

A prática do despencamento, necessária à comercialização dos frutos em pencas, eliminou o problema da podridão do engaço, mas apareceu a podridão da coroa, um problema até mais grave que o anterior, devido à proximidade da área afetada com os frutos. O problema se desenvolve em consequência dos ferimentos provocados pela operação, que facilita a entrada de microrganismos causadores da decomposição dos tecidos. A podridão da coroa causa danos estéticos e significativa redução dos pedicelos. Além disso, tem sido relatada a produção de micotoxinas por alguns dos agentes causais, que causam alterações na quantidade e na qualidade de açúcares solúveis em frutas. De modo geral, a podridão se restringe à coroa, porém pode estender-se ao pedicelo e aos frutos. O problema normalmente resulta da atividade combinada de vários fungos e os danos são mais graves quando os frutos estão em trânsito por mais de 14 dias (CORDEIRO, 2000; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005). A importância crescente dessa doença é evidenciada pelo grande número de artigos sobre o assunto publicados em periódicos científicas nos últimos anos (JONES; MUIRHEAD, 2019).

2.4.2 Sintomatologia

Os primeiros sintomas da podridão da coroa normalmente aparecem sete dias após o contato com o patógeno, espalhando-se rapidamente durante a maturação, podendo, posteriormente, passar da almofada para o pedicelo dos frutos e, muitas vezes, para os próprios frutos, tornando-os impróprios para consumo. Os sintomas iniciam com o amolecimento dos tecidos, que posteriormente escurecem, tonando-se manchas de coloração marrom ou preta, que se desenvolvem sobre a coroa no local em que foi realizado o corte para o despencamento. Com o envelhecimento das lesões, estas podem ser recobertas por uma massa de coloração branco, branco acinzentado ou rosa, que pode

estar presente em toda a superfície. Em coroas infectadas ocorre o destacamento precoce dos pedicelos (CORDEIRO, 2000; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005; NELSON, 2008; SILVA, 2018).

2.4.3 Agentes causais

Vários fungos já foram relatados como agentes causais da podridão da coroa, variando com base na localização, época do ano e outros fatores. *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A.Curtis) Arx é o mais importante devido a maior frequência de relatos de isolamento a partir de frutos que apresentavam os sintomas. Com menor frequência, os fungos *Acremonium* sp. W. Gams, *Cephalosporium* sp. Corda, *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. Moreau, *Diplodia theobromae* (Pat.) W. Nowell, *Fusarium moniliforme* J. Sheld, *Fusarium pallidoroseum* (Cooke) Sacc., *Fusarium subglutinans* (Wollenw & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas, *Nigrospora* spp. e *Verticillium theobromae* (Turconi) E. W. Mason & S. Hughes são relatados associados aos sintomas desta doença. (CORDEIRO, 2000; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005; NELSON, 2008; FARR; ROSSMAN, 2021). Em trabalho realizado na região do Cariri cearense, Silva (2018) identificou a presença de 11 taxas fúngicas associados ao sintoma de podridão da coroa em bananas coletadas em estabelecimentos comerciais. Alguns deles não relatados anteriormente causando doenças em bananas e *Fusarium*, *Colletotrichum* e *Nigrospora* com maior frequência de isolamentos. Em estudo realizado em mercados varejistas de Jimma na Etiópia, *Aspergillus flavus* Link, *Aspergillus niger* Van Tieghem, *Fusarium* spp, *Penicillium* sp. e *Rhizopus* spp. foram encontrados associados aos frutos de bananeira com sintomas de podridão da coroa e *C. musae* foi o mais prevalente (ALEMU, 2014). O aumento de relatos de diferentes fungos associados a podridão da coroa mostra a necessidade de identificação precisa dos agentes causais nas áreas de produção com elevada ocorrência da doença, já que esse é o primeiro passo para um controle adequado e necessário para se conhecer as especificidades da relação patógenos-hospedeiro e o ambiente que favorece essa relação.

Apesar do gênero *Nigrospora* ter sido relatado como um dos mais frequentes associados a podridões pós-colheita em banana comercializadas no Cariri cearense (SILVA, 2018), fungos desse gênero eram considerados oportunistas. O gênero foi descrito em 1902 por Albrecht Zimmermann e já teve mais de 30 espécies relatadas (MYCOBANK, 2021). Possui distribuição cosmopolita, sendo suas espécies relatadas como endófitas de folhas e caules em várias plantas e como saprófitas. Além disso,

Nigrospora sphaerica (Sacc.) E.W. Mason é um patógeno oportunista que causa onícomicosose em humanos e úlcera de córnea. Nos últimos anos *Nigrospora* spp. têm sido relatadas e reconhecidas como patógenos de plantas em muitas culturas economicamente importantes (WANG *et al.*, 2017; FARR; ROSSMAN, 2021; MYCOBANK, 2021). Atualmente o gênero *Nigrospora* possui 27 espécies válidas, incluindo a *Nigrospora musa* McLennan & Hoëtte, que foi relatada apenas na Austrália e na China (FARR; ROSSMAN, 2021; MYCOBANK, 2021). No Brasil, sete espécies de *Nigrospora* já foram relatadas a mais de 40 hospedeiros. No entanto a maioria desses relatos não identificaram a espécie, bem como nenhuma espécie foi associada a *Musa* spp. (FARR; ROSSMAN, 2021).

2.4.4 Ciclo da doença e epidemiologia

É importante destacar que vários microrganismos podem estar envolvidos no desenvolvimento da podridão da coroa, mas a severidade da doença e a natureza do complexo podem variar substancialmente, dependendo da área de produção e da estação de cultivo (LASSOIS *et al.*, 2010; LASSOIS; LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014).

Alguns trabalhos descrevem a epidemiologia da podridão da coroa da banana (LASSOIS *et al.*, 2010; LASSOIS; LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014), porém são necessárias mais pesquisas para conhecer detalhadamente a epidemiologia dessa doença. Os agentes causais da podridão da coroa sobrevivem em restos culturais em decomposição e são disseminados pelo vento e respingos de água para todas as partes da fruta. No campo, esporos de fungos transportados pelo ar, como *Fusarium* spp. e *D. theobromae*, se estabelecem nos cachos de banana, enquanto esporos disseminados pela água, como os conídios de *C. musae*, são respingados nos frutos pelas gotas de chuva ou de água de irrigação. Esporos de alguns patógenos da podridão da coroa podem permanecer viáveis por meses no campo sob condições extremas de umidade relativa e temperatura (JONES; MUIRHEAD, 2019). A infecção ocorre principalmente nas superfícies cortadas das coroas durante o desbaste com facas contaminadas ou contato com água de lavagem infestada. Esporos presentes na superfície de frutos e partes florais em decomposição, que permanecem presas aos dedos, tendem a se acumular na água de lavagem. Esporos presentes na água de lavagem podem ser inseridos na região cortada, onde germinam e causam podridão.

A dissecação das coroas, pelas técnicas inadequadas de remoção da coroa e pelas práticas inadequadas de despencamento, resulta em tecidos da coroa subsuperficiais esmagados, aumentando a suscetibilidade à podridão. O uso de facas cegas durante o corte provoca bordas irregulares na coroa e favorece a entrada de organismos causadores de podridão em tecido adjacente ao sadio.

A incidência e a severidade da podridão da coroa variam dependendo dos organismos que obtêm condições favoráveis de entrada e sobrevivência. Condições quentes e secas antes da colheita tendem a favorecer o desenvolvimento da doença (LASSOIS *et al.*, 2010; LASSOIS; LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014; PESSOA; OLIVEIRA, 2006; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003). Com isso, a podridão da coroa da banana é mais séria em regiões de clima semiárido, onde a banana é produzida sob irrigação, do que em regiões úmidas (LASSOIS; LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014) necessitando de medidas de controle eficientes e adequadas para cada região.

2.4.5 Medidas de controle

O controle da podridão da coroa da banana é difícil, sendo fundamental a adoção de medidas integradas, envolvendo a condução do cultivo no campo, os procedimentos de colheita e o manejo na pós-colheita (NELSON, 2008; LASSOIS *et al.*, 2010; LASSOIS; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014; JONES; MUIRHEAD, 2019). O controle da podridão da coroa deve ser iniciado no campo, com um cultivo em boas condições sanitárias. Deve ser feita a remoção de possíveis fontes de inóculo, podas para aumentar a circulação do ar, diminuição da umidade e da concorrência dos brotos por água e nutrientes e remoção das folhas que possam causar lesões nas pencas. As plantas daninhas devem ser retiradas, pois podem ser hospedeiras dos patógenos e favorecerem o aumento da umidade no campo (CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003). Os restos florais dos frutos devem ser removidos precocemente para limitar a contaminação do cacho pelos patógenos causadores da podridão da coroa, principalmente *C. musae* e espécies de *Fusarium* (LASSOIS; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014; ALVINDIA, 2020).

O controle da Sigatoka e outras doenças foliares deve ser efetuado com objetivo de diminuir a susceptibilidade dos frutos à podridão da coroa pela redução da área foliar e desequilíbrio na relação entre formação e consumo de nutrientes (EWANÉ *et al.*, 2013b). Cultivares comerciais de banana resistentes à podridão da coroa não estão disponíveis, uma vez que essa doença não foi considerada em nenhum programa de

melhoramento genético até o momento (LASSOIS; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014). O cacho deve ser coberto no campo com saco plástico perfurado para reduzir a contaminação fúngica da coroa e a liberação de esporos na água de lavagem durante as operações na casa de embalagem (NELSON, 2008; LASSOIS; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014).

O traslado dos cachos da unidade de produção até a casa de embalagem deve ser realizado preferencialmente em cabos aéreos. Isso reduz os danos nos frutos, que favorecem a infecção por patógenos (LICHTEMBERG *et al.*, 2016), incluindo os causadores da podridão da coroa (LASSOIS *et al.*, 2010; JONES; MUIRHEAD, 2019).

As pencas devem ser limpas antes de serem cortadas, com a utilização de jato de água clorada, para evitar que uma faca contaminada espalhe os inóculos da casca para os tecidos da coroa (LASSOIS; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014). Deve-se ter cuidado para evitar a contaminação dos tanques de lavagem com restos vegetais (pistilos, folhas, aparas de resíduos, etc.) que contêm altas quantidades de esporos, principalmente de *Fusarium* e *Verticillium* (SHILLINGFORD, 1977; LASSOIS; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014; ALVINDIA, 2020).

Os galpões de embalagem devem possuir instalações com boa higiene e a água do tanque de lavagem deve ser limpa e com adição de detergente neutro e alvejante para remover o látex dos frutos e das pencas. Os frutos com sintomas de doenças não devem ser colocados nos tanques de lavagem. Na etapa de beneficiamento os frutos podem ser tratados com fungicidas registrados para a cultura (CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005; LASSOIS *et al.*, 2010; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003). Atualmente, apenas os ingredientes ativos imazalil e tiabendazol, e a mistura azoxistrobina + fludioxonil são registrados no Ministério da Agricultura do Brasil para o controle da podridão da coroa da banana na pós-colheita (MAPA, 2022).

As bananas devem ser resfriadas a 14 °C o mais rápido possível após a colheita (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; NELSON, 2008; LASSOIS; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2016; ALVINDIA, 2020). O resfriamento deve ser contínuo durante todo o transporte, fase que deve ser a mais curta e com todos os cuidados possíveis (LASSOIS; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014; ALVINDIA, 2020).

2.5. Antracnose da banana

2.5.1 Importância

A antracnose é uma importante doença da banana. Afeta a área da superfície da casca e é considerada a principal doença pós-colheita (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003). Embora se manifeste após a colheita dos frutos, o problema tem início no campo, ocasião em que os esporos dispersos no ar são depositados sobre os frutos, germinam, formam apressórios e penetram neles. Porém nos frutos verdes não há a ocorrência de sintomas. Após a penetração, a infecção permanece quiescente até que o fruto entre em maturação. Essa doença também pode ocorrer sem a infecção permanecer quiescente, quando ocorre a penetração do patógeno em ferimentos ocasionados nos frutos durante os processos de colheita, transporte e beneficiamento (CORDEIRO, 2000).

2.5.2 Sintomatologia

Os sintomas iniciam com pequenas manchas marrons que aparecem em todas as partes da casca em decorrência do amadurecimento. As manchas aumentam de tamanho, se unem e formam uma lesão grande e deprimida, de cor marrom ou preta que muitas vezes são cobertas por estruturas do agente causal, sendo observada uma massa de coloração laranja. Nos casos em que a infecção ocorre após a colheita, as lesões que se desenvolvem no fruto são pretas e com a forma do ferimento que permitiu a penetração do patógeno. Estas lesões podem ser rodeadas por halos cloróticos. Geralmente a polpa não é afetada, exceto em condições de altas temperaturas ou quando o ponto ótimo de maturação é ultrapassado. Os frutos atacados pela antracnose têm o processo de maturação acelerado, quando comparados aos frutos sadios (CORDEIRO, 2000; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005).

2.5.3 Agentes causais

Colletotrichum musae tem sido associado à antracnose em frutos de banana em todo o mundo (VIEIRA *et al.* 2017) com elevada ocorrência em cultivos de banana, estando disseminado ao redor do mundo (FARR; ROSSMAN, 2022). Esta espécie apresenta grande variabilidade quanto à forma e tamanho dos esporos e características culturais. Pode ser distinguida de *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc por apresentar conídios mais compridos e largos e maior taxa de crescimento em meios artificiais, na temperatura de 24 ° C. Os conídios de *C. musae* são hialinos, unicelular, elípticos a oval e medem 11-17 x 3-6 µm. (RAUT; RANADE, 2004; CORDEIRO;

MATOS; KIMATI, 2005). Com menor frequência, outras espécies de *Colletotrichum* já foram relatadas associadas a *Musa* spp. e algumas com especificidade de localização geográfica, como *Colletotrichum aotearoa* B. Weir & P.R. Johnst relatada apenas na Índia, *Colletotrichum liukuensis* Sawada relatada apenas em Taiwan, *Colletotrichum musicola* Damm relatada apenas no México e *Colletotrichum plurivorum* Damm, Alizadeh & Toy. Sato relatada apenas no Japão (MYCOBANK, 2021).

No Brasil, *C. musae* é a principal espécie causadora da antracnose da banana. Porém *Colletotrichum siamense* Prihast., L. Cai & K.D. Hyde, *Colletotrichum tropicale* Rojas, Rehner & Samuels, *Colletotrichum theobromicola* Delacr e *Colletotrichum chrysophilum* W.A.S. Vieira, W.G. Lima, M.P.S. Câmara & V.P. Doyle também já foram identificados como agente causal da doença, sendo essa última espécie relatada pela primeira vez (VIEIRA *et al.* 2017). Em muitos países são escassos os estudos sobre *Colletotrichum* spp. causadoras da antracnose em banana (ZAKARIA, 2021) e não existe informações sobre as condições favoráveis a doença causada por outras espécies de *Colletotrichum*, apenas para *C. musae*.

2.5.4 Ciclo da doença e epidemiologia

C. musae é um microrganismo comum da microflora na superfície do fruto. Partes florais e brácteas são as mais importantes fontes de inóculo. Elevada precipitação de água, principalmente até 35 dias após o florescimento, favorece a incidência da doença. Em condições de alta umidade são formados os conídios, que são disseminados pela chuva, principalmente dentro da mesma planta ou cacho (PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003; RAUT; RANADE, 2004). A infecção do hospedeiro geralmente começa com a germinação dos conídios, seguida pela formação dos apressórios e pegs de penetração (estruturas fúngicas que auxiliam na penetração nos tecidos do hospedeiro). Em alguns casos, a penetração ocorre através de ferimentos ou aberturas naturais, e após a infecção, o agente causal entra em quiescência ou latência, sendo comum em patógenos que causam doenças pós-colheita, incluindo, táxons de *Colletotrichum* (ZAKARIA, 2021).

Quando os conídios são depositados sobre frutos verdes no campo, em presença de um filme de água, germinam e formam apressórios dentro de 4h. A penetração ocorre 24 a 72 horas após. Nesse caso, a infecção permanece quiescente até o início da maturação dos frutos, ocasião em que os sintomas começam a se desenvolver. A temperatura ótima para o desenvolvimento da doença em frutos maduros é de 30 a 35 °C (PLOETZ;

THOMAS; SLABAUGH, 2003; RAUT; RANADE, 2004; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005).

As bananas são frequentemente colhidas antes do amadurecimento, e à medida que os frutos vão amadurecendo, durante o armazenamento, surgem lesões castanhas ou pretas, que mais tarde, tornam-se deprimidas e com massas de esporos do fungo expostas sobre elas, reduzindo o valor de mercado dos frutos, prejudicando a comercialização e o consumo (ZAKARIA, 2021).

Apesar do relato de mais de dez espécies de *Colletotrichum* associadas a *Musa* spp. (MYCOBANK, 2021), os estudos epidemiológicos existentes até o momento sobre o patossistema *Colletotrichum*-banana envolveram apenas *C. musae* ou isolados não caracterizados geneticamente, havendo a necessidade de estudos com isolados identificados com precisão para se entender o processo de doença ocasionado pelas demais espécies.

2.5.5 Medidas de controle

Diante de todos os danos e prejuízos causados pela antracnose, o seu controle é um componente essencial da qualidade pós-colheita das bananas, portanto devem ser adotadas medidas de controle que previnam a infecção e a incidência da doença para aumentar a vida útil dos frutos durante o armazenamento (MAQBOOL *et al.*, 2010).

O controle deve começar no campo, com boas práticas culturais, como a eliminação periódica de brácteas, principalmente, durante o período chuvoso, para evitar a permanência do patógeno na área, ensacamento dos cachos com saco de polietileno perfurado, tão logo ocorra a formação dos frutos, implementação de práticas culturais para a manutenção de boas condições de drenagem e de densidade populacional, bem como para o controle de plantas daninhas, a fim de evitar um ambiente muito úmido na plantação (CORDEIRO, 2000; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005).

Na fase de colheita e pós-colheita deve-se evitar ferimentos nos frutos, já que quando os frutos sofrem injúrias, eles ficam vulneráveis a infecção. Lichtemberg (1999, citado por SILVEIRA, 2018) destaca a importância da higienização adequada (como lavagem e desinfestação) dos frutos na pós-colheita, realizada através da imersão dos frutos em tanque contendo detergente líquido neutro e sulfato de alumínio. Caso os frutos não sejam tratados de forma apropriada, as perdas pós-colheita devido à antracnose aumentam até 80% (BILL *et al.*, 2014). Além disso, é importante padronizar o tamanho

dos frutos, uma vez que frutos grandes favorecem o aparecimento da doença durante o transporte. As práticas em pós-colheita de despencamento, lavagem e embalagem devem envolver o manuseio extremamente cuidadoso dos frutos e medidas rigorosas de assepsia.

Além desses cuidados, o último passo é o controle químico que pode ser feito por imersão ou por atomização dos frutos com produtos químicos que possui registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Os seguintes princípios ativos Thiabendazol; Benomyl; Tiofanato metílico têm sido utilizados a nível mundial com dosagens recomendadas variando de 200 a 400 ppm do ingrediente ativo, dependendo da distância do mercado consumidor. O tratamento pós-colheita com fungicidas sistêmicos é mais eficaz do que pulverizações pré-colheita. No entanto, o produtor que desejar exportar sua produção deve estar atento para as exigências do país importador, que, muitas vezes, tem uma legislação própria sobre o assunto só aceitando frutos tratados com determinados produtos. Os modernos sistemas de embalagem e transporte em condições refrigeradas têm contribuído decisivamente para redução dos problemas por *C. musae* (CORDEIRO, 2000; RAUT; RANADE, 2004; CORDEIRO; MATOS; KIMATI, 2005).

Embora o controle de patógenos pós-colheita, atualmente, ainda dependa principalmente da aplicação de fungicidas, devido ao curto espaço de tempo entre o tratamento e o consumo, existem fortes demandas públicas e científicas contra o elevado uso de fungicidas químicos. Com isso, estudos avaliando formas alternativas de controle da antracnose em frutos de bananas vêm sendo desenvolvidos (NEGREIROS *et al.*, 2013; VILAPLANA; PAZMIÑO; VALENCIA-CHAMORRO, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2021).

Até o momento, todas as medidas de manejo da antracnose da banana foram avaliadas em relação ao *C. musae*, não existindo informações precisas sobre a eficiência do controle da doença ocasionada por outras espécies de *Colletotrichum*, bem como não se tem conhecimento sobre a influência das alterações climática nessa associação patógenos-hospedeiro.

2.6 Efeitos sazonais no desenvolvimento de doenças pós-colheita

Variações geográficas e sazonais (temperatura e precipitação) interferem na incidência de doenças pós-colheita em banana, pois o ambiente é um fator determinante para que o patógeno cause a doença. As flutuações espaço-temporais refletem variações

na qualidade potencial do fruto, adquirida no campo, tornando os frutos mais suscetíveis as doenças pós-colheita (devido ao componente fisiológico) e o aumento do nível de contaminação pelos fungos patogênicos (componente patológico) (LUKEZIC; KAISER; MARTINEZ, 1967; SHILLINGFORD, 1978; CHILLET *et al.*, 2000).

Os componentes fisiológico e patológico dependem de fatores de pré-colheita como práticas agrônômicas e condições de solo e clima (CHILLET; LAPEYRE de BELLAIRE, 1996; CHILLET *et al.*, 2000; LASSOIS *et al.*, 2010). Conhecer os fatores pré-colheita que influenciam no desenvolvimento das doenças é necessário para a tomada de decisão na escolha de métodos de controle alternativos, bem como quaisquer medidas de controle (CHILLET *et al.*, 2006, 2007).

A redução das perdas pós-colheita relaciona-se a fatores envolvidos nas fases pré-colheita, como a produção, a colheita e não menos importante, a pós-colheita (incluindo todas as etapas: seleção, acondicionamento, armazenamento, transporte, distribuição atacadista e varejista). Durante a etapa de armazenamento, a qualidade dos frutos pode ser influenciada pela cultivar, condições edafoclimáticas, tratos culturais, maturação e práticas de manuseio na pós-colheita, contudo, a vida útil pós-colheita só será ampliada armazenando-se produto de boa qualidade (COELHO, 2007). Ao estudar a suscetibilidade dos frutos de banana a doença podridão da coroa, em função de efeitos geográficos e sazonais, Ewane *et al.* (2013) observou que a altitude em que as plantas foram cultivadas influenciou a suscetibilidade dos frutos a doença. Portanto, plantas cultivadas em altitudes mais baixas apresentaram frutos mais suscetíveis à doença, esse comportamento foi justificado pelo fato de que altas altitudes, por apresentarem temperaturas mais baixas, favorecem resistência ao hospedeiro (MOYER *et al.*, 2010).

2.7 Monitoramento de doenças da banana no processo beneficiamento pós-colheita

O monitoramento de doença de plantas constitui-se de uma importante ferramenta para conhecer a dinâmica do progresso temporal e espacial do patógeno ou da sua interação com o hospedeiro. Entre os aspectos que envolvem o monitoramento da doença no hospedeiro, em conjunto com a sua fenologia, as condições climáticas e as próprias condições de ambiente ou do hospedeiro requeridas pelo patógeno, fazem-se necessárias para a avaliação do progresso da doença (MARCUSO, 2009).

Nos últimos anos a ocorrência de doenças tornou-se uma grande restrição à produção de banana. Para cada uma das doenças, diferentes práticas de manejo são

realizadas, incluindo práticas de controle cultural, químico, físico e biológico. Sistemas de monitoramento e alerta antecipado também têm sido praticados para algumas doenças que ocorrem em campo (JEGER *et al.*, 1995), auxiliando na escolha do melhor momento e tipo de controle que deve ser utilizado.

Estudos envolvendo o monitoramento das doenças pós-colheita da banana são quase inexistentes. Os trabalhos sobre a Antracnose, principal doença pós-colheita, envolve, principalmente, a eficiência de métodos de controle e a identificação precisa do agente causal (CHILLET; LAPEYRE de BELLAIRE, 1996; NEGREIROS *et al.*, 2013; VIEIRA *et al.*, 2017; ZOEIR *et al.*, 2017).

Apesar da importância da cultura da banana para o Brasil e o conhecimento da ocorrência frequente das doenças pós-colheita comprometendo a produção, apenas um trabalho foi realizado até o momento avaliando a intensidade da antracnose em diferentes épocas do ano (SILVA *et al.*, 2016).

Considerando o elevado destaque do Brasil entre os Países produtores de banana, a importância da cultura para o País, o elevado impacto socioeconômico das doenças pós-colheitas na produção da fruta, a realização de estudos com enfoque no monitoramento dessas doenças e na identificação precisa dos agentes causais se faz necessário para o entendimento das condições que favoráveis a doença e para a elaboração de técnicas de controle viáveis.

REFERÊNCIAS

- ALAKONYA, A. E. *et al.* Progress in understanding *Pseudocercospora* banana pathogens and the development of resistant *Musa* germplasm. **Plant Pathology**, London, v. 67, p. 759-770, 2018.
- AHMED, Z. F. R.; PALTA, J. P. Postharvest dip treatment with natural lysophospholipid plus soy lecithin extended the shelf life of banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 13, p. 58-65, 2016.
- ALEMU, K. Importance and pathogen spectrum of crown rot of banana in Jimma Town, Southwestern Ethiopia. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, New Delhi, v. 4, p. 106-111, 2014.
- ALVINDIA, D. G. Banana and plantain. *In*: PALOU, L.; SMILANICK, J. L. (ed.). **Postharvest pathology of fresh horticultural produce**. Boca Raton, Editora: CRC Press, 2020. p. 277-301.
- BILL, M. *et al.* The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea Americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. **Crop Protection**, Oxford, v. 64, p. 159-167, 2014.
- CENCI, S. A.; SOARES, A. G.; FREIRE JUNIOR, M. **Manual de perdas pós-colheita em frutos e hortaliças**. Rio de Janeiro: Embrapa-CTAA, 1997. 29 p. (Embrapa-CTAA. Documentos, 27).
- CHILLET, M.; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L. Conditionnement en polybag pour le controle de l'anthracnose de blessure des bananes. **Fruits**, Paris, v. 51, p. 163-172, 1996.
- CHILLET, M. *et al.* Evidence for the variation in susceptibility of bananas to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae* and the influence of edaphic conditions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 86, p. 33-47, 2000.
- CHILLET, M. *et al.* Effects of the physiological age of bananas on their susceptibility to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 90, p. 1181-1185, 2006.
- COELHO, A. F. S. **Avaliação da qualidade após a colheita da banana “prata anã” submetida a tratamentos químicos e armazenada sob refrigeração**. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Campinas: Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, 2007. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/257074>. Acesso em: 01 mai. 2021.
- 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. *et al.* (ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005. p. 99-117.

D'HONT, A.; PAGET-GOY, A.; ESCOUTE, J. The interspecific genome structure of cultivated banana, *Musa* spp. revealed by genomic DNA in situ hybridization. **Theoretical and Applied Genetics**, London, v. 100, p. 177-83, 2000.

EWANÉ, C. A. *et al.* The susceptibility of bananas to crown rot disease is influenced by geographical and seasonal effects. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 35 n. 1, p. 27-36, 2013.

EWANÉ, C. A. *et al.* Impact of the extension of black leaf streak disease on banana susceptibility to post-harvest diseases. **Fruits**, Paris, v. 68, n. 5, p. 351-365, 2013b.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). **FAOSTAT**. [online]. Rome: Food and Agriculture Organization, 2022. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Acesso em: 12 jan. 2022.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungus-host distribution database**. [online]. Beltsville: United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service, 2022. Disponível em: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases>. Acesso em: 12 jan. 2022.

RINALDI, M. M. **Perdas pós-colheita devem ser consideradas**. Planaltina: Embrapa Cerrado, 2011. Disponível em: <<https://www.paginarural.com.br/artigo/2243/perdas-pos-colheita-devem-ser-consideradas>>. Acesso em: 10 jun. 2021.

FERREIRA, C. F. (ed.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. 832 p.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA) **Levantamento sistemático da produção agrícola - LSPA**. [online]. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2022. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. Acesso em: 08 jan. 2022.

JEGER, M. J. *et al.* Banana disease. In: GOWEN, S. (ed.). **Bananas and plantains**. London: Chapman & Hall, 1995. p. 317-381.

JONES, D. R.; MUIRHEAD, I. F. Fungal diseases of banana fruit: Postharvest diseases. In: JONES, D. R. (ed.). **Handbook of diseases of banana, abacá and enset**. Wallingford: CABI, 2019. p. 271-288.

LASSOIS, L. *et al.* Crown rot of bananas: Preharvest factors involved in postharvest disease development and integrated control methods. **Plant Disease**, St. Paul, v. 94, n. 6, p. 648-658, 2010.

LASSOIS, L.; DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L. Crown rot disease of bananas. In: BAUTISTA-BAÑOS, S. (ed.). **Postharvest decay: control strategies**. Dordrecht: Elsevier, 2014. p. 103-130.

LICHTENBERG, L. A. Colheita e pós-colheita da banana. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 196, p. 73-90, 1999.

LICHTENBERG, L. A. *et al.* Colheita, manuseio pós-colheita e conservação dos frutos. In: FERREIRA, C. F. *et al.* (ed.). **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. p. 645-694.

LUKEZIC, F. L.; KAISER, W. J.; MARTINEZ, M. M. The incidence of crown rot of boxed bananas in relation to microbial populations of the crown tissues. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 45, n. 4, p. 413-421, 1967.

MARCUZZO, L. L. Papel do monitoramento de doenças de plantas com ênfase em bactérias foliares. **Ágora**, Mafra, v. 16, n. 2, p. 1-13, 2009.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). **AGROFIT**: sistema de agrotóxicos fitossanitários. [online]. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 08 jan. 2022.

MAQBOOL, M. *et al.* Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. **Crop Protection**, Oxford, v. 29, p. 1136-1141, 2010.

MEDINA, V. M.; PEREIRA, M. E. C. Pós-colheita. *In*: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (ed.). **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 209-231.

MOYER, M. M. *et al.* Effects of acute low temperature events on development of *Erysiphe necator* and susceptibility of *Vitis vinifera*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 100, p. 1240-1249, 2010.

MYCOBANK. **Mycobank database**. Disponível em: <http://mycobank.org>. Acesso em: 13 de agosto 2021.

NEGREIROS, R. J. Z. *et al.* Controle da antracnose na pós-colheita de bananas-‘prata’ com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35 n. 1, p. 51-58, 2013.

NELSON, S. **Postharvest rots of banana**. Honolulu: University of Hawai’i Cooperative Extension Service, 2008. (UH-CTAHR Bulletin, PD-54).

NETO, A. R.; MELO, B. **A cultura da bananeira**. Uberlândia: Núcleo de Estudos em Fruticultura no Cerrado – Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Agrárias, 2003. Disponível em: <http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/banana3.htm>. Acesso em: 10 jun. 2021.

PESSOA, W. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças da bananeira. *In*: OLIVEIRA, S. M. *et al.* (ed.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 539-553.

PLOETZ, R. C.; KEMA, J. H. J.; MA, L. J. Impact of diseases on export and smallholder production of banana. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 53, p. 269-288, 2015.

PLOETZ, R. C.; THOMAS, J. E.; SLABAUGH, W. R. Diseases of banana and plantain. *In*: PLOETZ, R. C. (ed.). **Diseases of tropical fruit crops**. Wallingford: CAB International, 2003. p. 73-134.

RAUT, S. P.; RANADE, S. Diseases of banana and their management. *In*: NAQVI, S. A. M. H. (Ed.). **Diseases of fruits and vegetables**. Dordrecht: Kluwer, 2004. v. 2, p. 37-52.

- RINALDI, M. M. **Perdas pós-colheita devem ser consideradas**. Planaltina: Embrapa Cerrado, 2011. Disponível em: <https://www.paginarural.com.br/artigo/2243/perdas-pos-colheita-devem-ser-consideradas>. Acesso em: 10 jun. 2021.
- ROBINSON, J. C.; SAÚCO, V. G. **Bananas and plantains**. 2. ed. Wallingford: CAB International, 2010.
- RODRIGUES, M. L. M. *et al.* Anthracnose control of ‘Prata-Anã’ banana with pre harvest phosphite application. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 42, n. 3, p. 1-10, 2020.
- SHILLINGFORD, C. A. Control of banana fruit rots and of fungi that contaminate washing water. **Tropical Science**, London, v. 19, n. 4, p. 197-203, 1977.
- SHILLINGFORD, C. A. Climatic factors affecting post-harvest decay of Jamaican bananas. **The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, Mayaguez, v. 63, n. 1, p. 45-49, 1978.
- SILVA, L. *et al.* Progresso temporal e controle da antracnose em banana no Semiárido Norte Mineiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 38, p. 81-91, 2016.
- SILVA, J. A. **Frequência de fungos associados a doenças pós-colheita da banana no Cariri**. 2018. Monografia (Curso de Agronomia) – Universidade Federal do Cariri, Crato, 2018.
- SILVEIRA, A. L. **Etiologia e controle da antracnose em frutos de banana no Brasil**. 2018. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, 2018. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/29502>. Acesso em: 11 ago. 2021.
- SIMMONDS, N. W. **The evolution of the bananas**. **Tropical Science Series**. London, UK: Longman Publishers, 1962.
- VIEIRA, W. A. S. *et al.* The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with Musa. **Mycologia**, Bronx, v. 109, p. 912–934, 2017.
- 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**, Amsterdam, v. 138 p. 56-63, 2018.
- ZAKARIA, L. Diversity of *Colletotrichum* Species Associated with Anthracnose Disease in Tropical Fruit Crops-A Review. **Agriculture**, Basel, v. 11, p. 297-320, 2021.
- ZHU, J. *et al.* Antifungal sesquiterpenes with post-harvest anthracnose control effect on bananas from the fungus *Fusarium lateritium*, **Natural Product Research**, London, v. 15, p. 1-8, 2021.
- ZOEIR, H. A. *et al.* Effects of antifungal activity of essential oils, salts and antioxidants acids on pathogenic fungi and their application methods for controlling postharvest diseases in banana fruits. **African Journals Microbiology Research**, Ibadan, v. 11, n. 29, p. 1162-1170, 2017.

WANG, M. F. *et al.* Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: ubiquitous endophytes, plant and human pathogens. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**-Utrecht, v. 39, p. 118–142, 2017.

3 CAPÍTULO I:

CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Nigrospora* ASSOCIADAS A PODRIDÃO DA COROA DA BANANA NO CARIRI CEARENSE

CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Nigrospora* ASSOCIADAS A PODRIDÃO DA COROA DA BANANA NO CARIRI CEARENSE

RESUMO: A podridão da coroa é uma das principais doenças pós-colheita em banana em todo o mundo, afetando a comercialização e levando a enormes perdas econômicas. Um complexo de patógenos tem sido relatado como agente causal da podridão da coroa da banana, os quais podem se instalar durante as fases de transporte e comercialização dos frutos, causando sérios prejuízos na comercialização. Isolados de *Nigrospora* foram obtidos de banana com sintomas de podridão da coroa no Brasil e o gênero foi o segundo com maior frequência de isolamento e com agressividade semelhante a *Colletotrichum* e *Fusarium*. Com isso, o presente trabalho tem como objetivo identificar as espécies de *Nigrospora* associadas a podridão da coroa em bananas coletadas em unidades de beneficiamento no Cariri cearense através das características morfológicas, genéticas e patogênicas. Os 16 isolados foram identificados como *N. hainanensis* e *N. laticolonia* com base nas análises da região ITS e dos genes TUB2 e EF1- α , sendo este o primeiro relato destas espécies causando podridão pós-colheita em banana e o primeiro relato de *N. laticolonia* no País. Todos os isolados foram patogênicos, induzindo lesões necróticas nos frutos inoculados. Os isolados de *N. laticolonia* formaram quatro grupos distintos quando considerado o tamanho da lesão induzida por eles em banana. Esse é primeiro relato de espécies de *Nigrospora* caracterizadas geneticamente associadas a podridões pós-colheita em banana, indicando que as espécies do gênero têm a capacidade de infectar uma ampla grama de hospedeiro e que pode causar diferentes doenças em um mesmo hospedeiro.

Palavras-chave: *Musa* spp., *Nigrospora hainanensis*, *Nigrospora laticolonia*, Podridão pós-colheita.

CHARACTERIZATION OF *Nigrospora* SPECIES ASSOCIATED WITH BANANA CROWN ROT IN CARIRI CEARENSE

ABSTRACT: Crown rot is one of the main post-harvest diseases in bananas worldwide, affecting marketing and leading to huge economic losses. A complex of pathogens has been reported as a causal agent of banana crown rot, which can settle during the transport and commercialization phases of the fruits, causing serious damages in commercialization. *Nigrospora* isolates were obtained from bananas with symptoms of crown rot in Brazil and the genus was the second most frequently isolated and with similar aggressiveness to *Colletotrichum* and *Fusarium*. Thus, the present work aims to identify the *Nigrospora* species associated with crown rot in bananas collected in processing units in Cariri-Ceará, through morphological, genetic and pathogenic characteristics. The 16 isolates were identified as *N. hainanensis* and *N. lacticolonia* based on the analysis of the ITS region and the TUB2 and EF1- α genes, this being the first report of these species causing postharvest rot in bananas and the first report of *N. lacticolonia* in the country. All isolates were pathogenic, inducing symptoms of necrotic lesions in the inoculated fruits. The *N. lacticolonia* isolates formed four distinct groups when considering the size of the lesion induced by them in banana. This is the first report of genetically characterized *Nigrospora* species associated with postharvest rots in bananas, indicating that species of the genus have the capacity to infect a large gram of host and that they can cause different diseases in the same host.

Keywords: *Musa* spp., *Nigrospora hainanensis*, *Nigrospora lacticolonia*, Postharvest rot.

3.1 Introdução

A banana (*Musa spp.*) é uma fruta economicamente importante e amplamente cultivada no Cariri Cearense. O estado do Ceará é o sexto maior produtor de banana do Brasil (430.336 t) e Jaguaribe, seguido por Missão velha (localizado no Cariri Cearense) são os principais municípios produtores da fruta no Estado (IBGE, 2021). Embora a região seja uma importante produtora, as doenças pós-colheita, prejudicam a comercialização pois reduzem a qualidade dos frutos. As principais doenças pós-colheita são a antracnose e a podridão da coroa, uma grave doença que é atribuída a um complexo de fungos e com epidemiologia pouco detalhada.

A podridão da coroa da banana, causa sérios prejuízos na fase de comercialização e as chances de que essa doença possa se instalar durante as fases de transporte e comercialização dos frutos, são muito grandes (CORDEIRO; MATOS; MEISNER FILHO, 2004; FERREIRA *et al.*, 2016). Perdas de mais de 10% foram registradas no Reino Unido, em bananas provenientes das ilhas de Barlavento (KRAUS; JOHANSON, 2000), e de acordo com ALDVINDIA *et al.* (2000), nas Filipinas foram relatadas perdas de até 86% em frutos de banana, não tratados quimicamente.

Um complexo de patógenos foi relatado como agente causal da podridão da coroa da banana, e os mais comumente relatados são: *Colletotrichum musae*, *Ceratocystis paradoxa*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Acremonium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* *Nigrospora spp.* (KAMEL; CORTESI; SARACCHI, 2016; LASSOIS *et al.*, 2010; LASSOIS; LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014; PESSOA; OLIVEIRA, 2006; PLOETZ; THOMAS; SLABAUGH, 2003).

Segundo Lassois; Chillet; Lapeyre de Belaire (2010), as espécies fúngicas relatadas causando podridão da coroa variam com base na localização e época do ano. Os autores ao realizarem um levantamento sobre os principais agentes causais da podridão, relataram que nas Américas Central e do Sul, as espécies frequentemente isoladas foram *Fusarium semitectum* (4-50%) e *Fusarium verticilloides* (0-28%). No entanto, as pesquisas realizadas nas ilhas de Barlavento observaram maiores porcentagens de frequência atribuídas a *Colletotrichum musae* (23- 44%), *Fusarium semitectum* (7-27%) e *Nigrospora sphaerica* (1-27%). Em pesquisa realizada no Cariri cearense, Silva (2018) relatou *Nigrospora* como um dos gêneros com maior frequência de isolamento associados a podridão de bananas.

De acordo com Wang *et al.* (2017), o gênero *Nigrospora* pertence à família Apiosporaceae (Xylariales e Sordariomycetes), abrangendo mais de 27 espécies conhecidas, e tem preferências por hospedeiros como *Musa* e *Camellia*, e uma característica marcante do gênero, segundo Chen *et al.* (2016), é o potencial na produção de metabólitos secundários bioativos.

Até a década passada, a classificação das espécies do gênero era realizada considerando principalmente as dimensões dos conídios por se acreditar que várias espécies se diferiam apenas no tamanho dos esporos. No entanto, Wang *et al.* (2017) investigando as relações filogenéticas de espécies de *Nigrospora* observaram, com bastante frequência, que o tamanho dos conídios se sobrepõe entre espécies morfológicamente semelhantes, porém que são filogeneticamente distintas, como a *N. musae* e *N. sphaerica*.

Táxons de *Nigrospora* tem isolados como patógenos, endófitos de folhas e caules e como sapróbios (WU *et al.* 2009; UZOR *et al.*, 2015; WHANG *et al.*, 2017; HAO *et al.*, 2020). Como patógenos de culturas economicamente importantes, mais de dez espécies já foram relatadas causando perdas na produção e algumas espécies, como *N. oryzae*, estão relatadas em diferentes hospedeiras cultivadas comercialmente, como *Citrus* spp., *Oryza* spp. e *Eucalyptus* spp. (FARR; ROSSMAN, 2021).

No Brasil, sete espécies de *Nigrospora* já foram relatadas como patógenos de plantas em diferentes hospedeiras, a exemplo da *Nigrospora hainanensis* que foi relatada recentemente causando mancha em *Nopalea cochenillifer* (CONFORTO *et al.*, 2019), cultura de elevada importância socioeconômica para a região nordeste do País.

Até o presente momento, poucas espécies de *Nigrospora* foram caracterizadas como patógenos causadores de podridões pós-colheita. Apenas *N. sphaerica* foi relatada causando podridão pós-colheita em Kiwis, na China (LI *et al.*, 2018) e Know *et al.* (2017) que identificaram *Nigrospora* sp. como agente causal da podridão negra em frutos de Kiwis na Coreia. Porém a identificação realizada por Know *et al.* (2017) ocorreu apenas ao nível de gênero, como a realizada por Silva (2018) que usou apenas caracteres morfológicos para identificar os isolados de *Nigrospora* obtidos de banana no Brasil, sendo necessário mais estudos para a caracterização precisa do agente causal.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi identificar as espécies de *Nigrospora* associadas a podridão da coroa em bananas coletadas de unidades de beneficiamento do Cariri cearense, considerando caracteres morfológicos, genéticos e patogênico dos isolados.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Coleta de amostras

Em 2019 e 2020, pencas de bananas foram coletadas em quatro unidades de beneficiamento de empresas produtoras de banana localizadas na região do Cariri cearense, situadas nos municípios de Brejo Santo (Sítio Mutamba) e Missão Velha (Sítio Paraíso Verde, Sítio da Serra e Sítio Barreiras). As amostras foram levadas para o Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade da Universidade Federal do Cariri, localizado no município do Crato-CE, onde foram processadas.

3.2.2 Obtenção dos isolados

As pencas foram colocadas em bandejas plásticas contendo três camadas de papel toalha umedecidas com água esterilizada e posteriormente cobertas por sacos plásticos transparentes, formando uma câmara úmida. As bandejas foram mantidas em condições ambientais dentro do laboratório (± 25 °C).

As pencas foram observadas frequentemente quanto ao aparecimento dos sintomas de podridão da coroa. Após 7 dias de incubação foram observados os sintomas, e após 12 dias todas as pencas estavam com a coroa (“almofada”) sintomática, apresentando coloração marrom escura a preta e com os tecidos amolecidos (Figura 4). As pencas foram retiradas das bandejas e avaliadas quanto à incidência da podridão da coroa e submetidas ao processo de isolamento.



Figura 4. Buquês de bananas com sintomas de podridão da coroa.

Para o isolamento do patógeno, dez fragmentos internos dos tecidos de cada coroa amostrada foram cortados assepticamente das margens das lesões. As amostras foram esterilizadas através da imersão em álcool a 70% durante 30 s, hipoclorito de sódio (NaOCl a 1,5%) por 60 s e lavadas duas vezes consecutivas em água esterilizada por 30 s. Posteriormente, as amostras foram colocadas para secar sobre papel de filtro estéril em câmara asséptica. Após a secagem, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), suplementadas com tetraciclina (0,05 g/L). As placas foram incubadas em condições de laboratório e após o aparecimento de crescimento micelial, fragmentos de hifas foram transferidos individualmente para placas com meio BDA para obtenção da cultura pura.

3.2.3 Caracterização morfológica

Os isolados fúngicos foram examinados quanto à morfologia das colônias e dos esporos para identificação ao nível de gênero. Para a análise da morfologia da colônia, um disco de micélio (5 mm de diâmetro) com 7 dias de crescimento foi transferido para o centro de uma placa de Petri contendo BDA, que foi mantida a 25°C sob alternância luminosa, em incubadora tipo BOD. A morfologia da colônia (cor e crescimento micelial aéreo) foi observada até 15 dias de incubação. Para a análise da morfologia e da morfometria dos conídios, um disco (5 mm de diâmetro) da margem de colônia com 3 dias de crescimento foi transferido para o centro de uma placa de Petri contendo BDA, com posterior incubação a 25°C sob alternância luminosa (12h claro/12h escuro), até a formação dos conídios. A morfologia dos conídios de todos os isolados foi observada, com ênfase na forma, cor, ornamentação da parede, presença ou ausência de septos, e outras características indicadas em bibliografias especializadas (ELLIS, 1971; ELLIS, 1976; BARNETT; HUNTER, 2006; LESLIE; SUMMERELL, 2006; WATANABE, 2010; PHILLIPS *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2017).

3.2.4 Preservação dos isolados fúngicos

Os isolados fúngicos identificados morfologicamente foram preservados pelo método de Castelani (DHINGRA; SINCLAIR, 1995). Cinco discos de BDA (5 mm de diâmetro) contendo o crescimento fúngico foram transferidos para tubos criogênicos de 2 mL contendo 1,5 mL de água destilada esterilizada e depositados na Coleção de Fungos

Fitopatogênicos – CFC do Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade da Universidade Federal do Cariri – Campus Crato.

3.2.5 Cultura monospórica

Culturas características do gênero *Nigrospora* foram repicadas para obtenção de cultura monospórica. Para obtenção desta, foi preparada uma suspensão de conídios para cada isolado, a qual foi colocada em placas de Petri contendo meio de cultivo ágar-água (AA) e posteriormente espalhada por toda a placa com o auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram mantidas a 25 °C por cerca de 12 h até a germinação dos conídios. Um conídio germinado foi cortado e retirado com o auxílio de uma agulha estéril e transferido para placas contendo BDA. As placas com a cultura monospórica foram mantidas a 25 °C e após o crescimento micelial dos isolados, observou-se se havia homogeneidade da colônia. Os isolados monospóricos foram caracterizados molecularmente.

3.2.6 Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

Os isolados fúngicos foram cultivados em BDA por sete dias a 25 °C no escuro. Usando uma espátula esterilizada, uma pequena quantidade de micélio foi raspada da superfície da colônia. O DNA genômico foi extraído com o Wizard Genomic DNA Purification kit (Promega Corporation, Fitchburg, EUA) seguindo as instruções do fabricante e visualizado em gel de agarose a 1% em TAE corado com brometo de etídio e gel Red e fotografado sob luz UV.

Os primers ITS4 e ITS5 (WHITE *et al.*, 1990) foram empregados para amplificação da região do espaço interno transcrito (ITS), os primers EF1-728F e EF1-986R (CARBONE; KOHN, 1999) foram empregados para amplificação do gene fator de alongação 1- α (EF1- α), e os primers Bt1a e Bt2b (GLASS; DONALDSON, 1995) utilizados para amplificação de parte do gene da β -tubulina (TUB2). Na tabela 1, são apresentadas as sequências 5' - 3', dos primers utilizados para identificação das espécies.

Tabela 1. Descrição dos primers utilizados na identificação das espécies de *Nigrospora*.

Gene	Primer	Sequência (5'-3')	Autores
EF1- α	EF1-728F	CAT CGA GAA GTT CGA GAA GTT	Carbone; Kohn, 1999
	EF1-985R	TAC TTG AAG GAA CCC TTA CC	
TUB	Bt1a	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	Glass; Donaldson, 1995
	Bt2a	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	
ITS	ITS4	TCC TCC GCY TAT TGA TAT GC	White <i>et al.</i> , 1990
	ITS5	TAC TTC AAG GAA CCC TTA CC	

- EF1- α = Fator de alongação 1- α

- TUB = β -tubulina

- ITS = Espaço interno transcrito

Os componentes usados para amplificação por PCR foram uma mistura de 12,5 μ l, contendo: 6,25 μ l de GoTaq G2 Colorless Master Mix (Promega), 0,5 μ l de cada primer, 4,25 μ l de Água nuclease-Free. Um controle negativo (sem DNA) foi incluso em todas as reações de PCR.

Para ITS e TUB2, as seguintes condições foram usadas: desnaturação inicial a 95 °C por 3 min, seguida por 34 ciclos de desnaturação a 95 °C por 1 min s, anelamento a 52 °C por 30 s, extensão a 72 °C por 1 min e uma extensão final a 72 °C por 10 min. Para a região EF1- α , as condições de amplificação por PCR foram: desnaturação inicial a 95 °C por 4 min, seguida por 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento a 55 °C por 45 s, extensão a 72 °C por 90 s e uma extensão final a 72 °C por 10 min.

Os produtos de amplificação de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1% em Tris-acetato 1.0 x ácido EDTA (TAE), corados com GelRed™ (Biotium Inc., Hayward, EUA) e fotografados sob luz ultravioleta (UV). Os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit de purificação ExoProStar 1-step (GE Healthcare Life Sciences, Pittsburgh, EUA), seguindo as instruções do fabricante, e sequenciados em ambas as direções com os mesmos primers da amplificação usando um ABI PRISM 3100 - Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems) na Plataforma de Sequenciamento do Laboratório Central do Centro de Biociências (LABCEN/CCB) na Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil).

3.2.7 Análise filogenética

A análise dos cromatogramas gerados pelo sequenciamento da região ITS-rDNA dos isolados e a montagem dos contigs foram realizadas utilizando o software Staden Package® 209 v.2.0 (STADEN; BEAL; BONFIELD, 1998).

As sequências foram alinhadas utilizando ClustalX v.1.83 (THOMPSON *et al.*, 1997) utilizando os seguintes parâmetros: parâmetros de alinhamento par a par (gap opening = 10, gap extension = 0.1) e vários parâmetros de alinhamento (gap opening = 10, gap extension = 0,2, transition weight = 0,5, delay divergente sequences = 25%). Os alinhamentos foram ajustados manualmente quando necessário. Os eventos de indels (gaps) foram consideradas na análise filogenética (YOUNG; HEALY, 2003). Sequências nucleotídicas de isolados de referência de *Nigrospora* obtidas no GenBank foram incluídas nas análises (Tabela 2). *Arthrinium malaysianum* (CBS102053) foi utilizado como grupo externo. As sequências obtidas nesse estudo serão depositadas no GenBank e os isolados obtidos depositados na Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos do Cariri (CFC) da Universidade Federal do Cariri (Crato, Ceará, Brasil).

Tabela 2- Isolados utilizadas neste estudo.

Espécie	Nº de acesso	Hospedeiro	Local	Nº de acesso do GenBank		
				ITS	TUB	EF1
<i>Arthrinium malaysianum</i>	CBS 102053	<i>Macaranga hullettii</i>	Malaysia	KF144896	KF144988	KF145030
<i>Nigrospora laticolonia</i>	CGMCC 3.18123	<i>Camellia sinensis</i>	China	KX985978	KY019458	KY019291
<i>N. laticolonia</i>	LC 7009	<i>Musa paradisiaca</i>	China	KX986087	KY019594	KY019454
<i>N. laticolonia</i>	D129	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D257	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D267	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D269	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D275	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D377	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D382	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D444	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D445	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D446	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D463	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D465	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D472	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D484	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. laticolonia</i>	D508	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N. osmanthi</i>	CGMCC 3.18126	<i>Osmanthus sp</i>	China	KX986010	KX986010	KY019421
<i>N. osmanthi</i>	LC 4487	<i>Hedera nepalensis</i>	China	KX986017	KY019540	KY019438

<i>N. vesicularis</i>	CGMCC 3.18128	<i>Musa paradisíaca</i>	China	KX986088	KY019463	KY019294
<i>N. vesicularis</i>	LC 0322	Planta desconhecida	Thailand	KX985939	KY019467	KY019296
<i>N. aurantiaca</i>	CGMCC 3.18130	<i>Nelumbo sp.</i>	China	KX986064	KY019465	KY019295
<i>N. aurantiaca</i>	LC 7034	<i>Musa paradisíaca</i>	China	KX986093	KY019598	KY019394
<i>N. guilinensis</i>	CGMCC 3.18124	<i>Camellia sinensis</i>	China	KX985983	KY019459	KY019292
<i>N. guilinensis</i>		<i>Nelumbo sp.</i>	China	KX986063	KY019608	KY019404
<i>N. hainanensis</i>	CGMCC 3.18129	<i>Musa paradisíaca</i>	China	KX986091	KY019464	KY019415
<i>N. hainanensis</i>	LC 6979	<i>Musa paradisíaca</i>	China	KX986079	KY019586	KY019416
<i>N. hainanensis</i>	D500	<i>Musa spp.</i>	Brasil			
<i>N.gorlenkoana</i>	CBS 480.73	<i>Vitis vinífera</i>	Kazakhstan	KX986048	KY019456	KY019420
<i>N. rubi</i>	CGMCC 3.18326	<i>Rubus sp</i>	China	KX985948	KY019475	KY019302
<i>N. bambusae</i>	LC 7114	<i>Bamboo</i>	China	KY385307	KY385319	KY385313
<i>N. bambusae</i>	LC 7244	<i>Bamboo</i>	China	KY385306	KY385320	KY385314
<i>N. musae</i>	CBS 319.34	<i>Musa paradisíaca</i>	Australia	KX986076	KY019455	KY019419
<i>N. musae</i>	LC 6385	<i>Camellia sinensis</i>	China	KX986042	KY019567	KY019371
<i>N. orizae</i>	LC 6761	<i>Oryza sativa</i>	China	KX986056	KY019574	KY019376
<i>N. orizae</i>	LC 6759	<i>Oryza sativa</i>	China	KX986054	KY019572	KY019374
<i>N. zimmermanii</i>	CBS 167.26	<i>Saccharum officinarum</i>	Ecuador	KY385309	KY385317	KY385311
<i>N. zimmermanii</i>	CBS 984.69	<i>Saccharum officinarum</i>	Brazil	KY385310	KY385322	KY385316
<i>N. pyriformis</i>	CGMCC 3.18122	<i>Citrus sinensis</i>	China	KX985940	KY019457	KY019290
<i>N. pyriformis</i>	LC 2688	<i>Lindera aggregata</i>	China	KX985941	KY019468	KY019297
<i>N. camelliae- sinensis</i>	CGMCC 3.18125	<i>Camellia sinensis</i>	China	KX985986	KY019460	KY019293
<i>N. camelliae- sinensis</i>	LC 4460	<i>Castanopsis sp</i>	China	KX986015	KY019538	KY019353
<i>N. chinensis</i>	CGMCC 3.18127	<i>Machilus breviflora</i>	China	KX986023	KY019462	KY019422

- CGMCC = Coleção Geral de Culturas Microbiológicas da China.

- LC = Coleção de trabalho de Lei Cai.

- CBS = Coleção de Cultura de fungos do Instituto Westerdijk

As relações filogenéticas entre as sequências foram analisadas pelo método de máxima verossimilhança e o modelo de substituição de nucleotídeos foi selecionado por meio do critério de informação bayesiana – BIC. Análises de bootstrap com 1000 repetições foram realizadas para estimar a confiabilidade dos ramos das árvores geradas. A análise de Máxima Verossimilhança (ML) foi realizada com auxílio do programa MEGA 7 (KUMAR *et al.*, 2016). Para ML foram obtidos comprimento da árvore, índice de consistência (CI) e índice de retenção (RI). O melhor modelo de ajuste foi o GTR, para a análise combinada e dos genes individuais.

3.2.8 Teste de patogenicidade

A patogenicidade e a agressividade dos isolados fúngicos obtidos foi avaliada em frutos de banana (cv. Prata), no estágio de maturação 6 (Figura 5) (PBMH & PIF, 2006) e sem sintomas de doenças. Os frutos foram lavados em água corrente, desinfestados superficialmente em solução de NaOCl a 1% por 3 minutos e novamente lavados com água destilada esterilizada. Após a secagem, a epiderme de cada fruto foi perfurada em dois pontos equidistantes, à profundidade de 3 mm, com auxílio de alfinete esterilizado (Figura 6-A). Um disco de micélio (5 mm de diâmetro) de cada isolado foi removido da margem de colônia com 7 dias de crescimento em BDA e transferido para o ponto da epiderme ferida (Figura 6-B). Para a testemunha, foram utilizados discos de BDA não colonizados pelo fungo.

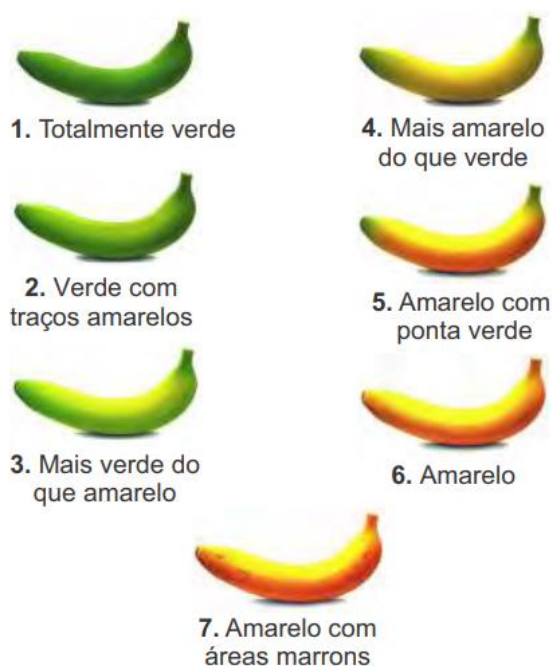


Figura 5. Escala de maturação de Von Loesecke. Fonte: PBMH & PIF, 2006.

Cada fruto foi colocado sobre uma tampa de placa de Petri esterilizada e depositado em bandeja plástica (28 cm x 19 cm x 11 cm) forrada com quatro camadas de papel toalha umedecidas (Figura 6-C). As bandejas foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em condições de laboratório. A ocorrência de sintomas das doenças foi avaliada após 72 horas da inoculação. Foi considerado patogênico o isolado que induziu sintomas em comparação à testemunha. Nos casos em que a patogenicidade foi confirmada, a agressividade dos isolados foi estimada pela mensuração do diâmetro da lesão (mm) induzida, com um auxílio de paquímetro digital (Figura 6-D). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições (frutos) por isolado. Para atender os postulados de Koch, os fungos foram reisolados dos frutos de banana.

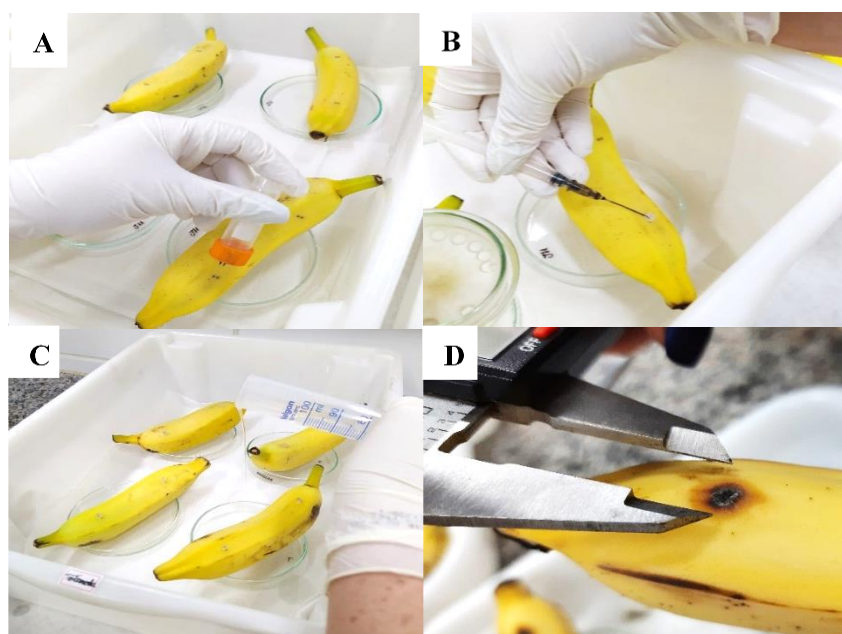


Figura 6. A- Injúria realizada antes da inoculação; B- Inoculação com disco de micélio; C- Preparação da câmara úmida; D- Medição das lesões.

3.2.9 Análise dos dados

Os dados obtidos no teste de agressividade foram utilizados para comparar os tamanhos das lesões induzidas pelos isolados, com a utilização do teste Scott&Knott ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Statistix v. 9.0 (Analytical Software, Tallahassee, EUA).

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Características morfológicas

Foram obtidos 16 isolados fúngicos que apresentavam colônias de coloração branco-cremoso, com manchas marrons esverdeada escura e micélios aéreos moderados, crescendo rapidamente e esporulando abundantemente após 15 dias. As hifas eram lisas, hialinas, ramificadas e septadas. As células conidiogênicas eram hialinas a marrom-pálidas e subglobosas a clavadas com vesículas hialinas entre os conídios e as células conidiogênicas. Conídios solitários, esféricos ou ligeiramente elipsoidais, pretos, brilhantes, lisos, asseptados, esféricos, elipsoidais (Figura 7). Os isolados foram classificados como *Nigrospora* spp., pois as características observadas coincidem com as características previamente descritas para este gênero (WANG *et al.*, 2017; KEE *et al.*, 2019).

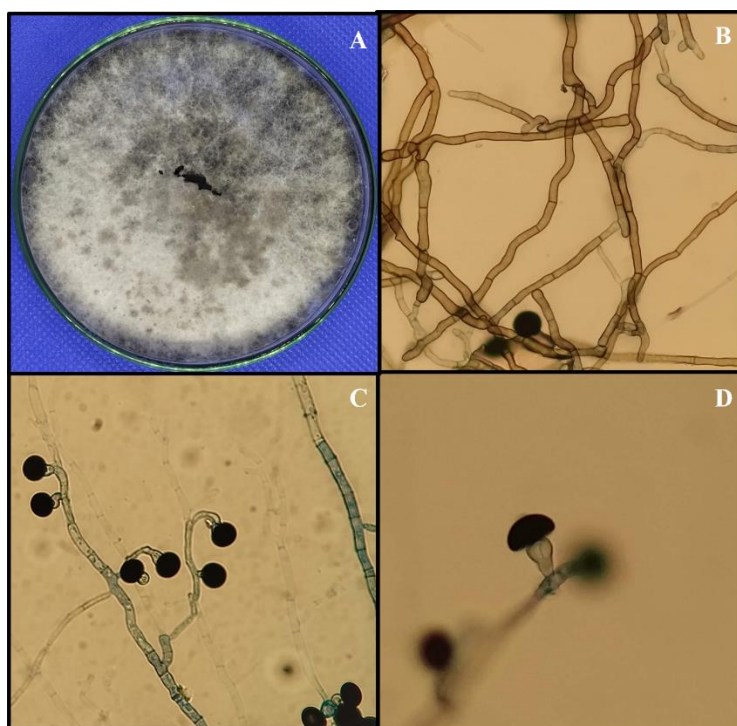


Figura 7. Características morfológicas dos isolados de *Nigrospora*. A – Colônia fúngica em meio BDA; B e C – Hifas e conídios; D – Célula conidiogênica e conídio.

As características culturais já foram bastante utilizadas para diferenciar isolados fúngicos causadores de podridão pós-colheita (PEREIRA; SILVA; RIBEIRO, 2006; ANDRADE *et al.*, 2007; SILVA, 2018). No entanto, estes parâmetros têm valor limitado

na determinação de espécies devido à sobreposição de características entre algumas espécies ou variação de características entre os isolados da mesma espécie (MARQUES *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2017).

Todos os isolados obtidos estão preservados na coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos do Cariri da Universidade Federal do Cariri.

3.3.2 Análise Filogenética

As sequências da região ITS e dos genes EF1- α e TUB2 dos 16 isolados desse trabalho foram comparadas com 30 sequências de isolados referência das espécies de *Nigrospora* mais intimamente relacionadas. A árvore construída com as sequências do gene EF1- α (dados não mostrados) foi altamente congruente com a árvore construída com as sequências concatenadas da região ITS e dos genes EF1- α e TUB2 (Figura 8). No entanto, as árvores construídas com as sequências da região ITS e do gene TUB2 (dados não apresentados) não foram totalmente congruentes.

Os isolados de *Nigrospora* obtidos da coroa de banana com sintomas de podridão se agruparam em dois clados distintos, com os isolados tipos das espécies *Nigrospora lacticolonia* e *Nigrospora hainanensis*. No entanto, a maioria dos isolados agruparam com *N. lacticolonia* e apenas o isolado D500 se agrupou com *N. hainanensis*.

N. lacticolonia e *N. hainanensis* foram relatadas recentemente. Wang *et al.*, (2017) ao reavaliar a filogenética de *Nigrospora* utilizando isolados obtidos de tecidos vegetais, doentes e saudáveis, coletados de vários hospedeiros em oito províncias Chinesas, relataram novas espécies do gênero que agora possui 27 espécies descritas. Nesse mesmo trabalho os autores comentam sobre a preferência das espécies de *Nigrospora* pelo gênero *Musa*, com o relato de dez espécies associadas à *Musa paradisíaca*.

N. lacticolonia possui poucos relatos até o momento, sendo relatada causando problemas apenas em *Camellia sinensis*, *Musa x paradisíaca* e *Saccharum officinarum* na China e em *Hylocereus polyrhizus* na Malaysia (FARR; ROSSMAN, 2020). Esse é o primeiro relato da ocorrência dessa espécie fúngica no Brasil.

Assim como a *N. lacticolonia*, *N. hainanensis* não é uma espécie comumente encontrada. Foi relatada apenas no Brasil, causando mancha em *Nopalea cochenillifera* (CONFORTO *et al.*, 2019), e na china, associada a *Musa x paradisíaca* e *Saccharum*

officinarum (WANG *et al.*, 2017). Esse é o primeiro relato desta espécie associada a *Musa* spp. no Brasil.

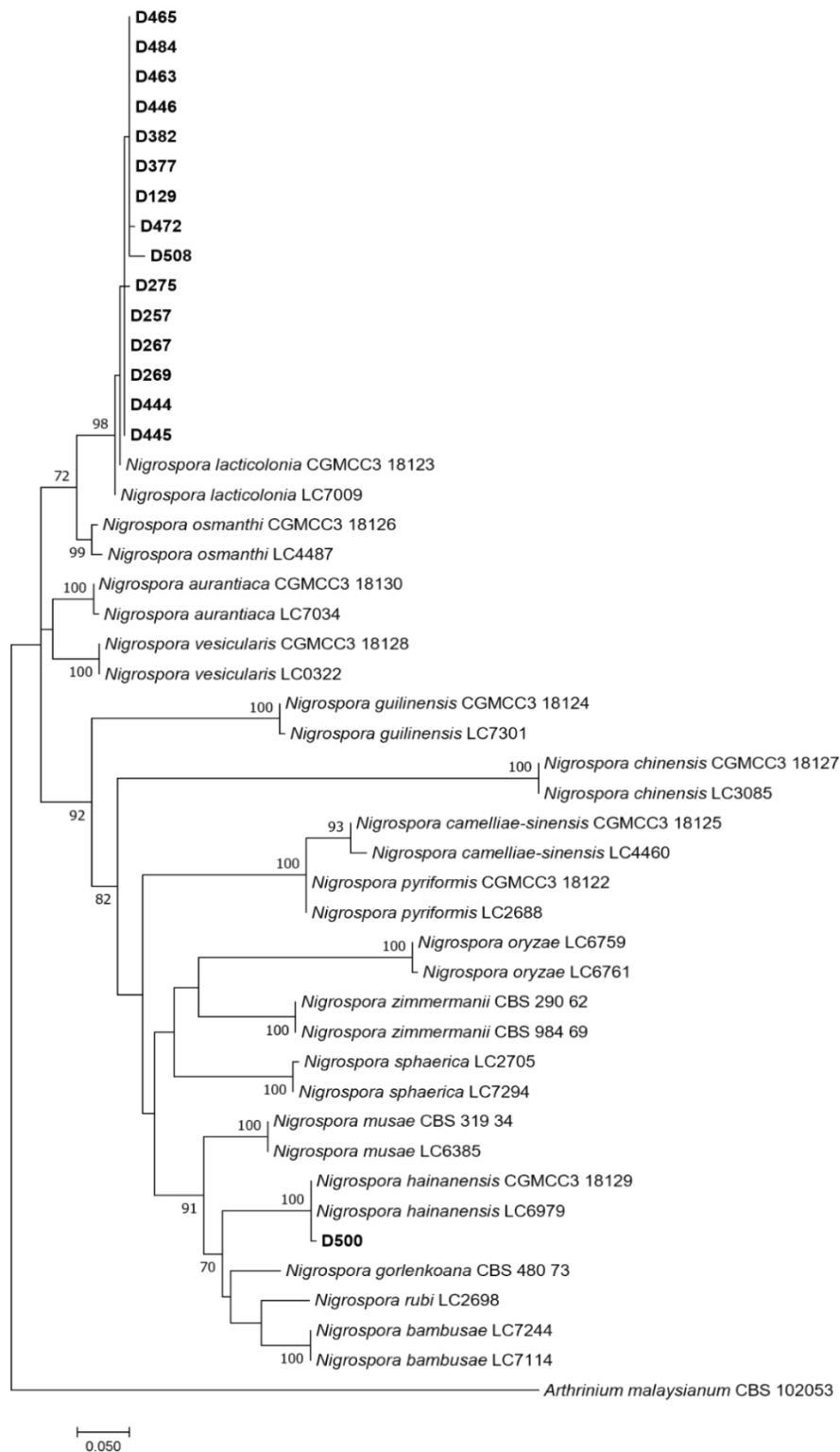


Figura 8. Árvore de máxima verossimilhança das espécies *Nigrospora* inferida do conjunto de dados combinado da região ITS e dos genes EF1- α e TUB2. Os valores de suporte de bootstrap fornecidos nos nós. Os isolados obtidos neste estudo estão indicados em negrito.

3.3.2 Teste de Patogenicidade

O teste de patogenicidade mostrou que todos os isolados de *Nigrospora* são patogênicos. Os sintomas consistiram em lesões necróticas, que foram observadas nos pontos inoculação do isolado. Tais sintomas não foram observados nos frutos utilizados como testemunha (Figura 9), confirmando a patogenicidade dos isolados inoculados.



Figura 9. Bananas utilizadas no teste de patogenicidade. A – Fruto não inoculado. B – Fruto inoculado com o isolado D508.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os isolados de *Nigrospora* em relação aos tamanhos das lesões induzidas em frutos de banana. Foram constatados quatro grupos de isolados quando considerado o tamanho das lesões. O isolado D508 induziu os maiores tamanhos de lesões, diferindo significativamente dos demais e sendo considerado o mais agressivo. Por outro lado, seis isolados (D129, D257, D267, D445, D465 e D500) foram considerados os menos agressivos, pois induziram os menores tamanhos de lesões, sem diferirem entre si.

Tabela 3 - Agressividade (tamanho de lesão) de isolados de *Nigrospora* associados a podridões nas coroas em bananas coletadas em unidades de beneficiamento de frutos no Cariri cearense, inoculadas em banana (cv. Prata) no estágio de maturação comercial.

Isolado	Tamanho da lesão (mm)*
D129	7,15 d
D257	7,37 d
D267	7,15 d
D269	7,70 c
D275	8,62 b
D377	8,19 c
D382	8,51 b
D444	9,09 b
D445	7,17 d
D446	7,95 c
D463	7,88 c
D465	7,31 d
D472	8,80 b
D484	8,27 c
D500	7,61 d
D508	10,59 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott&Knott (P=0,05).

Esse é o primeiro estudo que avalia a agressividade de isolados de espécies de *Nigrospora*. O conhecimento sobre a agressividade dos fungos associados às doenças pós-colheita é um aspecto importante a ser considerado para o entendimento da ação dessa comunidade no desenvolvimento dessas doenças. Variações na agressividade entre os táxons fúngicos associados às manchas necróticas dos frutos e às podridões da coroa da banana, como constatado nesse estudo, têm sido frequentes (MARIN *et al.*, 1996; LASSOIS *et al.*, 2010; KAMEL; CORTESI; SARACCHI, 2016; VIEIRA *et al.*, 2017).

Porém, com base nos resultados podemos observar que essa variável, assim como os caracteres morfológicos, não deve ser utilizada individualmente para caracterizar as espécies do gênero *Nigrospora*, já que os 16 isolados de *N. lacticolonía* caracterizados

nesse estudo formaram quatro grupos distintos quando considerado o tamanho da lesão induzida por eles em banana.

Anteriormente, *Nigrospora* era considerado um gênero fúngico de menor importância em banana, sendo frequentemente associado à elevada atividade saprofítica e reduzida agressividade (LASSOIS; LAPEYRE DE BELLAIRE, 2014; KAMEL; CORTESI; SARACCHI, 2016), no entanto, Silva (2018) verificou que isolados caracterizados morfológicamente como *Nigrospora*, obtidos de banana com sintomas de podridões pós-colheita, apresentaram níveis de agressividade similares aos isolados identificados como *Colletotrichum* e *Fusarium*.

Apesar da podridão da coroa ser uma das principais doenças pós-colheita da banana, existem poucos trabalhos abordando essa enfermidade. Os trabalhos existentes normalmente abordam os gêneros *Colletotrichum* e *Fusarium* como os principais fungos que causam doenças complexas pós-colheita de bananas (ZOEIR, H. A. *et al.*, 2017). O presente trabalho, assim como o realizado por Silva (2018), mostra a necessidade da realização de estudos abordando a podridão da coroa em banana, pois comprovam a ocorrência e patogenicidade de outros gêneros fúngicos associados a essa doença.

A ocorrência da podridão da coroa reduz a qualidade dos frutos, a vida de prateleira e de comercialização. Embora a qualidade da polpa raramente seja afetada, os frutos manchados são descartados devido aos defeitos e ao mau aspecto que apresentam, os quais levam os consumidores a rejeitá-los, resultando em baixas vendas e baixos preços (CORDEIRO, 2000; ROBINSON; SAÚCO, 2010). Considerando os danos e perdas ocasionados e o aumento de relatos de diferentes fungos associados a podridão da coroa, aumenta a necessidade de identificação precisa dos agentes causais nas áreas de produção de banana com elevada ocorrência da doença, já que esse é o primeiro passo para escolha de um controle adequado de doenças de plantas.

As espécies de *Nigrospora* estão amplamente distribuídas, com espécies associadas a mais de 40 hospedeiros e outras restritas a apenas um hospedeiro (WANG *et al.*, 2017). Esse é primeiro relato de espécies de *Nigrospora* caracterizadas geneticamente associadas a podridões pós-colheita em banana, indicando que as espécies do gênero têm a capacidade de infectar uma ampla gama de hospedeiro e que podem causar diferentes doenças em um mesmo hospedeiro.

3.4 Conclusões

- Espécies de *Nigrospora* são agentes causais da podridão da coroa em bananas produzidas na região do Cariri Cearense.
- *N. lacticolonia* e *N. hainanensis* causam podridão da coroa em bananas.
- *N. lacticolonia* é a espécie mais prevalente.
- Os isolados de *Nigrospora* agentes causais da podridão da coroa em bananas diferem entre si quanto a agressividade.
- *N. lacticolonia* está presente no Brasil ocasionando doença de planta
- *N. hainanensis* está presente no Brasil ocasionando doença em diferentes hospedeiros.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, E. M. *et al.* Caracterização morfo-cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 32, p. 21-31, 2007.
- ALVINDIA, D. G. *et al.* Symptoms and the associated fungi of postharvest diseases on non-chemical bananas imported from the Philippines. **Jpn. J. Trop. Agric.** v. 44, p. 87-93, 2000.
- BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. St. Paul: APS Press 2006. 241p.
- CARBONE, I.; KOHN, L. M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, v. 91, p. 553-556, 1999.
- CHEN Z, DONG Z, WEN J, *et al.* A new sesquiterpene from the endophytic fungus *Nigrospora sphaerica*. **Records of Natural Products**, Türkiye, v.10, p. 307–310, 2016.
- CONFORTO, C. *et al.* 2019. Characterization of fungal species associated with cladode brown spot on *Nopalea cochenillifera* in Brazil. **Eur. J. Pl. Pathol.** v. 155, n. 4, p. 1179-1194.
- CORDEIRO, Z. J. M. (Org.). **Banana**. Produção: aspectos técnicos Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. 143 p.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; MEISSNER FILHO, P. E. Doenças e métodos de controle. In: In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. (Eds.). O cultivo da bananeira. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 146-182.
- DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. 2. ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. 442 p.
- ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971. 608 p.
- ELLIS, M. B. **More dematiaceous hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1976. 507 p.
- FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. Fungus-host distribution database [online]. Beltsville: United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service, 2020. Disponível em: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>. Acesso em: 05 jun. 2020.
- GLASS, N. L.; DONALDSON, G. C. Development of primers sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous Ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 1323-1330, 1995.
- HAO, Y. *et al.* *Nigrospora* Species Associated with Various Hosts from Shandong Peninsula, China, **Mycobiology**, v. 48, n. 3, p. 169-183, 2020.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA) **Levantamento sistemático da produção agrícola - LSPA**. [online]. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>. Acesso em: 08 jan. 2021.

JONES DR, STOVER RH. 2000. Fungal diseases of banana fruit. In: Jones DR (ed), *Diseases of banana, abacá and enset*: 173–211. CABI publishing, Wallingford, UK.

KAMEL, M.; CORTESI, P.; SARACCHI, M. Source and spread of fungal pathogens causing crown rot disease in organic bananas. **Acta Horticulturae**, CIDADE, v. 1144, p. 253-258, 2016.

KEE, Y. J. *et al.* First report of reddish brown spot disease of red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) caused by *Nigrospora lacticola* and *Nigrospora sphaerica* in Malaysia. **Crop Protection**, Oxford v. 122, p. 165-170, 2019.

KRAUSS, U.; JOHANSON, A. 2000. Recent advances in the control of crown rot of banana in the Windward Islands. **Crop Protection**, Oxford, v. 19, p. 151-160, 2000.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 33, n. 7, p.1870-1874, 2016.

KWON, Y. *et al.* First report of *Nigrospora* sp. causing kiwifruit postharvest black rot, **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 45, n. 1, p. 75-79, 2017.

LASSOIS, L. *et al.* Crown rot of bananas: Preharvest factors involved in postharvest disease development and integrated control methods. **Plant Disease**, St. Paul, v. 94, p. 648-658, 2010

LASSOIS, L.; LAPEYRE DE BELLAIRE, L. **Crown rot disease of bananas**. In: BAUTISTA-BAÑOS, S. (Ed.). *Postharvest decay: control strategies*. Amsterdam, Elsevier, 2014. p. 103-130.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **Fusarium laboratory manual**. Ames: Blackwell, 2006. 388 p.

LI, L. *et al.* First Report of *Nigrospora sphaerica* Causing Kiwifruit Postharvest Rot Disease in China. **Plant Disease**, St. Paul, v. 102, n. 8, 2018 10.1094/PDIS-12-17-1886-PDN. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-12-17-1886-PDN>. Acesso em: 05 jun. 2021.

LIU Y. J, TANG Q, FANG L. 2015. First report of *Nigrospora sphaerica* causing leaf blight on *Camellia sinensis* in China. **Plant Disease**, St. Paul, v. 100, n. 221, 2015.

MARIN, D. H.; SUTTON, T. B.; BLANKENSHIP, S. M.; SWALLOW, W. H. Pathogenicity of fungi associated with crown rot of bananas in Latin America on Grande Naine and disease-resistant hybrid bananas. **Plant Disease**, St. Paul, v. 80, n. 5, p. 525-528, 1996.

MARQUES, M.W. *et al.* Species of *Lasiodiplodia* associated with mango in Brazil. **Fungal Divers.** V. 61, P. 181–193, 2013.

PAGE, R. D. M. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. **Computer Applications in the Biosciences**, v. 12, p. 357-358, 1996.

PBMH & PIF (PROGRAMA BRASILEIRO PARA A MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA & PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS). **Normas de classificação de banana**. São Paulo: CEAGESP, 2006. 7 p. (CEAGESP. Documentos, 29).

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização Fisiológica, Cultural e Patogênica de Diferentes Isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 31, p. 572-578, 2006.

PESSOA, W. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças da bananeira. In: OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. (Eds.). **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 539-553, 2006.

PHILLIPS, A. J. L.; ALVES, A.; ABDOLLAHZADEH, J.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. **Studies in Mycology**. Utrecht, v. 76, p. 51-167, 2013.

PLOETZ, R. C.; THOMAS, J. E.; SLABAUGH, W. R. Diseases of banana and plantain. In: PLOETZ, R. C. (Ed.). **Diseases of tropical fruit crops**. Wallingford: CAB International, 2003. p. 73-134

ROBINSON, J. C.; SAÚCO, V. G. **Bananas and plantains**. 2. ed. Wallingford: CAB International, 2010. 311 p.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, Chicago, v. 19, p. 1572-1574, 2003.

SILVA, J. A. **Frequência de fungos associados a doenças pós-colheita da banana no Cariri**. 2018. Monografia (Curso de Agronomia) – Universidade Federal do Cariri, Crato, 2018.

STADEN, R.; BEAL, K. F.; BONFIELD, J. K. The staden package, 1998. In: Misener, S.; Krawetz, S. A. (ed.). **Bioinformatics Methods and Protocols**. Totowa: Humana Press, 1998. p. 115-130.

SHARMA P, MEENA PD, CHAUHAN JS. First report of *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch causing stem blight on *Brassica juncea* in India. **Bioinformatics**, Chicago, v. 161, p. 439–441, 2013.

THOMPSON, J. D.; GIBSON, T.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F.; HIGGINS, D. G. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment

aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 25, n. 24, p. 4876-4882, 1997.

UZOR PF, *et al.* Metabolites from *Combretum dolichopetalum* and its associated endophytic fungus *Nigrospora oryzae* – evidence for a metabolic partnership. **Fitoterapia**, Novara, v. 105, p. 147-150, 2015.

YOUNG, N. D.; HEALY, J. GapCoder automates the use of indel characters in phylogenetic analysis. **BMC Bioinformatics**, Chicago, v. 4, n. 1, p. 6, 2003.

ZOEIR, H. A. *et al.* Effects of antifungal activity of essential oils, salts and antioxidants acids on pathogenic fungi and their application methods for controlling postharvest diseases in banana fruits. **African Journals Microbiology Research**, Ibadan, v. 11, n. 29, p. 1162-1170, 2017.

WANG, M. F. *et al.* Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: ubiquitous endophytes, plant and human pathogens. **Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi-Utrach.** v. 39, p. 118–142, 2017.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.** In: INNIS, M. A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J. (Eds.). PCR protocol: a methods and applications. San Diego: Academic Press, 1990. p. 315-322.

WATANABE, T. **Pictorial atlas of soil and seed fungi** - morphologies of cultured fungi and key to species. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2010. 397 p.

WU, SH. *et al.* Two new solanapyrone analogues from the endophytic fungus *Nigrospora* sp. YB-141 of *Azadirachta indica*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, p. 79-85, 2009.

4 CAPÍTULO II:
SEVERIDADE DA ANTRACNOSE EM BANANAS COLETADAS EM
DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO E ETAPAS DE BENEFICIAMENTO PÓS-
COLHEITA NO CARIRI CEARENSE

Submissão: Ciência Rural

Tipo de Publicação: Nota

Local: Santa Maria - RS, Brasil

JCR 2021 = 0,803

QUALIS/CAPES 2021: A4

Severidade da antracnose em bananas coletadas em diferentes épocas do ano e etapas de beneficiamento pós-colheita no Cariri cearense

Severity of anthracnose in bananas collected at different times of the year and postharvest processing steps in Cariri region, Ceará

Débora Cristina da Silva¹, Jadson Araújo da Silva², Felipe Araujo Sousa², José Ailton Cruz Macêdo do Santos², Eliane Mayumi Inokuti³, Sami Jorge Michereff³, Kamila Câmara Correia^{3*}

RESUMO

A bananicultura tem grande importância socioeconômica no Cariri cearense e esse estudo teve como objetivo monitorar a severidade da antracnose em bananas (cv. Prata) coletadas em três etapas no beneficiamento pós-colheita (despencamento, 1ª lavagem e 2ª lavagem) em casas de embalagem de quatro empresas produtoras (A, B, C e D), nos períodos úmido (fevereiro-maio) e seco (setembro-dezembro) de produção em 2019. Em cada casa de embalagem, foram coletadas 10 pencas de banana (12 frutos/penca) em cada etapa de beneficiamento e colocadas em câmara úmida. A severidade da antracnose foi avaliada quando os frutos apresentavam a casca totalmente amarela, com o auxílio de escala diagramática. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os níveis de severidade da doença entre as amostragens dentro do mesmo período do ano. Por outro lado, houve diferença significativa ($P \geq 0,05$) nos níveis de severidade da doença entre os períodos do ano e entre as etapas de beneficiamento pós-colheita. Na maioria das situações, a

¹Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas, Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Rio Largo, AL, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil.

³Centro de Ciências Agrárias e da Biodiversidade, Universidade Federal do Cariri (UFCA), Crato, CE, Brasil. E-mail: kamila.correia@ufca.edu.br. *Autor correspondente.

severidade da antracnose foi mais elevada no período úmido. Não foi constatado um padrão nos níveis de severidade da doença nas diferentes etapas de beneficiamento. No período seco, a empresa B apresentou maior severidade nos frutos coletados no despencamento (21%) e a empresa D na 2ª lavagem (43,8%). A empresa A teve maior severidade na 1ª lavagem (72,3%) no período úmido, enquanto no período seco no despencamento (23,1%). A ausência de um padrão na severidade da antracnose nas diferentes etapas de beneficiamento pós-colheita da banana pode estar associada às rotinas adotadas em cada área de produção.

Palavras-chave: *Musa* spp., casa de embalagem, *Colletotrichum musae*, epidemiologia.

ABSTRACT

Banana cultivation has great socio-economic importance in the Cariri region (state of Ceará). This study aimed to monitor the severity of anthracnose in bananas (cv. Prata) collected in three postharvest processing steps (dropping, 1st washing and 2nd washing) in packinghouses of four producing companies (A, B, C and D), in the wet (February-May) and dry (September-December) periods of production in 2019. In each packinghouse, 10 banana bunches (12 fruits/bunch) were collected in each postharvest processing step and placed in a humid chamber. The severity of anthracnose was evaluated when the fruits had completely yellow skin, with a diagrammatic scale. There was no significant difference ($P > 0.05$) in the levels of disease severity between samples within the same period of the year. On the other hand, there was a significant difference ($P \geq 0.05$) in the levels of disease severity between the periods of the year and the postharvest processing steps. In most situations, anthracnose severity was higher in the wet period. No found no pattern in anthracnose severity levels in the different processing steps. In the dry period, company B showed greater severity in the fruits collected in the

dropping (21%) and company D in the 2nd washing (43.8%). Company A had greater severity in the 1st wash (72.3%) in the wet period, while in the dry period in the falling off (23.1%). The absence of a pattern in anthracnose severity in the different postharvest processing stages of bananas may be associated with the routines adopted in each production area.

Key-words: *Musa* spp., packinghouse, *Colletotrichum musae*, epidemiology.

A bananicultura tem grande importância socioeconômica na região do Cariri cearense, onde mais de 3 mil hectares são destinados ao plantio, principalmente no município de Missão Velha, onde são produzidas cerca de 43.000 toneladas anuais de banana (IBGE, 2022).

As práticas de manejo na pós-colheita são determinantes para a qualidade da banana. Nas unidades de beneficiamento, também chamadas casas de embalagem, os cachos passam por várias etapas de beneficiamento. Inicialmente é realizado o despencamento dos cachos, com a utilização de facas curvas que facilitam o corte próximo da ráquis. Depois, as pencas são colocadas no primeiro tanque de lavagem, contendo água adicionada de detergente neutro a 0,1% e sulfato de alumínio a 0,5%. Em seguida, as pencas são colocadas em outro tanque, contendo água com detergente e sulfato de alumínio, como no tanque anterior. Nessa fase, as pencas são divididas em subpencas (buquês), com um mínimo de seis e máximo de 12 frutos unidos pela almofada (LICHTEMBERG et al., 2016).

Perdas de até 40% da banana produzida podem estar relacionadas à ocorrência de doenças na fase de pós-colheita, com destaque para a antracnose (MEDINA & PEREIRA, 2004), causada principalmente pelo fungo *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A. Curtis) Arx (VIEIRA et al., 2017).

Apesar da importância da antracnose da banana, inexistem informações sobre a severidade da doença em frutos coletados nas diferentes etapas de beneficiamento pós-colheita, motivo pelo qual esse estudo foi realizado em casas de embalagem de quatro empresas produtoras de banana (cv. Prata), localizadas em Missão Velha (A, B e C) e Brejo Santo (D), na região do Cariri cearense. As amostragens foram realizadas em 2019, nos períodos úmido (fevereiro-maio; precipitação pluviométrica total: 547,9 mm; FUNCEME, 2019) e seco (setembro-dezembro; precipitação pluviométrica total: 125,4 mm; FUNCEME, 2019), sendo efetuadas duas amostragens em cada período. Em cada casa de embalagem e amostragem foram coletadas 10 pencas de banana (12 frutos/penca) em cada uma das três etapas de beneficiamento pós-colheita: a) despencamento; b) primeira (1ª) lavagem; c) segunda (2ª) lavagem. Após a coleta, as pencas foram etiquetadas e transferidas para o laboratório. Neste, as pencas foram colocadas em câmara úmida, constituída de bandeja plástica contendo três camadas de papel toalha umedecidas com água esterilizada e depois cobertas por sacos plásticos. As bandejas foram mantidas em sala de incubação à temperatura de 25 ± 5 °C e alternância luminosa (12 horas claro/12 horas escuro). Após os frutos atingirem o estágio de maturação 6 (frutos com coloração de casca totalmente amarela), de acordo com escala de maturação de Von Loesecke (PBMH & PIF, 2006), as pencas foram retiradas das bandejas e os frutos avaliados individualmente quanto à severidade da antracnose, com o auxílio de escala diagramática variando de 0,5 a 64% de área do fruto lesionada (MORAES et al., 2008). Comparações das médias foram realizadas com testes não-paramétricos, sendo Wilcoxon dos postos assinalados (entre amostragens em cada período do ano e entre períodos do ano) e Kruskal-Wallis (entre etapas de beneficiamento), ao nível de 5% de probabilidade ($P=0,05$), com o auxílio do programa Statistix v. 9.0 (Analytical Software, Tallahassee, EUA).

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nos níveis de severidade da antracnose entre as amostragens dentro do mesmo período do ano, motivo pelo qual na análise dos dados foi considerada a média de cada período. Por outro lado, houve diferença significativa ($P \geq 0,05$) nos níveis de severidade da doença entre os períodos do ano para a maioria das casas de embalagem, bem como entre as etapas de beneficiamento pós-colheita (Figura 1).

Na maioria das situações, a severidade da antracnose foi mais elevada no período úmido (Figura 1), o que era esperado, pois os conídios de *C. musae* são formados sob condições de elevada umidade e dispersos pela chuva, primariamente dentro da mesma planta e posteriormente entre plantas. Além disso, a alta umidade é necessária para a infecção dos frutos pelo patógeno (PLOETZ et al., 2003).

No período úmido, as empresas B e D não apresentaram diferenças significativas nos níveis de severidade da doença entre as etapas de beneficiamento pós-colheita, mas houveram diferenças entre as etapas de beneficiamento no período seco em ambas empresas (Figura 1). A empresa B apresentou maior nível de severidade da doença nos frutos coletados na etapa de despencamento (21%), enquanto a empresa D na etapa de 2ª lavagem (43,8%). As empresas A e C apresentaram diferenças significativas nos níveis de antracnose entre as etapas do beneficiamento nos dois períodos do ano. Na empresa A, no período úmido a severidade da antracnose foi maior em frutos coletados na 1ª lavagem (72,3%) e menor no despencamento (27,7%). No período seco, a severidade foi maior no despencamento (23,1%), enquanto não houve diferença significativa entre as demais etapas. Na empresa C, no período úmido a severidade da antracnose foi menor em frutos coletados na 2ª lavagem (17,5%) que no despencamento (28,7%), sendo que esta não diferiu do constatado na 1ª lavagem (22,9%). No período seco, a severidade foi maior

na 2ª lavagem (24,8%) e não houve diferença significativa entre as demais etapas de beneficiamento pós-colheita (Figura 1).

Pelos resultados observados nas diferentes empresas, não é possível identificar um padrão único na severidade da antracnose nos frutos de banana coletados nas diferentes etapas de beneficiamento pós-colheita. A ausência desse padrão pode estar associada às diferenças de manejo adotadas em cada área de produção, como ensacamento dos cachos, retirada de restos florais e aplicação de fungicidas, tendo em vista que as áreas eram localizada na mesma zona climática e altitudes similares.

O patógeno infecta os frutos verdes no campo, formando apressórios melanizados na casca logo após a germinação dos conídios e permanece quiescente até o início da maturação (PLOETZ et al., 2003). Portanto, a severidade da antracnose na pós-colheita parecer ter relação direta com a intensidade da infecção no campo, não sendo influenciada pelo processamento pós-colheita, conforme constatado nesse estudo. A passagem dos frutos nos tanques de lavagem não exerce qualquer atividade antimicrobiana sobre *C. musae*, pois os produtos misturados à água (detergente e sulfato de alumínio) não têm atividade antifúngica e o microrganismo está protegido pelo estágio de quiescência (PRUSKY, 1996). Estudos devem ser realizados para analisar o efeito da adição de sanitizantes nos tanques de lavagem, como hipoclorito de sódio, sobre a severidade da antracnose da banana na pós-colheita.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pela Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP (Processo BP3-01-39-00096.01.00/18).

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram igualmente para a concepção e redação do manuscrito.

Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

REFERÊNCIAS

FUNCEME (FUNDAÇÃO CEARENSE DE METEOROLOGIA E RECURSOS HÍDRICOS). **Calendário de chuvas** – municípios. Fortaleza: Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos, 2019. Disponível em: <<http://www.funceme.br/app-calendarario/mensal/municipios/media/2019>>. Acesso em: 18. Mar. 2020.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Levantamento sistemático da produção agrícola - LSPA**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2022. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 30 Jan. 2022.

LICHTEMBERG, L.A. et al. Colheita, manuseio pós-colheita e conservação dos frutos. In: FERREIRA, C.F. et al. **O agronegócio da banana**. Brasília: Embrapa, 2016. Cap.19, p.645-694.

MEDINA, V.M.; PEREIRA, M.E.C. Pós-colheita. In: BORGES, A.L.; SOUZA, L.S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. Cap.12, p.209-231.

MORAES, W.S. et al. Quimioterapia de banana ‘Prata anã’ no controle de podridões pós-colheita. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, p.79-84, 2008. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/v75_1/moraes.pdf>. Acesso em: 20 Abr. 2019. doi: 10.1590/1808-1657v75p0792008.

PBMH & PIF (PROGRAMA BRASILEIRO PARA A MODERNIZAÇÃO DA HORTICULTURA & PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS). **Normas de classificação de banana**. São Paulo: CEAGESP, 2006. (CEAGESP. Documentos, 29). Disponível em: <<https://www.ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2015/07/banana.pdf>>. Acesso em: 15 Fev. 2019.

PLOETZ, R.C. et al. Diseases of banana and plantain. In: PLOETZ, R.C. **Diseases of tropical fruit crops**. Wallingford: CABI Publishing, 2003. Cap.4, p.73-134.

PRUSKY, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.34, p.413-434, 1996. Available from: <<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.phyto.34.1.413>>. Accessed: 5 Aug. 2021. doi: 10.1146/annurev.phyto.34.1.413.

VIEIRA, W.A.S. et al. The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with *Musa*, **Mycologia**, Bronx, v.109, n.6, p.912-934, 2017. Available from: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00275514.2017.1418577>>. Accessed: 5 Aug. 2021. doi: 10.1080/00275514.2017.1418577.

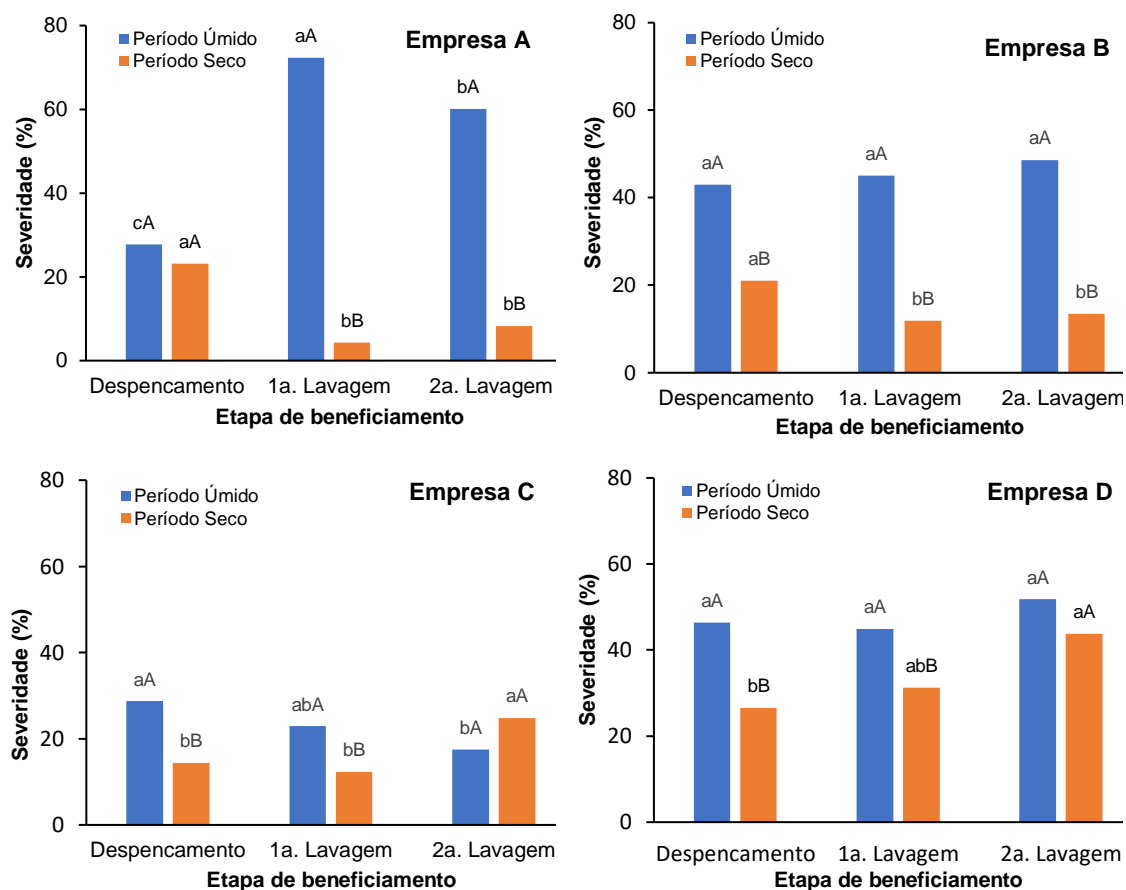


Figura 1 – Severidade da antracnose em bananas coletadas em diferentes etapas de beneficiamento pós-colheita em quatro empresas produtoras no Cariri cearense (A, B, C e D) e dois períodos do ano (úmido e seco). Dentro de cada empresa, médias (colunas) seguidas pela mesma letra minúscula dentro de cada etapa de beneficiamento, bem como colunas seguidas pela mesma letra maiúscula dentro de cada período do ano, não diferem significativamente entre si ($P=0,05$).

Revista Ciência Rural

Instruções aos autores

Objetivo e política editorial

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria, artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias que precisam ser médicos com exclusividade.

Preparação de Originais

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados preferencialmente em idioma inglês. Os encaminhados em português que serão traduzidos após a 1ª rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso não traduzidos nesta etapa e se necessário para publicar, deve que seja obrigatoriamente traduzidos para o Inglês por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente deve que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação no CR.

Empresas credenciadas:

- American Journal Experts (<http://www.journalexperts.com/>)
- Edição científica da Bioedit (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>)
- Editage (<http://www.editage.com.br/>) Desconto de 10% para clientes CR. Informe o código Crural10.
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>) Informe a CIRURAL para tarifas especiais.
- GlobalEdico (<http://www.globaledico.com/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>)
- Paulo Boschov (paulo@bridgetextos.com.br, bridge.textecn@gmail.com)
- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)
- Readytopub (<https://www.readytopub.com/home>)

O trabalho após tradução e o respectivo certificado devem ser enviados para: rudiweiblen@gmail.com

Como despesas de tradução por conta dos autores. Todas as linhas devem ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deve ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem. Tendo em vista o formato de publicação eletrônica estaremos considerando manuscritos com páginas adicionais além dos limites acima. No entanto, os trabalhos escritos que possuírem páginas do estipulado obrigam um custo adicional para a publicação (vide táxons).

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes seguintes: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Resumo; Palavras-chave; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; O Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente, pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

4. A revisão bibliográfica (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Resumo; Palavras-chave; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; O Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente, pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

5. A nota (Modelo .doc, .pdf) deverá conter os seguintes: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Resumo; Palavras-chave; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento (s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; O Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão. Alternativamente, pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. O preenchimento do campo "cover letter" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, exceto para artigos publicados em português (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser relatados em inglês).

- a) What is the major scientific accomplishment of your study?
- b) The question your research answers?
- c) Your major experimental results and overall findings?
- d) The most important conclusions that can be drawn from your research?
- e) Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte tutorial.

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontrados-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em inglês) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto nenhum caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser usado estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais áreas quando disponíveis.

9. As citações dos autores, no texto, must be feita com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. Nesse link é disponibilizado o arquivo de estilo para uso com o software EndNote (o EndNote é um software de gerenciamento de referências, usado para gerenciar bibliografias ao escrever ensaios e artigos). Também é disponibilizado nesse link o arquivo de estilo para uso com o software Mendeley.

11. As Referências devem ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

11.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. A prática da cirurgia de grandes animais. Philadelphia: Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros. Manaus: INPA, 1979. 95p.

11.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. Uma patologia comparativa da tireóide. In: HAZARD, J.B .; SMITH, D.E. A tireóide. Baltimore: Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

11.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. A estimativa do tamanho da amostra. No: _____. Técnicas de amostragem. 3.ed. Nova York: John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S .; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. No: _____. Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte. São Paulo: Roca, 1985. p.29-40.

11.4. Artigo completo:

O autor deve acrescentar um url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI, conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I .; ULRICHS, CH. Ação da terra diatomácea amorfa contra diferentes estágios das pragas do produto armazenado *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) e *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Product Research, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)> . Acesso em: 18 de março de 2002. doi: 10.1016 / S0022-474X (00) 00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes

concentrações de terra diatomácea em trigo armazenado a granel. *Ciência Rural*, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008 Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 18 mar. 2009. doi: 10.1590 / S0103-84782008000800002.

SENA, D. A. et al. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho cv. 'Sertanejo'. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 47, n. 3, e20150705, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300151&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 18 mar. 2017. Epub 15-dez-2016. doi: 10.1590 / 0103-8478cr20150705 (Artigo publicado eletronicamente).

11.5. Currículos:

RIZZARDI, M.A .; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. Anais ... Santa Maria: Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236. (OBS .: tentar evitar esse tipo de citação).

11.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad). 1986. 132f. Monografia / Dissertação / Tese (Especialização / Mestrado / Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria. (OBS .: tentar evitar esse tipo de citação).

11.7. Boletim:

ROGIK, F.A. Indústria da lactose. São Paulo: Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20). (OBS .: tentar evitar esse tipo de citação).

11.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e / ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a information.

11.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico. São Paulo: Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD. (OBS .: tentar evitar esse tipo de citação).

GRIFON, D.M. Diagnóstico artroscópico de displasia do cotovelo. In: CONGRESSO VETERINÁRIO MUNDIAL DE PEQUENOS ANIMAIS, 31., 2006, Praga, República Tcheca. Proceedings... Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Conectados. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>>. Acesso em: 18 mar. 2005 (OBS .: tentar evitar esse tipo de citação).

UFRGS. Transgênicos. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Conectados. Disponível em: <<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>>. Acesso em: 18 mar. 2001 (OBS .: tentar evitar esse tipo de citação).

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevenção da perda óssea na pós-menopausa por doses baixas e convencionais de calcitriol ou estrogênio equino conjugado. *Maturitas*, (Irlanda), v.34, n.2, p.179-184, 15 de fevereiro de 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Conectados. Disponível em: <<http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>>. Acesso em: 18 mar. 2007.

MARCHIONATTI, A .; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. Anais ... Corrientes: Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC. (OBS .: tentar evitar esse tipo de citação).

12. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão a ordem de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

13. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de responsabilidade do (s) autor (es).

14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não para atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente pode ser utilizado.

15. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

17. Os artigos não vinculados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicado antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

19. Todos os artigos encaminhados devem pagar uma taxa de tramitação. Artigos reencaminhados (com decisão de Rejeitar e Resubmit) devem pagar uma taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por decurso de prazo não obterá uma taxa de tramitação reembolsada.

20. Todos os artigos encontrados passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa “Cross Check”.

Critérios de avaliação

Todos os trabalhos publicados são examinados pela equipe CR, comitê editorial e de área e então enviados a dois avaliadores ad hoc no mínimo. As revisões são submetidas normalmente para três consultores ad hoc.