

CONTROLE EM PÓS-COLHEITA DE *Penicillium digitatum* EM LARANJA-PERA COM MICRORGANISMOS E TRATAMENTO TÉRMICO¹

CASSIANO FORNER², WAGNER BETTIOL³,
LENICE MAGALI DO NASCIMENTO⁴, DANIEL TERAQ⁵

RESUMO- O mercado consumidor está exigindo alimentos sem a presença de resíduos de agrotóxicos. Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar o controle do bolor verde, em laranjas-Pera, com agentes de biocontrole (*Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* (QST 713)), associados ou não ao tratamento térmico. Para tanto, os frutos foram adquiridos em “packinghouse” antes do processamento, sendo lavados e desinfestados com hipoclorito de sódio. Os frutos submetidos a esses tratamentos foram armazenados, por 11 a 28 dias, em temperatura de 10 °C e UR 90%±5 ou por oito dias a 20 °C e UR 90%±5. De modo geral, o tratamento térmico reduziu a severidade da doença determinada pela área abaixo da curva do progresso da doença nos frutos e a incidência natural de doenças em pós-colheita de laranja-Pera. Por outro lado, os agentes de biocontrole não controlaram a doença, mostrando que os organismos testados não apresentaram atividade curativa contra o bolor verde.

Termos de indexação: Bolor verde, controle biológico, controle físico, citros.

POSTHARVEST CONTROL OF *Penicillium digitatum* IN PERA ORANGE TREES WITH MICROORGANISMS AND HEAT TREATMENT

ABSTRACT- The consumer market demands food without pesticide residues. Therefore, this study focused on evaluating the control of green mold in Pera orange trees with biocontrol agents (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* (QST 713)), associated or not with heat treatment. The fruit was obtained in packinghouse before processing, being washed and disinfected with the use of Sodium Hypochlorite. Fruits submitted to these treatments were stored from 11 to 28 days at temperature of 10 °C and RH 90%±5 or for eight days at 20 °C and 90%±5. In general, the heat treatment reduced the disease severity determine by the area under the disease progress curve in the fruit and the incidence of natural postharvest disease in Pera oranges. On the other hand, biocontrol agents did not control the disease, showing that the organisms tested did not present curative activity against the green mold.

Index terms: Green mold, biological control, physical control, citrus.

INTRODUÇÃO

Doenças em pós-colheita reduzem a quantidade e a qualidade de frutos comercializáveis e, em citros, podem provocar grandes perdas. No Brasil, dentre as doenças em pós-colheita dos citros, o bolor verde (*Penicillium digitatum*) é a principal. Seu controle é realizado com fungicidas, e isolados resistentes do patógeno são relatados (TEIXIDÓ et al., 2001), algumas vezes simultânea a mais de um fungicida (KINAY et al., 2007).

O tratamento térmico, antes do armazenamento, é uma alternativa aos fungicidas, tanto inibindo o crescimento do patógeno, como ativando os mecanismos de resistência do fruto (NAFUSSI et al., 2001). Em frutos de *Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*, a combinação de diferentes temperaturas e tempos de exposição (56; 59; 62 e 65 °C por 1; 2 e 3 minutos) reduziu a incidência do bolor verde, apresentando ação fungistática, pois com o tempo de armazenamento ocorreu aumento da incidência da doença (KYRIACOU, 2011). O tratamento térmico

¹(Trabalho 215-12). Recebido em:05-07-2012. Aceito para publicação em: 05-12-2012.

²Eng. Agr., doutorando do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP). Rua José Barbosa, nº 1780, CEP: 18610-307, Botucatu-SP. Bolsista CNPq. E-mail: forner687@hotmail.com

³Eng. Agr. Doutor, Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente. Rodovia SP 340 – Km 127,5, caixa postal 69, CEP: 13820-000, Jaguariúna-SP. Bolsista CNPq. E-mail:wagner.bettiol@embrapa.br

⁴Bióloga, Doutora, Pesquisadora do Centro de Citricultura Sylvio Moreira, IAC. Rodovia Anhangüera, km 158, caixa postal 04, CEP: 13490-970, Cordeirópolis-SP. E-mail: lenice@centrodecitricultura.br

⁵Eng. Agr., Doutor, Pesquisador da Embrapa Semiárido. BR 428, Km 152, caixa postal 23, CEP: 56302-970, Petrolina-PE. E-mail: daniel.terao@embrapa.br

(56; 59 e 60 °C), por lavagem rápida (20 segundos), com simultânea escovação de toranjas Star Ruby, desinfestou os frutos e redistribuiu a cera epicuticular, selando rachaduras, que são as portas de entrada para o patógeno, e dessa forma, reduzindo a incidência de *P. digitatum* (PORAT et al., 2000).

O biocontrole de doenças em pós-colheita é um método que pode substituir os fungicidas químicos (SHARMA et al., 2009). *Candida sake* (CPA-1) (USALL et al., 2000), *Candida famata* (F35) (ARRAS, 1996), *Pantoea agglomerans* (CPA-2) (TEIXIDÓ et al., 2001; PLAZA et al., 2004; USALL et al., 2008), *Saccharomycopsis schoenii* (UWO-PS 80-91) (PIMENTA et al., 2008), *Pseudomonas* spp. (P39, P40 e P41) (ZAMANI et al., 2008) e *Bacillus* spp. (LEELASUPHAKUL et al., 2008) são exemplos de antagonistas eficientes em pós-colheita contra diversos fitopatógenos.

Em laranja Valência, *Bacillus subtilis* (PPCB001) e *Bacillus amyloliquefaciens* (PPCB004), associados às embalagens com atmosfera modificada, reduziram a incidência de *Penicillium crustosum*, sendo a produção de compostos voláteis um dos mecanismos relacionados ao controle (ARREBOLA et al., 2010c). *Bacillus amyloliquefaciens* (PPCB004) também produz lipopeptídeos, principalmente iturina A, capazes de inibir patógenos *in vitro* e em frutos cítricos (ARREBOLA et al., 2010a). Esse mesmo isolado reduziu a incidência e a severidade da antracnose e da podridão causada por *Phomopsis* em mamão (OSMAN et al., 2011). Ainda apresentou efeito protetor em pêssego, reduzindo a incidência e a severidade de *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* e *Rhizopus stolonifer* (ARREBOLA et al., 2010b). Em frutos de maçã, as fengicinas produzidas por *B. subtilis* (GA1) foram associadas ao controle de *B. cinerea* (TOURÉ et al., 2004). Células vegetativas de *B. subtilis* (M4) reduziram a podridão causada por *B. cinerea* em maçã, em tratamento 24 h antes da inoculação do patógeno, e o controle foi atribuído às fengicinas (ONGENA et al., 2005).

As combinações do tratamento térmico, com agentes de biocontrole, como *Bacillus* spp., que são resistentes a altas temperaturas, pode ser uma alternativa de manejo de doenças em pós-colheita de frutos. O tratamento de laranja Valência e Shamouthi com *B. subtilis* (F1, L2 ou L2-5) foi potencializado quando associado com tratamento térmico a 45 °C, por 2 minutos, comparado a cada tratamento separadamente no controle dos bolores azul e verde (OBAGWU e KORSTEN, 2003). Considerando esses aspectos, o objetivo do presente estudo foi analisar os efeitos da associação de tratamento térmico, por imersão em água quente, e biológico, com *Bacillus subtilis*

e *Bacillus licheniformis*, no controle de *P. digitatum* em laranja-Pera.

MATERIAL E MÉTODOS

Laranjas-Pera adquiridas em “packinghouse” da cidade de Engenheiro Coelho – SP, foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio e lavadas com água corrente, imediatamente após a colheita.

O isolado de *P. digitatum* foi obtido de laranjas-Pera adquiridas em supermercado de Jaguariúna-SP. Após a confirmação da patogenicidade, o isolado foi multiplicado em meio batata-dextrose-ágar (BDA) e incubado por 10 dias, a 24±1 °C, para a produção de inóculo. Os agentes de biocontrole utilizados foram: *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* (QST 713). Como fungicida-padrão, foram utilizados o imazalil ou o tiabendazol.

Controle de *P. digitatum* em pós-colheita de frutos de laranja com bioagentes e tratamento térmico seguido de armazenamento a 10 °C

Para cada tratamento, foram usados 54 frutos em três repetições de 18 frutos. A inoculação do patógeno foi em ferimentos realizados com auxílio de um prego, em 3 mm de diâmetro e 4 mm de profundidade, em dois pontos equidistantes na região equatorial dos frutos. As lesões foram inoculadas com 10 µL de uma suspensão (1×10^6 conídios mL⁻¹) de *P. digitatum*, permanecendo os frutos em repouso por, aproximadamente, uma hora, para a absorção da suspensão. Em seguida, os frutos foram tratados com água (testemunha), fungicida imazalil (100 g i.a. 100 L⁻¹ de água), *B. subtilis* (3×10^8 UFC mL⁻¹), *B. licheniformis* (3×10^8 UFC mL⁻¹) e *B. subtilis* QST 713 (1×10^6 UFC mL⁻¹), com e sem tratamento térmico.

Para o tratamento com os produtos, os frutos foram imersos por 2 minutos nas respectivas suspensões, quando não foi realizado o tratamento térmico. Para o tratamento térmico, os frutos foram imersos por 2 minutos em água a 52 °C, em um banho com circulação forçada, sendo que, para os tratamentos com *Bacillus*, esses agentes foram misturados no banho térmico. Imediatamente após o banho térmico, os frutos foram imersos em água em temperatura ambiente, para resfriamento, por 2 minutos. No tratamento com fungicida + tratamento térmico, inicialmente, foi realizado o tratamento térmico, resfriamento e, posteriormente, a imersão dos frutos por 2 minutos, em suspensão com fungicida. Quando realizado apenas o tratamento térmico, os frutos foram tratados termicamente e resfriados. Em

seguida, os frutos foram secados em temperatura ambiente e armazenados em temperatura de 10 °C e umidade relativa de 90%±5.

As avaliações foram realizadas diariamente, a partir do 4º dia após a inoculação, durante sete dias. A medição do diâmetro das lesões foi realizada com auxílio de um paquímetro digital. Os resultados foram convertidos em severidade pelo cálculo da porcentagem do comprimento do fruto lesionado. Com esses dados, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) pela fórmula proposta por Shaner e Finney (1977). O experimento foi repetido duas vezes, utilizando-se do mesmo lote de laranjas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 5 (com ou sem tratamento térmico x bioagentes e fungicida).

Incidência natural de doenças em pós-colheita de laranjas-Pera após tratamento térmico e com agentes de biocontrole

A incidência natural de doenças em pós-colheita foi determinada em três repetições de 56 frutos, que foram tratados conforme descrito anteriormente, e armazenados a 10 °C e umidade relativa de 90%±5. A porcentagem total de frutos com podridões de ocorrência natural foi determinada após 28 dias de armazenamento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 5 (com ou sem tratamento térmico x agentes de biocontrole e fungicida).

Controle de *P. digitatum* com bioagentes e tratamento térmico em laranjas-Pera armazenadas a 20 °C

Neste estudo, foram avaliados os tratamentos: testemunha (frutos imersos em água), fungicida tiabendazol (485 g i.a. 100 L⁻¹), *B. subtilis* (1,6 x 10⁸ UFC mL⁻¹), *B. licheniformis* (1,6 x 10⁸ UFC mL⁻¹) e *B. subtilis* QST 713 (1 x 10⁶ UFC mL⁻¹), em combinação ou não com tratamento térmico. O método de inoculação de *P. digitatum* foi semelhante ao descrito anteriormente. Para cada tratamento, foram utilizadas três repetições de cinco frutos, sendo os tratamentos realizados duas horas após a inoculação. O tratamento seguiu a mesma metodologia descrita anteriormente e, após os tratamentos, os frutos foram incubados a 20 °C e UR de 90%±5. O diâmetro das lesões foi avaliado após três dias da inoculação, por um período de cinco dias. As avaliações e a obtenção da AACPD seguiram a metodologia descrita anteriormente. O ensaio foi repetido duas vezes, com dois lotes diferentes de frutos. No segundo ensaio, os frutos estavam em estágio de maturação mais

avançado. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 5 (com ou sem tratamento térmico x agentes de biocontrole e fungicida).

Controle de *P. digitatum* com tratamento térmico e aplicação dos bioagentes após o resfriamento de laranjas-Pera armazenadas a 20 °C

Utilizando o mesmo delineamento e tratamentos do ensaio anterior, dois outros foram realizados com a aplicação dos bioagentes após o resfriamento dos frutos por 2 minutos, quando realizado o tratamento térmico. Para os dois ensaios, utilizou-se o mesmo lote de frutos, em estágio avançado de maturação, sendo armazenados a 20 °C e UR de 90%±5 após os tratamentos. As avaliações foram realizadas após três dias da inoculação e por um período de cinco dias, conforme descritas anteriormente. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 5 (com ou sem tratamento térmico x agentes de biocontrole e fungicida).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para a análise dos experimentos com incidência natural das doenças, os dados foram transformados em $\arcsen(x/100)^2$. O software Assistat 7.6 foi utilizado para análise estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos ensaios com o controle de *P. digitatum* em pós-colheita de frutos de laranja com *Bacillus* e o tratamento térmico, seguido de armazenamento a 10 °C, a AACPD foi reduzida pelo tratamento térmico em todos os tratamentos (Figura 1A), no primeiro experimento. Entretanto, no segundo ensaio, o tratamento térmico reduziu a doença apenas na testemunha (Figura 1B). Os agentes de biocontrole, associados ou não ao tratamento térmico, reduziram a AACPD apenas no primeiro ensaio (Figuras 1A e 1B). No primeiro ensaio, o *B. subtilis* (QST 713) apresentou melhor resultado entre os bioprodutos aplicados na redução da AACPD, seguido por *B. subtilis* e *B. licheniformis*. Quando associado com o tratamento térmico, todos os produtos biológicos tiveram ação melhorada, com destaque para o *B. licheniformis* e *B. subtilis* (QST 713) (Figura 1A). Na segunda repetição do ensaio, os agentes de biocontrole não exerceram controle, tanto quando aplicado isolado ou associado ao tratamento térmico

(Figura 1B).

No ensaio objetivando o controle de *P. digitatum* com *Bacillus* e o tratamento térmico em laranjas-Pera, armazenadas a 20 °C, o tratamento térmico reduziu a AACPD, nos dois ensaios, mas os agentes de biocontrole não foram eficientes em controlar a doença (Figura 2). No primeiro ensaio, ocorreu interação em que o tratamento térmico reduziu a AACPD em todos os tratamentos, exceto quando associado ao fungicida (Figura 2A). No segundo ensaio, não ocorreu interação, mas o tratamento térmico também reduziu a doença (Figura 2B).

Já no ensaio do controle de *P. digitatum* com tratamento térmico, com aplicação dos *Bacillus* após o resfriamento de laranjas-Pera, armazenadas a 20 °C, ocorreu interação entre os fatores no primeiro ensaio, porém não no segundo. O tratamento térmico reduziu a doença quando aplicado isoladamente nos dois ensaios (Figura 3). Em ambos os ensaios, os agentes de biocontrole não reduziram a AACPD (Figura 3).

O potencial do tratamento térmico no controle de *P. digitatum* em pós-colheita é reconhecido (NAFUSSI et al., 2001; KYRIACOU, 2011), e os resultados do presente trabalho (Figuras 1; 2 e 3) confirmaram essas informações. Nafussi et al. (2001) verificaram que a imersão de limões em água a 52-53 °C, por 2 minutos, um ou dois dias após a inoculação do patógeno, inibiu em 100 e 90%, respectivamente, o bolor verde por até seis dias. Similarmente, Rodov et al. (2000) verificaram que o tratamento com água a 52 °C, por 2 minutos, ou o tratamento de cura (36 °C por 72 h) reduziram a incidência de doenças em pós-colheita, principalmente as causadas por *Penicillium*, após 15 semanas de armazenamento, em toranja. A redução na incidência de bolor verde, em tangerina Minneola, laranja Shamouti e toranja Star Ruby orgânicas, após a lavagem por 20 segundos com água a 56 °C e escovação simultânea, foi verificada por Porat et al. (2000). Esses resultados mostram que o tratamento térmico pode ser utilizado dentro de uma estratégia, para a redução de resíduos de fungicidas em frutos cítricos e, inclusive, obter o desejado resíduo zero de pesticidas em frutos. É importante considerar a eficiência do tratamento térmico na redução da incidência natural de doenças nas frutas (Figura 4).

Embora o tratamento térmico tenha reduzido o progresso da doença, foi demonstrado no presente trabalho que ele não evitou a ocorrência da doença (Figuras 1; 2 e 3). No entanto, diminuiu consideravelmente. Similarmente, o tratamento térmico a 52 °C, 55 °C e 60 °C por, respectivamente, 120; 60 e 20 segundos, reduziu o desenvolvimento

dos bolores verde e azul em tangerinas Satsuma, armazenadas por 21 dias a 5 °C e sete dias a 18 °C (HONG et al., 2007). O tratamento térmico não causou a morte total dos conídios de *Penicillium*, pois o tratamento desses a 52-53 °C, por dois minutos, seguidos da inoculação em limões, não preveniu a ocorrência da doença, mas atrasou seu desenvolvimento (NAFUSSI et al., 2001). Porat et al. (2000) verificaram que os conídios de *P. digitatum* têm a germinação inibida quando submetidos às temperaturas de 59 e 62 °C, por 15 a 20 segundos, enquanto a 56 °C, por 20 segundos, atrasa a germinação. Assim, o tratamento térmico não é curativo, mas, sim, fungistático e não persistente (PALOU et al., 2002). Portanto, a temperatura do tratamento térmico utilizada no presente trabalho não foi suficiente para erradicar o fitopatógeno, mas possivelmente reduziu a pressão inicial de inóculo e retardou o progresso da doença. Esse conhecimento é importante no desenvolvimento de estratégia de controle da doença, indicando a necessidade de associação com outros métodos de controle. Para tanto, há necessidade de encontrar efetivos agentes de biocontrole ou produtos biocompatíveis.

O tratamento térmico pode ter reduzido a AACPD pela indução de resistência nos frutos, conforme verificado por Perotti et al. (2011), que observaram mudanças no metabolismo de laranjas Valência tratadas termicamente por 48 h a 37 °C e UR de 90%, seguido de 24 h a 20 °C, que levaram a um menor grau de suscetibilidade do fruto contra patógenos fúngicos. Segundo Nafussi et al. (2001), frutos de limão, feridos, inoculados e tratados com água a 53 °C apresentaram aumento do depósito de lignina no sítio de inoculação. Adicionalmente, frutos tratados em banho térmico, dois dias após a inoculação com *P. digitatum*, apresentaram aumento de escoparina e escopoletina. Os autores alertam que a síntese de lignina e fitoalexinas somente é estimulada pelo tratamento térmico, se presentes ferimentos ou patógenos nos frutos.

Normalmente, os agentes de biocontrole em pós-colheita não apresentam ação curativa, mas proporcionam proteção dos frutos contra novas infecções. Assim, associar outros métodos de controle ao biológico é necessário para obter sucesso prático de controle da doença. Entretanto, de forma geral, os estudos são desenvolvidos apenas utilizando um dos métodos de controle.

A eficiência de bactérias do gênero *Bacillus* no controle de doenças de plantas é discutida por Arrebola et al. (2010abc). Em pós-colheita, Hao et al. (2011) verificaram redução na incidência das doenças causadas por *P. digitatum* e *P. italicum*,

quando os frutos de tangerina foram tratados com *Bacillus amyloliquefaciens* (HF-01), antes da inoculação dos patógenos. Leelasuphakul et al. (2008) verificaram que endósporos de *B. subtilis* (155) ou seus metabólitos reduziram a incidência de severidade e retardaram o início do aparecimento dos sintomas do bolor verde em frutos cítricos. O controle só ocorreu quando os frutos foram tratados antes (melhor ação de endósporos) ou junto (melhor ação dos metabólitos secundários) da inoculação com patógeno. Quando tratado 24 h após a inoculação com o patógeno, ocorreu elevada incidência da doença. Segundo os autores, isso se deve aos endósporos necessitarem de um período para iniciarem as atividades, enquanto os metabólitos estão prontamente ativos. Esses resultados estão de acordo com o do presente trabalho, pois todos os produtos utilizados continham endósporo de *Bacillus* (Figuras 1; 2 e 3).

A importância do momento do tratamento com esses organismos pode ser verificada no trabalho de Arrebola et al. (2010a). Esses autores demonstraram que a aplicação de *B. amyloliquefaciens* (PPCB004) em frutos de laranja, 24 h antes ou depois da inoculação com os patógenos, apresentou controle diferenciado, variando com o patógeno. Para *Colletotrichum gloeosporioides*, a aplicação, após a inoculação, apresentou melhor controle. Para *P. crustosum* e *Alternaria citri*, o melhor controle foi obtido com a aplicação do antagonista antes da inoculação. Antonioli et al. (2011) demonstraram que a aplicação em pré-colheita com *B. amyloliquefaciens*, em framboesa, 3; 7 e 14 dias antes da colheita, reduziu a incidência das podridões de *Rhizopus* e *Botrytis*, inoculados após a colheita, por até sete dias. Assim, possivelmente, no presente trabalho, poderia ter ocorrido controle superior se o tratamento com os antagonistas tivesse ocorrido antes da inoculação.

Um dos objetivos do estudo foi testar a hipótese da integração dos métodos de controle, em que o tratamento térmico supostamente reduziria a fonte de inóculo, permitindo a ocupação do sítio de infecção pelos isolados de *Bacillus* que apresenta tolerância a altas temperaturas. Observou-se que, apenas na primeira repetição do experimento em temperatura de armazenamento de 10 °C, o tratamento térmico aumentou a eficiência dos bioagentes (Figura 1A). Entretanto, outros autores obtiveram sucesso com essa integração. Obagwu e Korsten (2003) verificaram que a redução da incidência dos bolores verde e azul foi obtida com a adoção do tratamento térmico (45 °C por 2 minutos), seguido do tratamento com *B. subtilis* (F1, L2 ou L2-5). A associação de

tratamento térmico (60 °C por 40 segundos) com *B. subtilis* (CPA-8) apresentou sinergismo no controle de *Monilinia laxa* em pêssegos incubados por cinco dias a 20 °C (CASALS et al., 2010).

O tratamento térmico reduziu significativamente a incidência natural de doenças em pós-colheita (Figura 4). No primeiro ensaio, ocorreu interação entre os fatores, tendo o tratamento térmico reduzido a incidência da doença em todos os tratamentos, exceto quando associado com o fungicida, pois este reduziu a incidência, independentemente do tratamento térmico (Figura 4A). No segundo ensaio, não houve interação, e o tratamento térmico reduziu efetivamente a incidência (Figura 4B). Os agentes de biocontrole não foram efetivos em reduzir a incidência do bolor verde que ocorreu naturalmente (Figura 4). Dentre as doenças de pós-colheita verificadas nos ensaios, mais de 83% foram causadas por *P. digitatum*. Com menor porcentagem, foram detectadas *Diaporthe citri* e *Geotrichum candidum*.

O fato de os bioagentes não controlarem as podridões de ocorrência natural em pós-colheita, demonstra não serem eficientes no controle curativo contra patógenos já estabelecidos (Figura 4). O tratamento térmico, por sua vez, controlou as doenças (Figura 4A), evidenciando maior ação contra patógenos já estabelecidos, do que esporos não germinados. Desse modo, comprova-se que o tratamento térmico é uma excelente ferramenta para reduzir o potencial de inóculo vindo do campo. O efeito do tratamento térmico nessas condições tem seu potencial no controle de doenças em pós-colheita de citros reconhecido por Porat et al. (2000), Obagwu e Korsten, (2003) e Hong et al. (2007), principalmente, contra *P. digitatum* (NAFUSSI et al., 2001), o principal patógeno detectado causando doença, naturalmente no presente experimento.

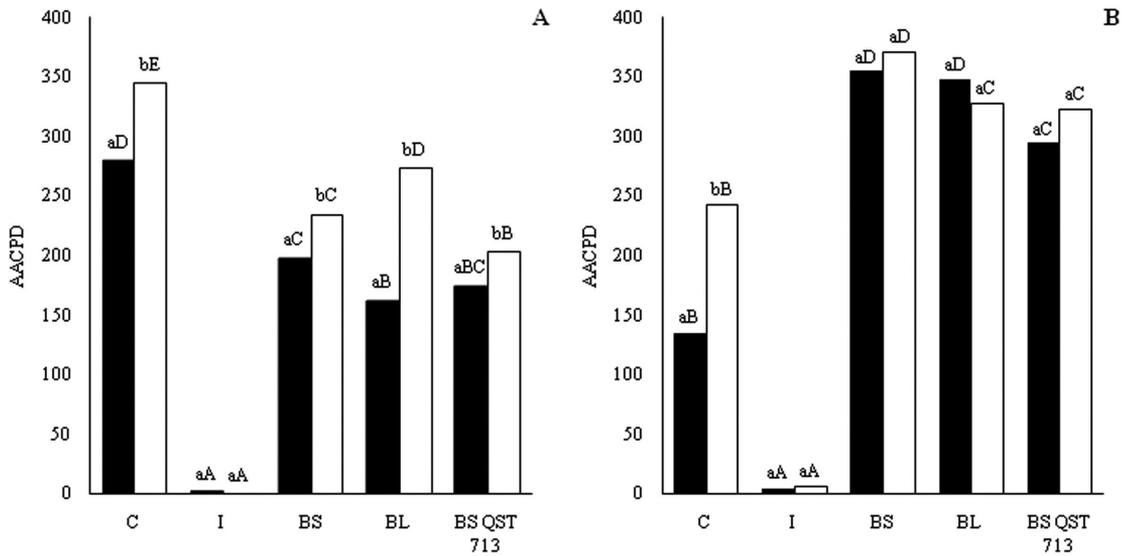


FIGURA 1 - Efeito do tratamento térmico (TT), associado a *Bacillus subtilis* (BS), *Bacillus licheniformis* (BL) e *Bacillus subtilis* – QST 713 (BS QST 713), sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Penicillium digitatum*, em laranjas-Pera armazenadas a 10 °C. (A) Primeira e (B) segunda repetição do experimento. Médias seguidas da mesma letra minúscula (com ou sem TT) e maiúscula (tratamentos) não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Barras ■ = com TT; Barras □ = sem TT. C=testemunha; I=imazalil. CV=6,13 e 7,15, respectivamente, para A e B.

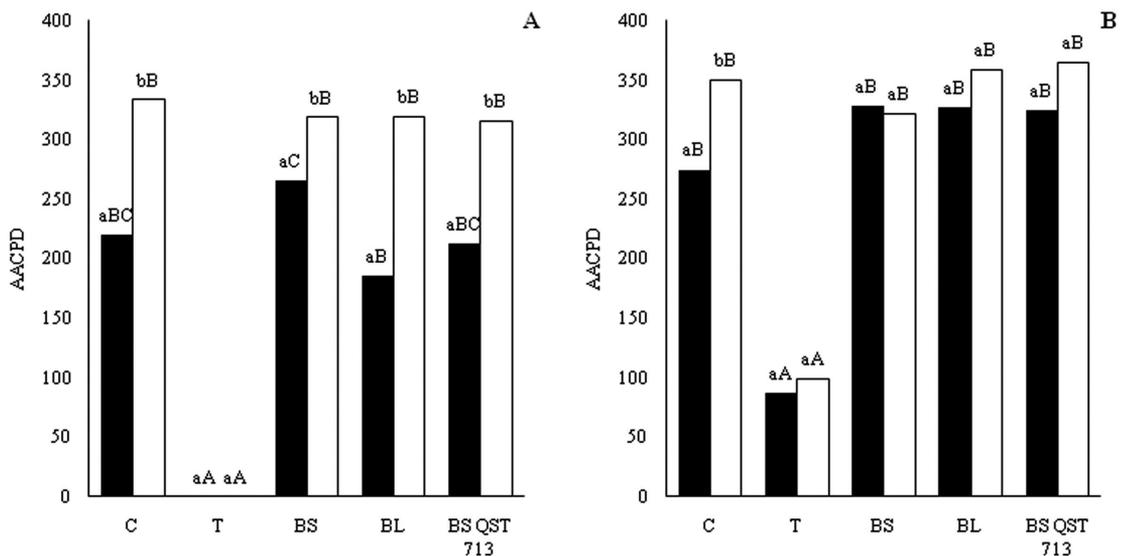


FIGURA 2 - Efeito do tratamento térmico (TT), associado a *Bacillus subtilis* (BS), *Bacillus licheniformis* (BL) e *Bacillus subtilis* – QST 713 (BS QST 713), sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Penicillium digitatum*, em laranjas-Pera armazenadas a 20 °C. (A) Primeira e (B) segunda repetição do experimento. Médias seguidas da mesma letra minúscula (com ou sem TT) e maiúscula (tratamentos) não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Barras ■ = com TT; Barras □ = sem TT. C=testemunha; T=Tiabendazol. CV=13,47 e 9,39, respectivamente, para A e B.

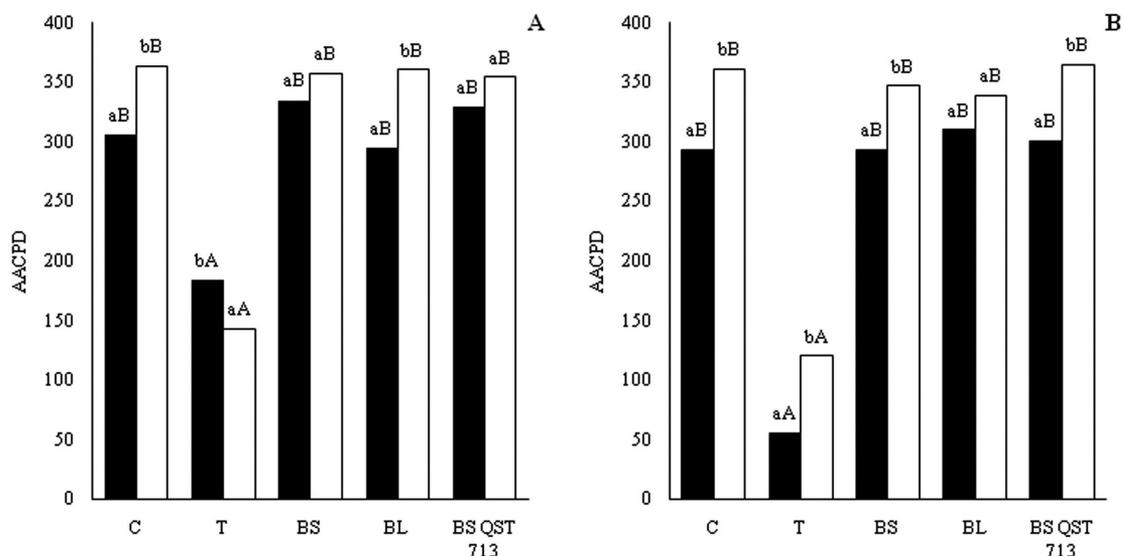


FIGURA 3 - Efeito do tratamento térmico (TT), associado a *Bacillus subtilis* (BS), *Bacillus licheniformis* (BL) e *Bacillus subtilis* – QST 713 (BS QST 713), sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Penicillium digitatum*, em laranjas-Pera armazenadas a 20 °C. (A) Primeira e (B) segunda repetição do experimento. Médias seguidas da mesma letra minúscula (com ou sem TT) e maiúscula (tratamentos) não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Barras ■ = com TT; Barras □ = sem TT. C=testemunha; T=Tiabendazol. CV=7,76 e 8,16, respectivamente, para A e B.

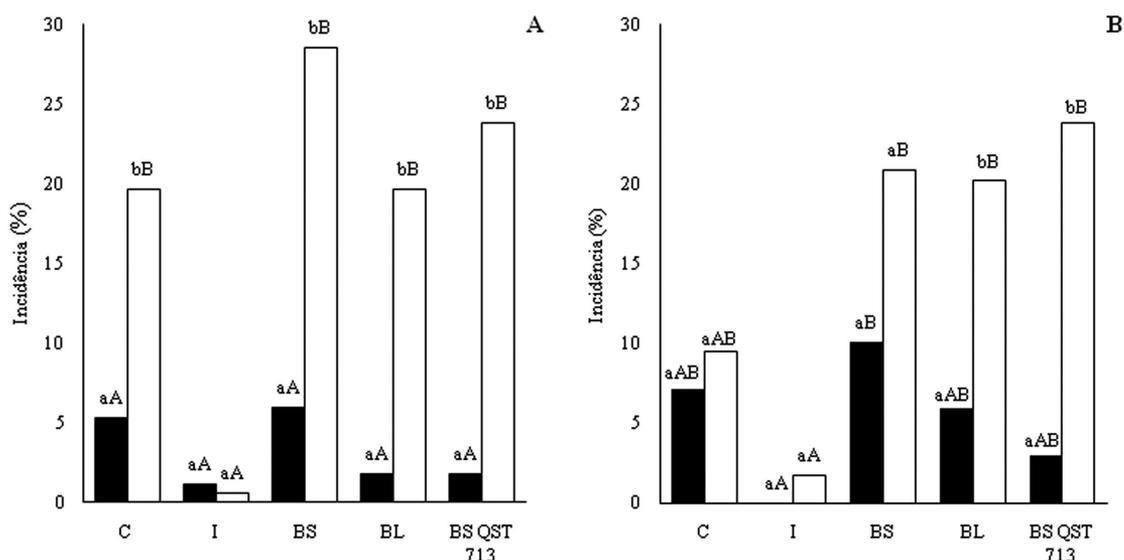


FIGURA 4- Efeito do tratamento térmico (TT), associado a *Bacillus subtilis* (BS), *Bacillus licheniformis* (BL) e *B. subtilis* – QST 713 (BS QST 713), sobre a incidência natural de podridões de pós-colheita em laranjas-Pera armazenadas a 10 °C. (A) Primeira e (B) segunda repetição do experimento. Médias seguidas da mesma letra minúscula (com ou sem TT) e maiúscula (tratamentos) não diferem estatisticamente entre si (Tukey 5%). Barras ■ = com TT; Barras □ = sem TT. C=testemunha; I=imazalil. CV=34,25 e 8,06, respectivamente, para A e B. Dados transformados por $\arcsen(x/100)^2$.

CONCLUSÕES

1- Os agentes de biocontrole avaliados (*Bacillus subtilis*, *B. subtilis* (QST 713) e *Bacillus licheniformis*) não são eficazes no controle do bolor verde.

2- O tratamento térmico de laranja-Pera reduz tanto o bolor verde em frutos inoculados com *P. digitatum*, quanto as doenças de ocorrência natural.

REFERÊNCIAS

ANTONIOLLI, L. R.; SILVA, G. A.; ALVES, S. A. M.; MORO, L. Controle alternativo de podridões pós-colheita de framboesas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 9, p. 979-984, 2011.

ARRAS, G. Mode of action of an isolate of *Candida famata* in biological control of *Penicillium digitatum* in orange fruits. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 191-198, 1996.

ARREBOLA, E.; JACOBS, R.; KORSTEN, L. Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 108, n. 2, p. 386-395, 2010a.

ARREBOLA, E.; SIVAKUMAR, D.; BACIGALUPO, R.; KORSTEN, L. Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 29, n. 4, p. 369-377, 2010b.

ARREBOLA, E.; SIVAKUMAR, D.; KORSTEN, L. Effect of volatile compounds produced by *Bacillus* strains on postharvest decay in citrus. **Biological Control**, Dordrecht, v. 53, n. 1, p. 122-128, 2010c.

CASALS, C.; TEIXIDÓ, N.; VIÑAS, I.; SILVERA, E.; LAMARCA, N.; USALL, J. Combination of hot water, *Bacillus subtilis* CPA-8 and sodium bicarbonate treatments to control postharvest brown rot on peaches and nectarines. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 128, n. 1, p. 51-63, 2010.

HAO, W. N.; LI, H.; HU, M. Y.; YANG, L.; RIZWAN-UL-HAQ, M. Integrated control of citrus green and blue mold and sour rot by *Bacillus amyloliquefaciens* in combination with tea saponin. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 59, n. 3, p. 316-323, 2011.

HONG, S. I.; LEE, H. H.; KIM, D. Effects of hot water treatment on the storage stability of satsuma mandarin as a postharvest decay control. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 43, n. 2, p. 271-279, 2007.

KINAY, P.; MANSOUR, M. F.; GABLER, F. M.; MARGOSAN, D. A.; SMILANICK, J. L. Characterization of fungicide-resistant isolates of *Penicillium digitatum* collected in California. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 26, n. 4, p. 647-656, 2007.

KYRIACOU, M. C. Influence of a post-harvest hot water treatment on the development of green mould [*Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc.] and on the quality of 'Mandora' fruit [*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v. 86, n. 4, p. 359-365, 2011.

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

NAFUSSI, B.; BEN-YEHOSHUA, S.; RODOV, V.; PERETZ, J.; OZER, B. K.; D'HALLEWIN, G. Mode of action of hot-water dip in reducing decay of lemon fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n. 1, p. 107-113, 2001.

OBAGWU, J.; KORSTEN, L. Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate or hot water. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, n. 1, p. 187-194, 2003.

ONGENA, M.; JACQUES, P.; TOURÉ, Y.; DESTAIN, J.; JABRANE, A.; THONART, P. Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 69, n. 1, p. 29-38, 2005.

- OSMAN, M. S.; SIVAKUMAR, D.; KORSTEN, L. Effect of biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* and 1-methyl cyclopropene on the control of postharvest diseases and maintenance of fruit quality. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 30, n. 2, p. 173-178, 2011.
- PALOU, L.; USALL, J.; MUÑOZ, J. A.; SMILANICK, J. L.; VIÑAS, I. Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green and blue molds of clementine mandarins. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 24, n. 1, p. 93-96, 2002.
- PEROTTI, V. E.; DEL VECCHIO, H. A.; SANSEVICH, A.; MEIER, G.; BELLO, F.; COCCO, M.; GARRÁN, S. M.; ANDERSON, C.; VÁZQUEZ, D.; PODESTÁ, F. E. Proteomic, metabolomic, and biochemical analysis of heat treated Valencia oranges during storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 62, n. 2, p. 97-114, 2011.
- PIMENTA, R. S.; SILVA, F. L.; SILVA, J. F. M.; MORAIS, P. B.; BRAGA, D. T.; ROSA, C. A.; CORRÊA, A. Biological control of *Penicillium italicum*, *P. digitatum* and *P. expansum* by the predacious yeast *Saccharomycopsis schoenii* on oranges. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 85-90, 2008.
- PLAZA, P.; USALL, J.; SMILANICK, J. L.; LAMARCA, N.; VIÑAS, I. Combining *Pantoea agglomerans* (CPA-2) and curing treatments to control established infections of *Penicillium digitatum* on lemons. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 67, n. 4, p. 781-786, 2004.
- PORAT, R.; DAUS, A.; WEISS, B.; COHEN, L.; FALLIK, E.; DROBY, S. Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 18, n. 2, p. 151-157, 2000.
- RODOV, V.; AGAR, T.; PERETZ, J.; NAFUSSI, B.; KIM, J. J.; BEN-YEHOSHUA, S. Effect of combined application of heat treatments and plastic packaging on keeping quality of 'Oroblanco' fruit (*Citrus grandis* L. x *C. paradisi* Macf.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 20, n. 3, p. 287-294, 2000.
- SHANER, G.; FINNEY, R. E. Effect of Nitrogen-Fertilization on Expression of Slow-Mildewing Resistance in Knox Wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, 1977.
- SHARMA, R. R.; SINGH, D.; SINGH, R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. **Biological Control**, Dordrecht, v. 50, n. 3, p. 205-221, 2009.
- TEIXIDÓ, N.; USALL, J.; PALOU, L.; ASENSIO, A.; NUNES, C.; VIÑAS, I. Improving control of green and blue molds of oranges by combining *Pantoea agglomerans* (CPA-2) and sodium bicarbonate. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 7, p. 685-694, 2001.
- TOURÉ, Y.; ONGENA, M.; JACQUES, P.; GUIRO, A.; THONART, P. Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 96, n. 5, p. 1151-1160, 2004.
- USALL, J.; SMILANICK, J.; PALOU, L.; DENIS-ARRUE, N.; TEIXIDÓ, N.; TORRES, R.; VIÑAS, I. Preventive and curative activity of combined treatments of sodium carbonates and *Pantoea agglomerans* CPA-2 to control postharvest green mold of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 50, n. 1, p. 1-7, 2008.
- USALL, J.; TEIXIDÓ, N.; FONS, E.; VIÑAS, I. Biological control of blue mould on apple by a strain of *Candida sake* under several controlled atmosphere conditions. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 58, n. 1-2, p. 83-92, 2000.
- ZAMANI, M.; TEHRANI, A. S.; AHMADZADEH, M.; BEHBOODI, K.; HOSSEININAVEH, V. Biological control of *Penicillium digitatum* on oranges using *Pseudomonas* spp. either alone or in combination with hot sodium bicarbonate dipping. **Australasian Plant Pathology**, Adelaide, v.37, n.6, p.605-608, 2008.