

## EFICÁCIA DO CONTROLE BIOLÓGICO DE MOFO CINZENTO EM MORANGOS PRODUZIDOS EM AMBIENTE PROTEGIDO

Paloma Souza Minuzzo<sup>1</sup>; Rosa Maria Valdebenito Sanhueza<sup>2</sup>; André Novais Spadoa<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Federal do Rio Grande do Sul-IFRS, e-mail: paloma.minuzzo2016@outlook.com; <sup>2</sup>Proterra Engenharia Agrônômica Ltda-CPPro, e-mail: rosamaria@proterra.agr.br; <sup>3</sup>Universidade Estadual do Rio Grande do Sul-Uergs, e-mail: andrespadoagr@hotmail.com.

**Resumo:** A produção de morangos semi-hidropônicos protegidos é bastante representativa. E o *Botrytis cinerea* (*B.c.*) é a doença que mais causa danos nesse sistema. Porém devido à rápida e desuniforme maturação dos frutos é difícil manejar essa doença com fungicidas químicos. Então, uma possibilidade é o controle com biofungicidas, que, vêm sendo usados como alternativa para diminuir a contaminação do meio ambiente com produtos químicos, manejar doenças resistentes à fungicidas químicos e em cultivos orgânicos. Porém não existem muitos estudos para o controle de *Botrytis cinerea* com biofungicidas. Os objetivos deste trabalho foram comparar biofungicidas compostos de *Bacillus sp.*, em diferentes doses, para o controle de *B.c.*, *Rhizopus stolonifer* (*R.s.*) e produção de frutos. Foram dois experimentos comparativos de *Bacillus subtilis* QST 173 (*B.s.*) e *Bacillus amyloliquefaciens* D747 (*B.a.*), comparados com aplicações de água. Os testes foram em cultivo semi-hidropônico protegido da empresa Italbraz Ltda. Os resultados obtidos informam que nas doses 0,8 kg/ha de *B.a* e 1,6L/ha de *B.s.*, o *B.a* é mais eficiente. Já nas doses de 1 kg/ha de *B.a* e 2 L/ha. de *B.s.*, somente *B.a.* controla *B.c.* E os resultados afirmam que *B.a.* e *B.s.* não controlam *R.s.* e não afetam a produção de morangos.

**Palavras-chave:** *Bacillus*; *Botrytis cinerea*; cultivo protegido

### INTRODUÇÃO

O morangueiro se cultiva principalmente no sistema semi-hidropônico. Esse sistema é feito em ambiente protegido e o plantio é em embalagens (slabs) com substratos de origem vegetal, os quais são colocados em prateleiras e as plantas são conduzidas com fertirrigação. Este sistema possibilita ao produtor obter maior produtividade e frutos com menor risco de apresentarem resíduos de agrotóxicos o que resulta em alta aceitação do mercado consumidor. A cultura está sujeita a moléstias causadas por agentes fitopatogênicos, e se destaca o Mofo Cinzento, causado por *Botrytis cinerea*, responsável por perdas expressivas em todos os cultivos protegidos (YU & SUTTON, 1997). Os sintomas da podridão de frutos são manchas de aspecto encharcado, deprimidas e descoloridas, que crescem rapidamente. Os frutos infectados em pré ou pós-colheita tornam-se moles, aquosos e de coloração marrom clara. Ao apodrecerem os tecidos, a epiderme se rompe e sobre ela se desenvolvem as estruturas do fungo. Em condições de campo, o patógeno se desenvolve nas partes mortas das plantas e a partir delas iniciam a colonização dos tecidos verdes.

O controle dos patógenos é feito com uso de práticas culturais nas quais se inclui o uso de mudas saudáveis, eliminação frequente de folhas e outros tecidos lesionados, adubação equilibrada e o complemento com a proteção química ou biológica. A preocupação com resíduos químicos nas frutas e o surgimento de resistência dos patógenos aos fungicidas recomendados, estimulou o desenvolvimento de métodos alternativos para o controle da doença nos pequenos frutos, entre os quais se inclui o controle biológico. Antagonistas eficientes incluem o fungo *Clonostachys rosea*, (PENG *et al.*, 1992) e espécies de *Bacillus*, e seus modos de ação são associados principalmente à produção de quitinase no caso de *B. cereus*, ou de antibióticos e/ou indução de resistência. A eficiência de controle de *B. cinerea* por *Bacillus subtilis* (*B.s*) no morangueiro pode variar dependendo do isolado utilizado. Assim Helbig e Bochow (2001) obtiveram 16 a 40% de controle do Mofo cinzento com o isolado 25021 de *B.s*. e no caso de Huang *et al.*, 2001, o controle atingido foi superior a 70% quando foi utilizado o isolado S1-0210. Avaliações de *B. subtilis* QST 713 (Serenade®) foram relatadas por Valdebenito Sanhueza *et al.* (2008) e mostraram que em morangueiros em túneis baixos o 'Mofo cinzento' pode ser controlado pela pulverização semanal a partir do início da floração com calda contendo 8 mL/L do produto comercial. Nessa condição, o fungicida iprodione controlou o patógeno em 87,5% e o *B.s*.QST 713, em 77%, quando utilizado em 8 mL/L. Antagonismo de diferentes estirpes de *B. amyloliquefasciens* a diversos patógenos de fruteiras (*Monilinia fructicola*, *Botryosphaeria dothidea*, *Fusarium oxysporum* e *Botrytis cinerea*,) e a ação deles é associada a produção de vários lipopeptídeos, competição por nutrientes e por espaço. Estirpes dessas espécies também são promotores de crescimento das plantas. (MARI *et al.* 1996 e YAN *et al.* 2013, HAIDAR *et al.* 2016). O trabalho visou comparar a eficácia de *B. amyloliquefasciens* (D 747) e *Bacillus subtilis* (QST 713) para o controle de *Botrytis cinerea*, *Rhizopus* sp. e produção de frutos em morangueiros da cv. Pircinque cultivados em sistema semi-hidropônico em Vacaria, RS.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram estabelecidos em ambiente protegido de morangos semi-hidropônicos com plantas de segundo ano da cv. Pircinque, 40 dias após o rebrote, na empresa Italbraz Ltda, em outubro de 2017 (Figura 1). Os experimentos tiveram delineamento de blocos casualizados, seis blocos, sendo cada parcela constituída por quatro slabs, cada um com 8 plantas. Foram realizados 2 experimentos:

**Experimento 1:** Antes do início da pulverização foram retirados todos os frutos presentes nas parcelas, tratando-se somente flores e as outras partes das plantas. Os tratamentos constaram de pulverizações de plantas com início de floração e as plantas foram limpas através da retirada de folhas secas, estolões e flores doentes, foram mantidas as flores sem sintomas e os frutos recém formados. Os tratamentos foram: B.a., na dose de 1 g/L; B.s., na dose de 2 mL/L e testemunha, pulverização de água. As datas das pulverizações foram 19/10, 26/10, 01/11, 08/11, 14/11, 21/11 e 01/12.

**Experimento 2:** Neste experimento foram usadas as mesmas parcelas do experimento 1 e as plantas foram limpas através da retirada de folhas secas,

frutos, estolões e flores doentes, mantendo-se somente flores sem sintomas e os frutos recém-formados. Os tratamentos constaram de: B.a., na dose de 1,2 g/L; B.s., na dose de 2,4 mL/L e testemunha, pulverização de água. As plantas foram tratadas nos dias 6/12, 11/12, 15/12 e 22/12.

As pulverizações foram feitas com aspersão com pulverizador manual, tratando-se completamente a parte aérea das plantas com 3 L de calda nas seis parcelas, com intervalos de 5 a 7 dias.

Para avaliação dos morangos foram feitas colheitas nos dias 8, 16 e 24 de novembro e no dia 6 de dezembro no primeiro ensaio. E nos dias 18 e 26 de dezembro, no segundo experimento. A fruta foi colhida, pesada e colocada em embalagens compartimentadas mantidas durante 48h em temperatura de 20°C, +/- 2°C. Na avaliação dos frutos foi feita a identificação das podridões e contagem de fruta sadia e com podridões.

Para análise acumularam-se os dados de cada parcela experimental nas diferentes datas de colheita. Os dados em percentagem foram transformados com arc sen Vx para análise de variância ou com Vx para os dados de produção. E as médias foram separadas com o teste Tukey, com ( $p < 0,05$ ) usando-se o programa SASM - Agri (CANTERI et al., 2001).



Figura 1. Estufa utilizada para a avaliação de espécies de *Bacillus* para o controle de *Botrytis cinerea* em morangueiros cv. Pircinques.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dois experimentos foi verificada a presença de Mofo Cinzento (*Botrytis cinerea*) e de Podridão Mole causada por *Rhizopus stolonifer*.

**Experimento 1:** No período deste experimento houveram frequentes períodos de temperaturas acima de 20°C e baixa pluviosidade e por isto, provavelmente, a testemunha apresentou incidência de 24,2%, relativamente baixa após 48h de vida de prateleira. Os dados acumulados de todas as datas de colheita (Tabela 1) mostraram que a podridão dos morangos por *Botrytis* diminuiu em 23,55% pelo efeito da pulverização de B.a., com a dose de 1g/L (0,8 Kg/ha). Entretanto nas parcelas tratadas com B.s. 2 mL/L (1,6L/ha) a cada 7 dias, a incidência do Mofo Cinzento não apresentou diferença da testemunha (Tabela 1). No período da avaliação, a incidência do Mofo Cinzento foi variável e só aumentou na quarta colheita. A produção de morangos e o peso médio deles foi semelhante nos tratamentos (Ba:921,1; Bs: 1121,8 e testemunha: 1099,4g/parcela).

**Experimento 2:** Nesse experimento, a floração foi em menor quantidade que no



Experimento 1. As condições para ocorrência do Mofo Cinzento foram mais propícias, pois se constatou 14,54% a mais na testemunha do que na do Experimento 1 (Tabela 1). Mas, mesmo nestas condições o aumento da dose dos dois *Bacillus* aumentou a percentagem de controle exercido pelos dois produtos. Assim neste experimento o controle do B.a. foi de 53,29% e o do B.s. foi de 40%. A incidência do Mofo Cinzento nas plantas tratadas com B.a. foi menor que a ocorrida na testemunha, enquanto o B.s. teve um efeito intermediário entre o B.a. e a testemunha. A incidência da Podridão Mole por *Rhizopus* também foi 14% maior neste período sem detectar redução dos danos pelos biofungicidas (Tabela 1).

Não se verificou efeito dos tratamentos na produção total dos morangueiros (B.a.: 308,6, B.s.:253,2g e Testemunha: 387 g/parcela).

O maior controle exercido pelo B.a. sobre *Botrytis cinerea* em morangos pode ser devido a uma característica própria da estirpe, à maior adaptação nas condições do ambiente do sistema de produção de morango semi-hidropônico (HAMDACHE et al. 2012) ou a concentração maior de B.a. ( $5 \times 10^{10}$ ) que o B.s. ( $1 \times 10^9$ ) no produto comercial utilizado.

**Tabela 1.** Incidência das podridões de morangos de bancadas tratados por aspersão com B.s. e B.a. durante o período de outubro a dezembro de 2017 (Experimento 1 e 2).

Tratamentos				
<b>Experimento 1</b>	<b>Botrytis (%)</b>	<b>Controle (%)</b>	<b>Rhizopus (%)</b>	<b>Controle (%)</b>
B.a. 1,0 g/L	18,05 b <sup>1</sup>	23,55	2,7 a	40
B.s. 2,0mL/L	23,40 a	3,31	5,2 a	0
Testemunha	24,20 a	0	4,5 a	0
CV (%)	6,77	-	21,71	-
<b>Experimento 2</b>				
B.a. 1,2g/L	18,19 a	53,29	17,91 NS	-
B.s. 2,4mL/L	23,34 ab	40,06	22,12	-
Testemunha	38,94 b	0	18,45	-
CV (%)	26,8	-	22,54	-

<sup>1</sup>.Médias de 6 repetições, cada uma constituída por 32 plantas. Dados seguidos pela mesma letra na linha, dentro do mesmo experimento, não diferem entre si. Médias comparadas pelo teste Tukey, ( $p < 0,05$ ). NS: Não significativo.

## CONCLUSÕES

1. O *Bacillus amyloliquefasciens* é mais eficaz que *Bacillus subtilis* no controle de *Botrytis cinerea* em morangos da cv. Pircinque, cultivados em sistema semi-hidropônico.
2. O aumento da dose, diminui numericamente a incidência de *Botrytis cinerea*, se comparado à testemunha, mas não difere, estatisticamente, o *Bacillus subtilis* da testemunha. Apenas o *Bacillus amyloliquefasciens* apresenta diferença estatística da testemunha com o aumento da dose.
3. Os biofungicidas B.a. e B.s. não controlam a podridão por *Rhizopus*, nem afetam a produção de morangos

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à empresa Proterra Engenharia Agrônômica Ltda e à empresa Italbraz Ltda.

### REFERÊNCIAS

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott - Knott, Tukey e Duncan. Revista Brasileira de Agrocomputação, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

Haidar, R., FERMAUD, M., CALVO-GARRIDO, C, ROUDET, J., DESCHAMPS, A. Modes of action for biological control of *Botrytis cinerea* by antagonistic bacteria. Phytopathologia Mediterranea 55, 3, 301–322. 2016.

HAMDACHE A, EZZIYANI M, BADOUC LAMARTI, Effect of pH, temperature and water activity on the inhibition of *Botrytis cinerea* by *Bacillus amyloliquefaciens* isolates. African Journal of Biotechnology Vol. 11(9), pp. 2210-2217, 2012.

HELBIG, J.; BOCHOW, H. Effectiveness of *Bacillus subtilis* (isolate 25021) in controlling *Botrytis cinerea* in strawberry. **Plant disease and protection**, v.108, n.6, p. 445-559.2001.

HUANG, C.J.; WANG, T.K.; CHUNG, S.C.; CHEN, C.Y. Identification of an antifungal chitinase from a potential biocontrol agent, *Bacillus cereus* 28-9. **Biochemistry and molecular biology**, v. 38, n. 1, p.82-88.2005.

MARI, M., BRUNELLI, M., FOLCHI, A Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. Crop Protection. Volume 15, Issue 8, Pages 699-705.1996.

PENG, G.; SUTTON, J.C.; KEVAN, P.G. Effectiveness of honeybees for applying the biocontrol agent *Clonostachys rosea* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. **Canadian Journal of plant pathology**, v.14, p. 114-119. 1992.

VALDEBENITO SANHUEZA, R. M; PIT, B; SPOLTI, P. Controle de podridões de maçãs e de morangos com *Bacillus pumilus* e *Bacillus subtilis* no Rio Grande do Sul **Anais do XX Congresso Brasileiro de Fruticultura**. 2008

YAN LI, LI-RONG HAN, YUANYUAN ZHANG, XUECHI FU, XINYI CHEN, LIXIA ZHANG, RUHONG MEI, QI WANG. Biological Control of Apple Ring Rot on Fruit by *Bacillus amyloliquefaciens* 9001. Plant Pathol J. 2013 Jun; 29(2): 168–173.

YU, H.; SUTTON, J.C. Morphological development and interactions of *Gliocladium roseum* and *Botrytis cinerea* in raspberry. **Canadian Journal of Plant Pathology**, **19**: 237-336. 1997.