

GENUINO NEGRI

**CONTROLE DA PODRIDÃO PARDA EM PESSEGUEIRO
CONDUZIDO EM SISTEMA ORGÂNICO E PRODUÇÃO DO
ANTAGONISTA *Trichothecium roseum***

Tese apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Agronomia, área de
concentração em Produção Vegetal,
Departamento de Fitotecnia e
Fitossanitarismo, Setor de Ciências
Agrárias, da Universidade Federal do
Paraná, como parte das exigências para
obtenção do título de Doutor em
Agronomia.

Orientadora:

Prof^a. Dra. Louise Larissa May De Mio

Co-orientadores:

Prof. Dr. Cícero Deschamps

Dr. João Américo Wordell Filho

Prof. Dr. Luiz Antônio Biasi

CURITIBA

2007

DEDICO:

Aos meus pais, José e Ana;

À minha esposa Mafalda;

A meus filhos, Kellen Sabrina e Jean Rafael;

A todos meus familiares e amigos

A todos meus professores e orientadores

Aos colegas de curso

Por acreditarem, apoiarem, compreenderem e me incentivarem nesta nova etapa de trabalho.

OFEREÇO

A DEUS

Criador do Universo;

Ao planeta **TERRA**

e a todos aqueles que se dedicam para salvá-lo.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Paraná, através da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração “Produção Vegetal” pela oportunidade e espaço concedido para a realização deste curso.

À Direção da Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul, pelo apoio concedido disponibilidade de laboratórios, equipamentos e local para o experimento.

À EPAGRI, Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, na pessoa do Dr. Edison Xavier de Almeida chefe da “Estação Experimental de Ituporanga”, pela parceria e concessão de laboratórios, pessoal e equipamentos.

À professora Louise Larissa May De Mio, pela orientação, paciência, confiança e incentivo durante todo o período de realização dos trabalhos de pesquisa e elaboração desta tese.

Ao Pesquisador da EPAGRI, Dr. João Américo Wordell Filho, pelo auxílio, co-orientação, amizade e presteza durante a realização dos experimentos.

Aos funcionários da EPAGRI, Srs. José Roberto Knoth e Daniel Bezerra Loffi, pela grande e indispensável ajuda na condução dos experimentos desenvolvidos junto ao laboratório de fitopatologia e o Sr. Cristiano Nunes Nesi pela sua contribuição na avaliação estatística dos dados.

A todos os professores do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR, pela amizade, sabedoria e eficiência em seus ensinamentos.

À minha esposa e filhos, pelo acompanhamento, apoio, paciência e motivação.

Aos colegas de curso, em especial, Alfredo de Gouvêa, Sergio Miguel Mazaro, e Uberson Boaretto Rossa, pelo entusiasmo, coleguismo e esperança, verdadeiros parceiros durante esta caminhada.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que eu pudesse chegar ao fim desta obra.

Em fim, aos Professores de banca, pela dedicação, compreensão, análise e recomendações para o aperfeiçoamento e melhorias deste trabalho.

**“É MUITO MELHOR ARRISCAR COISAS GRANDIOSAS,
ALCANÇAR TRIUNFOS E GLÓRIAS, MESMO
EXPONDO-SE A DERROTA, DO QUE FORMAR
FILAS COM OS POBRES DE ESPÍRITO, QUE
NEM GOZAM MUITO, NEM SOFREM
MUITO, PORQUE VIVEM NESSA
PENUMBRA CINZENTA QUE NÃO
CONHECE A VITÓRIA NEM
A DERROTA”.**

(Theodore Roosevelt)

BIOGRAFIA DO AUTOR

GENUINO NEGRI, filho de José Negri e de Ana Guerra Negri, nasceu em Tapejara, RS, em 17 de maio de 1957. É casado com Mafalda Demarco Negri e pai de dois filhos, Kellen Sabrina Negri e Jean Rafael Negri.

Cursou o 2º grau, na Escola Agrotécnica Federal de Sertão (RS), onde fez o curso de Técnico em Agropecuária durante os anos de 1975 a 1978. Fez licenciatura em **Ciências Agrícolas** pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro de 1980 a 1981 e o curso de **Biologia** (Licenciatura em Ciências) pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras “Eugênio Pacelli” de Pouso Alegre (MG) de 1981 a 1985.

Cursou Pós-Graduação em nível de especialização em: **Metodologia de Ensino** na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras “Prof. José Augusto Vieira” em Machado (MG). em 1987, **Administração Rural** pela Fundação Educacional Unificada do Oeste de Santa Catarina, UNOESC, em Joaçaba (SC). em 1991 e em **Informática Educativa** pelo Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais- CEFET-MG em 1992.

Fez curso de Pós-Graduação em nível de mestrado em **Engenharia Ambiental** pela Universidade Regional de Blumenau, FURB durante os anos de 2000 a 2002.

Iniciou sua vida profissional em 1978 como docente da Escola Agrotécnica Federal de Concórdia (SC), transferido em 1983 para a Escola Agrotécnica Federal de Inconfidentes (MG) e em 1994 para a Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul (SC), nas quais ministrou as disciplinas de Cooperativismo, Criações, Culturas Anuais, Administração Rural e Manejo Integrado de Pragas e Doenças das culturas, tendo exercido também as funções de Assessor, Diretor dos Departamentos de Ensino e Administração e Diretor da Unidade de Ensino Descentralizada de Dois Vizinhos (PR). Em fevereiro de 2005 ingressou no curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná, com sua pesquisa voltada ao controle alternativo da podridão parda em pessegueiro cultivado em sistema orgânico.

SUMÁRIO	Página
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ANEXOS.....	xii
LISTA DE QUADROS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. O CULTIVO DO PESSEGUEIRO.....	3
2.2. CARACTERIZAÇÃO DA PODRIDÃO PARDA.....	4
2.2.1. CICLO DAS RELAÇÕES PLANTA e <i>Monilinia</i> spp.....	5
2.3. CONTROLE DA DOENÇA.....	10
2.3.1. CONTROLE COM PRODUTOS ALTERNATIVOS AOS FUNGICIDAS PADRÕES.....	10
2.3.1.1. PRODUTOS LIBERADOS PARA PRODUÇÃO ORGÂNICA.....	13
2.3.1.2. FOSFITOS.....	15
2.3.1.3. CONTROLE BIOLÓGICO.....	19
2.4. ALTERAÇÕES NO METABOLISMO VEGETAL.....	25
REFERÊNCIAS.....	26
3. CAPÍTULO I – CONTROLE DA PODRIDÃO PARDA DO PESSEGUEIRO CULTIVADO EM SISTEMA ORGÂNICO.....	43
RESUMO.....	43
ABSTRACT.....	44
3.1. INTRODUÇÃO.....	45
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	46
3.2.1. Incidência de podridão parda em flores.....	48
3.2.2. Incidência de podridão parda em frutos verdes.....	48
3.2.3. Incidência de podridão parda durante a colheita e pós-colheita.....	48
3.2.4. Obtenção e preparo do inóculo do fungo <i>Trichothecium roseum</i>	49
3.2.5. Análise estatística.....	49
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
3.4. CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS	60

4. CAPÍTULO II – <i>Trichothecium roseum</i>, CALDA SULFOCÁLCICA e FOSFITOS PARA O CONTROLE DA PODRIDÃO PARDA DO PESSEGUEIRO CULTIVADO EM SISTEMA ORGÂNICOS.....	63
RESUMO.....	63
ABSTRACT.....	64
4.1. INTRODUÇÃO.....	65
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	66
4.2.1. Incidência de <i>M. fructicola</i> em flores.....	67
4.2.2. Incidência de <i>M. fructicola</i> em frutos verdes.....	68
4.2.3. Incidência de <i>M. fructicola</i> durante a colheita e pós-colheita.....	69
4.2.4. Obtenção e preparo do inóculo de <i>Trichothecium roseum</i>	69
4.2.5. Informações climatológicas.....	70
4.2.6. Análise estatística.....	70
4.3. RESULTADOS.....	70
4.4. DISCUSSÃO.....	74
4.5. CONCLUSÕES.....	80
REFERÊNCIAS	80
5. CAPÍTULO III – METABOLISMO DE FLORES DE PESSEGUEIRO, APÓS TRATAMENTO PARA CONTROLE DA PODRIDÃO PARDA.....	85
RESUMO.....	85
ABSTRACT.....	86
5.1. INTRODUÇÃO.....	87
5.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	89
5.2.1. Experimento em campo para controle da podridão parda nas flores.....	89
5.2.2. Coleta das amostras de flores para avaliação bioquímica.....	89
5.2.3. Análises bioquímicas.....	90
5.2.4. Incidência de podridão parda em flores.....	92
5.2.5. Análise estatística.....	92
5.2.6. Informações climatológicas.....	92
5.3. RESULTADOS.....	93
5.4. DISCUSSÃO.....	97
5.5. CONCLUSÕES.....	101
REFERÊNCIAS	102
6. CAPÍTULO IV – METODOLOGIA PARA PRODUÇÃO E ARMAZENAMENTO DE <i>Trichothecium roseum</i>.....	106

RESUMO.....	106
ABSTRACT.....	107
6.1. INTRODUÇÃO.....	108
6.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	109
6.2.1. Obtenção do antagonista <i>Trichothecium roseum</i>	109
6.2.2. Produção do inóculo de <i>Trichothecium roseum</i>	110
6.2.3. Armazenamento e conservação.....	111
6.2.4. Análise estatística.....	111
6.3. RESULTADOS.....	112
6.4. DISCUSSÃO.....	117
6.5. CONCLUSÕES.....	120
REFERÊNCIAS	121
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	125
8. ANEXOS.....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Descrição de tratamentos e dosagens para controle de podridão parda em pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2004.....	47
Tabela 3.2	Proporção de podridão parda durante a floração, desenvolvimento dos frutos, colheita e pós-colheita do pessegueiro com diferentes tratamentos, cv. Granada. Rio do Sul, SC, 2004.....	53
Tabela 3.3	Proporção de podridão parda durante a floração, desenvolvimento dos frutos, colheita e pós-colheita do pessegueiro com diferentes tratamentos, cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2004.....	54
Tabela 4.1	Dosagem dos produtos e datas das pulverizações para controle de <i>M. fructicola</i> em pomar de pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.....	68
Tabela 4.2	Proporção média de incidência de podridão parda em flores de pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.....	72
Tabela 4.3	Proporção média de incidência de podridão parda em frutos verdes, colheita e pós-colheita, frutos colhidos e área abaixo da curva de progresso da doença, cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.....	73
Tabela 4.4	Médias de temperatura, umidade relativa do ar e chuva, dez dias antes das coletas de flores para análise de incidência de podridão parda em flores, infecção latente em frutos verdes e colheita, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.....	76
Tabela 5.1	Concentração de proteínas totais, açúcares totais e redutores, fenóis, aminoácidos, peroxidases, antocianinas e flavonóides em flores de pessegueiro, após diferentes tratamentos para controle da podridão parda, cv. Granada. Rio do Sul, SC, 2006.....	94
Tabela 5.2	Concentração de proteínas totais, açúcares totais e redutores, fenóis, aminoácidos, peroxidases, antocianinas e flavonóides em flores de pessegueiro, após diferentes tratamentos para controle da podridão parda, cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2006.....	94

Tabela 6.1	Análise fatorial entre os substratos, tratamentos e tempos de fervura para produção de inóculo de <i>Trichothecium roseum</i>	112
Tabela 6.2	Concentração e germinação de conídios de <i>Trichothecium roseum</i> produzidos em diferentes substratos e submetidos a tratamentos com BD (batata + dextrose) ou água e fervidos em tempos diferentes. Ituporanga, SC, 2006.....	114
Tabela 6.3	Índices (conídios x 10 ⁵ /mL X % germinação) obtidos na produção de <i>T. roseum</i> nos diferentes substratos, tempos de fervura e tratamentos utilizados.....	115
Tabela 6.4	Concentração e germinação do fungo <i>Trichothecium roseum</i> produzido em substrato de sorgo e armazenado durante 90 dias em seis ambientes com temperaturas diferentes.....	117

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	Sintomas de podridão parda causada por <i>Monilinia fructicola</i> , em flores, ramos e frutos do pessegueiro.....	08
Figura 2.2	Ciclo da <i>Monilinia fructicola</i> em pessegueiro (Ilustração GARRIDO, L.; MAY DE MIO et al., 2004).....	09
Figura 3.1	Incidência da podridão parda em pessegueiro, por tratamento cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2004.....	51
Figura 3.2	Regressão linear entre as médias e a correlação com todos os dados de incidência de podridão parda, após tratamentos, em diferentes fases da cultura do pessegueiro, cv. Granada. Rio do Sul, SC, 2004.....	58
Figura 3.3	Regressão linear entre as médias e a correlação com todos os dados de incidência de podridão parda, após tratamentos, em diferentes fases da cultura do pessegueiro, cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2004.....	59
Figura. 4.1	Incidência da podridão parda em pessegueiro, por tratamento cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.....	71
Figura 4.2	Temperaturas máximas e mínimas e precipitação pluviométrica durante a floração do pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.....	75
Figura. 5.1	Médias de incidência (%) de podridão parda em flores de pessegueiro, após tratamentos, cvs. Granada e Chimarrita, Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.....	95
Figura. 5.2	Regressão linear entre incidência de podridão parda e concentrações de fenóis, proteínas e peroxidases em flores de pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2006.....	96
Figura 6.1	Média dos índices (conídios x 10 ⁵ /mL X % germinação)/10, por substrato e tempo de fervura na produção de inóculo de <i>Trichothecium roseum</i> . Rio do sul, SC, 2006.....	116

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1.	Localização do experimento em pomar de pessegueiro cultivado em sistema orgânico, implantado em 1998 em área da Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul, SC.....	127
ANEXO 2.	(A) inóculo do antagonista <i>Trichothecium roseum</i> produzido em grãos de trigo; (B) flores coletadas e distribuídas em caixas plásticas (11x11x3,5 cm) para avaliação de <i>Monilinia fructicola</i> ; (C e D) infecção latente em frutos verdes; (E) frutos pós-colheita e (F) múmias colonizadas por <i>T. roseum</i>	128
ANEXO 3.	(A) Cultivar Granada, (B) Chimarrita na floração, (C) múmia infestada com <i>Monilinia fructicola</i> , (D) múmia sendo colonizada por <i>Trichothecium roseum</i> , (E) atividade de pulverização, (F) atividade metodológica para quebra de resistência em frutos verdes para avaliação de infecção latente.....	129
ANEXO 4.	(A e B) Atividade de análise bioquímica em flores de pessegueiro no laboratório da UFTPR- Dois Vizinhos, PR; (C) flores de pessegueiro antes de serem incubadas, (D, E e F) Sintomas de <i>Monilinia fructicola</i> em flores de pêsego após incubação.....	130
ANEXO 5.	Produção de inóculo de <i>Trichothecium roseum</i> . (A) meio BDA, (B) trigo em grão, (C) sorgo granífero, (D) casca de arroz, (E) arroz integral, (F) Germinação de conídio de <i>T. roseum</i>	131

LISTA DE QUADROS

- Quadro 3.1. Tratamentos realizados em pomar de pessegueiro cultivado em sistema orgânico, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2004..... 47

LISTA DE ABREVIATURAS

AACPD - Área abaixo da curva de progresso da doença

°Bé – Graus Baumé

CaB – Cálcio e Boro

CEPA/SC – Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola de Santa Catarina

EAOs – Espécies Ativas de Oxigênio

EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural

FAO – Food and Agriculture Organization

g/L – Gramas por litro

IBD – Instituto Biodinâmico

K – Potássio

mM – Milimolar

PIF – Produção integrada de frutas

(p) – Probabilidade

ppm – Parte por milhão

RSA – Resistência Sistêmica Adquirida

(R) – Relação

UR – Umidade relativa

RESUMO

A podridão parda causada por *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey no pessegueiro (*Prunus persicae*) (L.) Batsch é a doença mais importante da cultura, em virtude dos danos que podem causar às flores, ramos e frutos na pré e pós-colheita. Esta doença está disseminada por todas as regiões de clima temperado constituindo-se na maior limitação para a produção, fato agravado em sistemas orgânicos pela falta de estratégias de controle da doença com produtos alternativos aos agrotóxicos. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de produtos alternativos e um agente de controle biológico no controle da *M. fructicola* a campo, durante todo o ciclo da cultura, em pomar de pessegueiro conduzido em sistema orgânico, e desenvolver uma metodologia para a produção e conservação do antagonista *Trichothecium roseum*. Neste sentido, experimentos laboratoriais e a campo foram realizados nos anos de 2004 a 2006 nas cultivares de pessegueiro Granada e Chimarrita, no município de Rio do Sul-SC. Foram testados a calda sulfocálcica com e sem iodo, fosfito de CaB e K e o antagonista *T. roseum*. A avaliação da doença foi por incidência nas flores, nos frutos em desenvolvimento, na colheita e pós-colheita. A resposta de defesa vegetal foi verificada por meio de análises bioquímicas para a quantificação de proteínas totais, açúcares totais e redutores, aminoácidos, fenóis, flavonóides, peroxidases e antocianinas nos tecidos florais das duas cultivares tratadas no segundo e terceiro anos do experimento. Os testes para produção do antagonista foram feitos no laboratório em substratos de arroz, casca de arroz, sorgo e trigo com e sem adição de nutrientes e fervidos por cinco, dez e vinte minutos ou não fervidos. A conservação do inóculo armazenado nas temperaturas, ambiente, -4, 4, 15, 25 e 35 °C foi avaliada durante noventa dias. Os resultados obtidos a campo em 2004 indicaram pela área abaixo da curva de progresso da doença, que houve eficiência de todos os tratamentos no controle da doença, tendo ocorrido reduções de 59,3 a 66,2% na cultivar Granada e de 45,9 a 63,6% para a Chimarrita em relação à testemunha. No experimento realizado em 2005 e 2006, todos os tratamentos foram eficientes na fase de floração nas duas cultivares com reduções da doença de 25 a 80%, para calda sulfocálcica, de 59 a 95% para o antagonista *T. roseum*, de 45 a 90% para os fosfitos + *T. roseum* e de 18,7 a 60% para os fosfitos sem o antagonista em relação à testemunha. Para as demais fases, avaliadas somente na cultivar Chimarrita, todos os tratamentos demonstraram potencial para o controle da doença sendo que, pela área abaixo da curva de progresso da doença em 2005 houve eficiência da calda sulfocálcica com reduções de 49,3% e o antagonista *T. roseum* com 68,6% em relação à testemunha e, em 2006 os tratamentos com calda sulfocálcica, fosfitos + *T. roseum* e o antagonista sozinho, foram eficientes reduzindo a doença em 27,5, 37,9 e 49,7% respectivamente em relação à testemunha. Considerando os efeitos positivos dos tratamentos utilizados nos experimentos em campo, flores foram coletadas para uma avaliação bioquímica com fins de verificar possíveis alterações metabólicas de defesa da planta. Os dados revelaram que os tratamentos com calda sulfocálcica e fosfitos induziram resposta da planta alterando seu metabolismo de defesa, com relações positivas entre a produção de fenóis e proteínas e, a incidência da doença durante a fase de floração. Os melhores resultados no experimento da produção de *T. roseum* quanto a concentração e viabilidade do inóculo, foram obtidos no substrato de trigo fervido por 5 a 10 min, obtendo-se concentração de até $14,6 \times 10^5$ conídios/mL e viabilidade de até 98,75%, no arroz e sorgo fervidos por 10 a 20 min, com concentração de até $13,5 \times 10^5$ conídios/mL e viabilidade de até 98,25%. Estes substratos são indicados para a produção do antagonista sem necessidade de adição de nutrientes aos mesmos. O melhor ambiente para a conservação do inóculo foi a -4 °C tendo mantido viabilidade de 74% aos 30 dias, 43,6% aos 60 dias e 32% aos 90 dias de armazenamento.

Palavras-chave: pêssegos, podridão parda, controle biológico, indução de resistência, *Trichothecium roseum*

ABSTRACT

Brown rot caused by *Monilinia fructicola* in peaches (*Prunus persicae*) is the most important disease of the crop due to the damage that can be caused in flowers, branches and fruit at pre- and postharvest. This disease is spread through all the temperate climate regions and represents the biggest limitation for production, mainly in organic systems for the lack of strategies for the disease control with products other than agrochemicals. The current work aimed at evaluating the efficiency of alternative products and a biological control agent in the field control of *M. fructicola* during all the crop cycle in peach orchard conducted in organic system and at developing a methodology for the production and conservation of the antagonist *Trichothecium roseum*. In this sense, laboratory and field experiments were conducted from 2004 to 2006 in peach cultivars Granada and Chimarrita, in the city of Rio do Sul-SC. Sulfur lime with and without iodine, CaB and K phosphite and antagonist *T. roseum* were tested. The disease evaluation was by means of incidence in flowers, developing fruit, harvest and postharvest. The plant defense response was verified through biochemical analyses for the quantification of total proteins, total and reducing sugars, aminoacids, phenols, flavonoids, peroxidases and anthocyanins in the flowers tissues of the two cultivars treated in the second and third year of the experiment. The tests for the antagonist production were conducted in laboratory with rice substrates, rice hulls, sorghum and wheat with and without nutrient addition and boiled for five, ten and twenty minutes or not boiled. The inoculum conservation stored at room temperature, -4, 4, 15, 25 and 35 °C was evaluated for ninety days. The field results obtained in 2004 indicated, according to the area below the disease progress curve, that all the treatments were efficient in the disease control, and that there were reductions between 59,3 and 66,2% in cultivar Granada and 45,9 and 63,6% in Chimarrita in relation to the check. In the experiment conducted in 2005 and 2006, all the treatments were efficient in the flowering phase in the two cultivars with reductions between 25 and 80% for lime sulfur, between 59 and 95% for antagonist *T. roseum*, 45 and 90% for phosphites + *T. roseum* and 18,7 and 60% for phosphites without the antagonist in relation to the check. For the other phases, evaluated only in cultivar Chimarrita, all the treatments demonstrated potential for disease control so that, according to the area below the disease progress curve in 2005, where lime sulfur was efficient with reductions in 49,3% and antagonist *T. roseum* with 68,6% in relation to the check and, in 2006, the treatments with lime sulfur, phosphites + *T. roseum* and the antagonist alone were efficient reducing the disease in 27,5, 37,9 and 49,7% respectively in relation to the check. Considering the positive effects of the treatments used in the field experiments, flowers were collected for biochemical evaluation in order to verify possible alterations in metabolism of plants defense. The data revealed that the treatments with lime sulfur and phosphites modified metabolism to defense plant, with positive relation between phenol and protein production and the disease incidence during the flowering phase. The best results for *T. roseum* production concerning the inoculum concentration and viability were obtained wheat substrate boiled for 5 to 10 min, achieving concentrations up to $14,6 \times 10^5$ conidia/mL and viability up to 98,75% in rice and sorghum boiled for 10 to 20 min, with concentration up to $13,5 \times 10^5$ conidia/mL⁻¹ and viability up to 98,25%. These substrates are indicated for antagonist production without the need for nutrient addition. The best environment for inoculum conservation was at -4 °C, keeping viabilities of 74% for 30 days, 43,6% for 60 days and 32% for 90 days in storage.

Key words: peach, brown rot, biological control, resistance induction, *Trichothecium roseum*.

1- INTRODUÇÃO

A cultura do pessegueiro (*Prunus persica*) L. Batsch vem crescendo em todo o mundo, pelo aumento no consumo de frutos *in natura* e, pela sua utilidade para industrialização e comercialização sob forma de sucos e enlatados. O grande número de cultivares garante uma produção qualitativa, além de adaptar-se para o cultivo em regiões de clima temperado e subtropicais (RASEIRA e QUEZADA, 2003).

A produção mundial de pêssegos atingiu 18 milhões de toneladas em 2005, destacando-se em sexto lugar como a fruta mais cultivada, em que a China apresenta-se como o maior produtor, seguido pela Itália e Estados Unidos. O Brasil figura em 13º lugar com uma produção de 220.000 t em 2005 e uma área cultivada de 24.000 ha (FAO, 2006). No Mercosul, Chile e Argentina são os maiores produtores e o Brasil ocupa o terceiro lugar. O Estado brasileiro de maior produção é o Rio Grande do Sul, seguido de São Paulo, Santa Catarina, Paraná e Minas Gerais (GUTIERRES, 2005). O Estado de Santa Catarina foi um dos que mais cresceu neste setor até 1997 com uma área cultivada em torno de 7.500 ha da cultura (DUCROQUET, 1997). Em 2005, entretanto a área cultivada com a cultura foi reduzida para 3.326 ha com produção de 30.750 t, onde a maioria das propriedades utiliza produção convencional (IBGE, 2005). A produção de pêssego em sistema orgânico do Estado é ainda incipiente e segundo o Instituto CEPA/SC, em 2001, o Estado produziu em torno de 100 t distribuída em 87 propriedades.

O mercado internacional é altamente favorável à demanda de pêssegos provenientes do hemisfério sul onde a safra ocorre na entressafra do hemisfério norte, consumidor do produto *in natura* ou processado. No entanto, este mercado é cada vez mais crescente quanto à ausência de resíduos químicos. A conquista desse mercado depende da utilização de níveis tecnológicos mais modernos e sustentáveis (OSÓRIO e FORTES, 2003). Somente em 2000 foram importados pela União Européia 65 mil toneladas de produtos orgânicos diversos, provenientes da República Dominicana, Equador, Guatemala, Honduras, Peru e Brasil (AGRIANUAL, 2002). A produção de pêssego em sistema orgânico com certificação no Brasil está restrita aos Estados de Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e São Paulo (IBD, 2005).

Dentre as principais doenças da cultura, está a podridão parda causadora de danos durante todo o ciclo, principalmente em pós-colheita, tendo como hospedeiro as culturas: pessegueiro, ameixeira, nectarineira, damasqueiro e cerejeira (ANDRADE, 1995; OGAWA et al., 1995). A doença é causada por *Monilinia fructicola* (Wint) Honey, *Monilinia laxa* (Adeh e

Ruhl) Honey e *Monilinia fructigena* (Aderh. e Ruhl.) Honey (BLEICHER, 1997). No Brasil, até o momento, a única espécie relatada foi a *M. fructicola*.

O controle da podridão parda é baseado em fungicidas comerciais, sendo também indicado práticas culturais como poda com eliminação de ramos doentes, retirada de restos florais e frutos mumificados para auxiliar na redução do inóculo. A adubação equilibrada evitando o excesso de nitrogênio e a deficiência de potássio auxilia no controle da doença (OGAWA et al., 1995; AGRIOS, 1997; MOTTA et al., 2007). Neste contexto é crescente a busca pela utilização de produtos de baixo impacto ambiental com a redução de agrotóxicos aumentando a produção e agregando qualidade ao fruto. Desta forma, a calda sulfocálcica pode ser indicada como uma das alternativas para o controle da podridão parda, podendo ser aplicada em período de dormência e desenvolvimento vegetativo de fruteiras e outras culturas (CHABOUSSOU, 1999). Seu uso é permitido pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento na agricultura orgânica (CARVALHO, 1980; FORTES e MARTINS, 1998). Em Santa Catarina, a calda sulfocálcica associada a iodo, tem sido utilizada pela Empresa de Pesquisas Agropecuária e Extensão Rural, EPAGRI, para manejar a sarna da ameixeira orgânica, causada por *Cladosporium carpophyllum* Thuem, (GONÇÁLVES et al., 2005).

Outra alternativa para o sistema orgânico é o uso de fosfitos para o controle de doenças das plantas, o que tem despertado interesse de muitos pesquisadores tanto no exterior quanto no Brasil nos últimos anos. A ação dos fosfitos sobre os fungos pode ser de forma direta (FENN e COFFEY, 1985; ROHRBACH e SCHENC K, 1985), ou por meio da ativação de mecanismos de defesa da planta, como o estímulo à produção de fitoalexinas (GUEST e GRANT, 1991; JACKSON, 2000; SAINDRENAN et al., 1988) ou lignificação e produção de fenóis (NOJOSA et al., 2005). Testes em campo e pós-colheita em pessegueiro cultivado convencionalmente comprovaram a eficiência dos fosfitos de potássio, cálcio e boro no controle da podridão parda (MOREIRA et al., 2002; MOREIRA, 2005).

Além dos produtos liberados para cultivo orgânico como a calda sulfocálcica e o uso de fosfitos, busca-se a estratégia do controle biológico, a qual vem sendo mundialmente estudada como uma nova alternativa para o controle de doenças dentre elas a podridão parda, com estudos na Itália, França, Espanha, Estados Unidos e Brasil (WITTIG et al., 1997; MOREIRA et al., 2002; SCHENA et al., 2003; LARENA et al., 2005). Na sua grande maioria os trabalhos com controle biológico de *M. fructicola* na cultura do pessegueiro, realizados nos últimos quinze anos, concentram-se em avaliações pós-colheita, demandando novos estudos voltados ao controle do patógeno em campo durante as fases de floração e desenvolvimento dos frutos (MAY DE MIO et al., 2004).

Neste contexto, este trabalho objetivou desenvolver um programa de tratamentos da podridão parda na cultura do pessegueiro conduzido em sistema orgânico associando o antagonista *Trichothecium roseum* e produtos de baixo impacto ambiental, aplicados em campo, em períodos críticos da doença, em hospedeiro com níveis diferenciados de susceptibilidade.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O CULTIVO DO PESSEGUEIRO

O pessegueiro é uma planta originária da China e atualmente cultivada em várias partes do mundo. A produção mundial atingiu 18 milhões de toneladas em 2005 destacando-se em sexto lugar como a fruta mais cultivada, sendo que a China apresenta-se como o maior produtor, seguido pela Itália e Estados Unidos. O Brasil figura em 13º lugar com uma produção de 220.000 t em 2005 e uma área cultivada de 24.000 ha (FAO, 2006). No Mercosul, Chile e Argentina são os maiores produtores e o Brasil ocupa o terceiro lugar.

Os Estados brasileiros com maior produção de pêssegos e nectarinas são o Rio Grande do Sul com mais de 13.000 ha de área cultivada e produção em torno de 80 mil t/ano, representando 46 % da produção nacional, Santa Catarina, com 4.187 ha e 30 mil t/ano, São Paulo com 3.266 ha, e 35 mil t/ano, Paraná com 1.985 ha e 18 mil t/ano e Minas Gerais com 700 ha e produção de 8 mil t/ano (MADAIL e REICBERT, 2003).

A produção orgânica a nível mundial vem crescendo em todas as áreas e segundo YUSSEFI e WILLER (2004), em 2003 havia mais de 24 milhões de ha e de 462.475 propriedades envolvidas neste processo. A produção brasileira de orgânicos ainda é pouco expressiva em relação ao volume de negócios que o setor movimenta no mundo, ocupando 803 mil ha e movimentando 200 milhões de dólares por ano (IBD, 2006). Os estados do sul são os mais expressivos neste sistema de produção com 30 mil ha em São Paulo, 12.991 no Paraná, 16.376 em Santa Catarina e 13 mil no Rio Grande do Sul (AGRICULTUA ORGÂNICA, 2002). A produção de orgânicos foi regulamentada pela Lei 10.831 de 23 de dezembro de 2003 e Instrução normativa 007 de 17 de maio de 1999.

As maiores preocupações com prejuízos na cultura do pessegueiro são as perdas por podridões na pós-colheita que ocorrem em função de condições climáticas ideais ao desenvolvimento de patógenos principalmente da *M. fructicola* (LUO e MICHAILIDES, 2003), danos por lesões no manuseio dos frutos durante e após a colheita, por pragas antes da colheita (ADASKAVEG et al., 2000) e ainda, através da ativação da infecção latente

causadas por *M. fructicola* pelo processo de maturação ou senescência dos frutos (CRUICKSHANK e WADE, 1992). Em condições favoráveis à doença e mesmo com uso de controle químico nos pomares, as perdas na pós-colheita podem atingir níveis superiores a 50 % dos frutos (HONG et al., 1998). No Brasil, MOREIRA (2005) verificou danos acima de 90 % entre a colheita e pós-colheita em parcela de pessegueiro sem controle, cultivado em sistema convencional. Segundo RASEIRA e QUEZADA (2003), a *M. fructicola* é responsável por perdas de até 25 % da produção somente em pós-colheita tanto no Brasil quanto em outros países.

2.2. CARACTERIZAÇÃO DA PODRIDÃO PARDA

A podridão parda causada por *M. fructicola* é uma das principais doenças que afetam a cultura do pessegueiro e da ameixeira, sendo responsável pela destruição de considerável quantidade de frutos maduros, tanto no pomar quanto durante a comercialização (ANDRADE, 1995). As condições climáticas do Estado de Santa Catarina são favoráveis ao desenvolvimento da doença, devido às elevadas precipitações pluviométricas e temperaturas adequadas. Assim, o cultivo destas fruteiras requer uma série de medidas de controle, sem as quais inviabiliza-se a produção da maioria das variedades conhecidas (ANDRADE, 1995).

As espécies do gênero *Monilinia*, causadoras de podridão parda, são a *M. fructicola* encontrada na Austrália, África do Sul, Brasil, América do Sul e do Norte e listada como organismo em quarentena na Europa Mediterrânea; a *M. laxa* e *M.* na Europa (BLEICHER, 1997; MAY DE MIO et al., 2004).

O fungo *M. fructicola* pertence à classe dos Discomycetes, que são Ascomycetos com apotécio. Estes fungos são encontrados nos mais variados habitats, podendo exercer saprofitismo ou parasitismo e causar diversos tipos de doenças em plantas. Sua característica básica é a formação de esporos sexuais denominados ascósporos, dentro de uma estrutura chamada asco. Este fungo pertence à ordem Helotiales, produz escleródios bem desenvolvidos que determinam sua sobrevivência no inverno estes, ao germinar formam apotécios, típicos da ordem, onde são produzidos os ascos. Por meio desta estrutura, os ascósporos são projetados e disseminados pelo vento, constituindo-se no inóculo primário da doença (KRUGNER e BACCHI, 1995).

No Brasil, em função da variabilidade climática (temperatura e umidade), não existem referências sobre a produção natural da fase perfeita de *M. fructicola*. As infecções que ocorrem nas plantas são causadas pelo fungo em sua fase imperfeita, através de conídios que constituem o inóculo primário da doença (BLEICHER, 1997).

Epidemias de podridão parda sempre ocorrem com umidade elevada. A temperatura ótima para o crescimento micelial, germinação e produção de conídios é de 25 °C necessitando de um período mínimo de 18 horas a 10 °C e de 5 horas a 25 °C para ocorrência de infecção (CARVALHO, 1980; BLEICHER, 1997; MARTINS, 2005).

2.2.1. CICLO DAS RELAÇÕES DO HOSPEDEIRO *Monilinia* spp.

A sobrevivência do patógeno ocorre em frutos mumificados, pedúnculos florais, flores secas em ramos e cancos de ramos onde o mesmo permanece de um ano para outro da cultura, formando o inóculo inicial da doença (ANDRADE, 1995; BLEICHER, 1997; FORTES e MARTINS, 1998).

Em trabalho realizado na Califórnia, HONG et al. (1997b) constataram esporulações em múmias de nectarinas de até 60,3 % em pomar irrigado e de 37,6 % naqueles sem irrigação. Em outro estudo, os mesmos autores conseguiram a recuperação de *M. fructicola* em 93 % plaqueando tecidos de múmias em meio BDA, e 94 % de esporulação em múmias de nectarinas coletadas diretamente das plantas (HONG et al., 1997a). Estas informações demonstram a eficiência de sobrevivência do patógeno sobre múmias em campo e com isso a importância do controle cultural com a eliminação destas múmias para a redução do inóculo.

A disseminação de *M. fructicola* ocorre pelo vento, chuva, insetos e animais. Os conídios se instalam sobre flores e frutos que, em condições climáticas favoráveis conseguem penetrar pela cutícula ou ferimentos, dando início à infecção (BLEICHER, 1997; MARTINS et al., 2005).

Dentro de ciclo de disseminação do patógeno, outra fonte importante de inóculo de *M. fructicola* são os esporos provenientes de cancos de ramos, os quais em condições climáticas favoráveis produzem grande quantidade de conídios. Em trabalho realizado com cancos em pessegueiro, verificou-se que a esporulação pode iniciar com um mínimo de 12 horas de umidade a temperaturas entre 11 e 23 °C e que após 72 horas de umidade nestas temperaturas houve 31 % de frequência na esporulação (WATSON et al., 2002). Neste mesmo trabalho foi observado um aumento significativo no número de cancos esporulados para as temperaturas de 15 e 23 °C e houve uma redução de 31 para 6,3 % na frequência de esporulação em cancos coletados após pulverizações com iprodione e triforine, que podem ter eliminado grande parte do inóculo presente nestes cancos.

As infecções mais frequentes causadas por *M. fructicola* são: a morte de flores, cancos de ramos com possível anelamento e morte dos mesmos, manchas marrons e colonização de tecidos em frutos em desenvolvimento, podridões de frutos durante as fases

de colheita e pós-colheita e posteriormente a mumificação dos mesmos (EMERY et al., 2000; GARRIDO e SONÉGO, 2003; MAY DE MIO et al., 2004). Sintomas da doença podem ser observados na Figura 2.1.

Além disso, infecções podem ocorrer também em frutos em desenvolvimento que não produzem temporariamente nenhum sintoma visível, mas que são capazes de se exteriorizar em determinadas circunstâncias, chamadas “infecções latentes ou quiescentes” (AGRIOS, 1997). Segundo KIMATI et al. (1997) e MAY DE MIO et al. (2004) estas infecções têm início na flor que origina um fruto contaminado havendo manifestação do patógeno durante a maturação. Os conídios também podem permanecer dormentes entre os pêlos da superfície até a chegada da fase de maturação quando ocorre diminuição da resistência mecânica da epiderme (BYRDE e WILLETS, 1977). BRUTON (1994) cita que mecanismos como a insuficiência de potencial enzimático do fungo para invadir o fruto imaturo, a falta de energia e nutrientes requeridos pelo fungo em frutos verdes e a presença de toxinas prejudiciais ao seu desenvolvimento, podem ser os fatores da não transformação da infecção latente em ativa. No entanto, faltam estudos sobre a manifestação do patógeno ainda durante esta fase dos frutos enquanto presos às plantas em relação aos destacados das mesmas.

Diversos estudos são encontrados na literatura sobre a constatação de infecções latentes em frutos verdes como é o caso de infecções verificadas em damasco cujo estudo histológico sugeriu que houve penetração de micélio pelos estômatos dos mesmos (BYRDE e WILLETS, 1977; ZEHR, 1982). Também em damascos imaturos, JENKINS e REINGANUM (1965) observaram tais infecções com sintomas semelhantes aos frutos maduros. NORTHOVER e CERKAUSKAS (1994), utilizando a imersão seqüencial de frutos por 1 minuto em soluções de etanol 70 %, hipoclorito de sódio 2 %, paraquat 2 % e água estéril, observaram que frutos tratados com paraquat apresentaram um rápido desenvolvimento do patógeno após alguns dias armazenados tanto na luz como no escuro, atingindo até 95 % de incidência em ameixas provenientes de pomar comercial. O uso de paraquat em frutos verdes mostrou-se eficaz para a verificação de *M. fructicola* em frutos verdes de cerejas, permitindo seu crescimento saprofítico sobre os tecidos senescentes (ADASKAVEG et al., 2000). Da mesma forma, WITTIG et al. (1997) verificaram infecção latente em cerejas imaturas. MONDINO et al. (1997) verificaram 49,5 % de incidência de infecção latente em pêssegos de pomar sem controle da doença. No Brasil a ocorrência dessas infecções foi verificada em diversas cultivares de ameixeiras, pessegueiros e nectarineiras com frutos submetidos a diferentes tratamentos durante a fase de desenvolvimento em pomares comerciais no Estado do Paraná (MOREIRA e MAY DE MIO, 2007).

Desta forma, e conforme estudos disponíveis, verifica-se que a ocorrência de podridão parda em pêssegos tem relação com o estágio de desenvolvimento dos frutos, à concentração de inóculo e o microclima. Estudos epidemiológicos mais recentes a respeito revelaram que as fases de maior expressão da doença são o final da formação do caroço, final do crescimento do embrião e uma semana antes da colheita (LUO e MICHAILIDES, 2003). O conhecimento das fases de maior susceptibilidade da planta ao patógeno permite o estabelecimento de estratégias antecipadas de controle, as quais irão contribuir para a minimização de prejuízos nas fases finais da cultura e na pós-colheita (NORTHOVER e CERKAUSKAS, 1994; MONDINO et al., 1997; LUO e MICHAILIDES, 2003).

A colonização pelo patógeno sempre é rápida com a formação de micélio inter e intracelular. Em flores verifica-se a formação de esporos sobre o cálice e pecíolo. Na pré-colheita, frutos infectados apresentam o desenvolvimento de lesões pequenas pardacentas que evoluem para manchas marrons com a colonização dos tecidos vizinhos pelo fungo. Frutificações acinzentadas das estruturas do patógeno são facilmente vistas no campo, sobre frutos infectados. Com o passar do tempo estes frutos tornam-se completamente cobertos de esporos, que contribuem para novas infecções no pomar. Frutos maduros infectados pelo patógeno podem apresentar durante a colheita ou pós-colheita podridão visível dentro de 48 horas, apresentando podridões típicas da doença ou sofrendo rápida desidratação formando múmias que ficam presas na planta ou caídas ao chão (GARRIDO e SONÉGO, 2003).

A reprodução predominante de *M. fructicola* ocorre de forma assexuada pela formação de esporos provenientes de infecções secundárias, em períodos de clima favorável. A forma sexuada pode ocorrer pela formação de esporos no interior de estruturas denominadas ascos. Os ascos são produzidos por apotécios os quais são formados através da germinação de escleródios formados durante o inverno para a sobrevivência do fungo (KRUGNER e BACCHI, 1995; AGRIOS, 1997). Para a ocorrência desta fase denominada fase perfeita, são necessárias condições especiais de umidade e temperatura. No Brasil não há referências sobre a ocorrência de fase perfeita de *Monilinia* (WILLETTS, 1977; BLEICHER, 1997; BYRDE e HONG e MICHAILIDES, 1998). Uma visão ampla do ciclo de *M. fructicola* pode ser observada na Figura 2.2.

O clima brasileiro nos estados produtores de pêssegos é favorável ao desenvolvimento do patógeno considerando que o ciclo da cultura ocorre durante os meses de agosto a dezembro, período de temperatura em elevação e chuvas bem distribuídas. Assim, o cultivo desta fruteira requer uma série de medidas de controle, sem as quais inviabiliza-se a produção da maioria das variedades conhecidas.

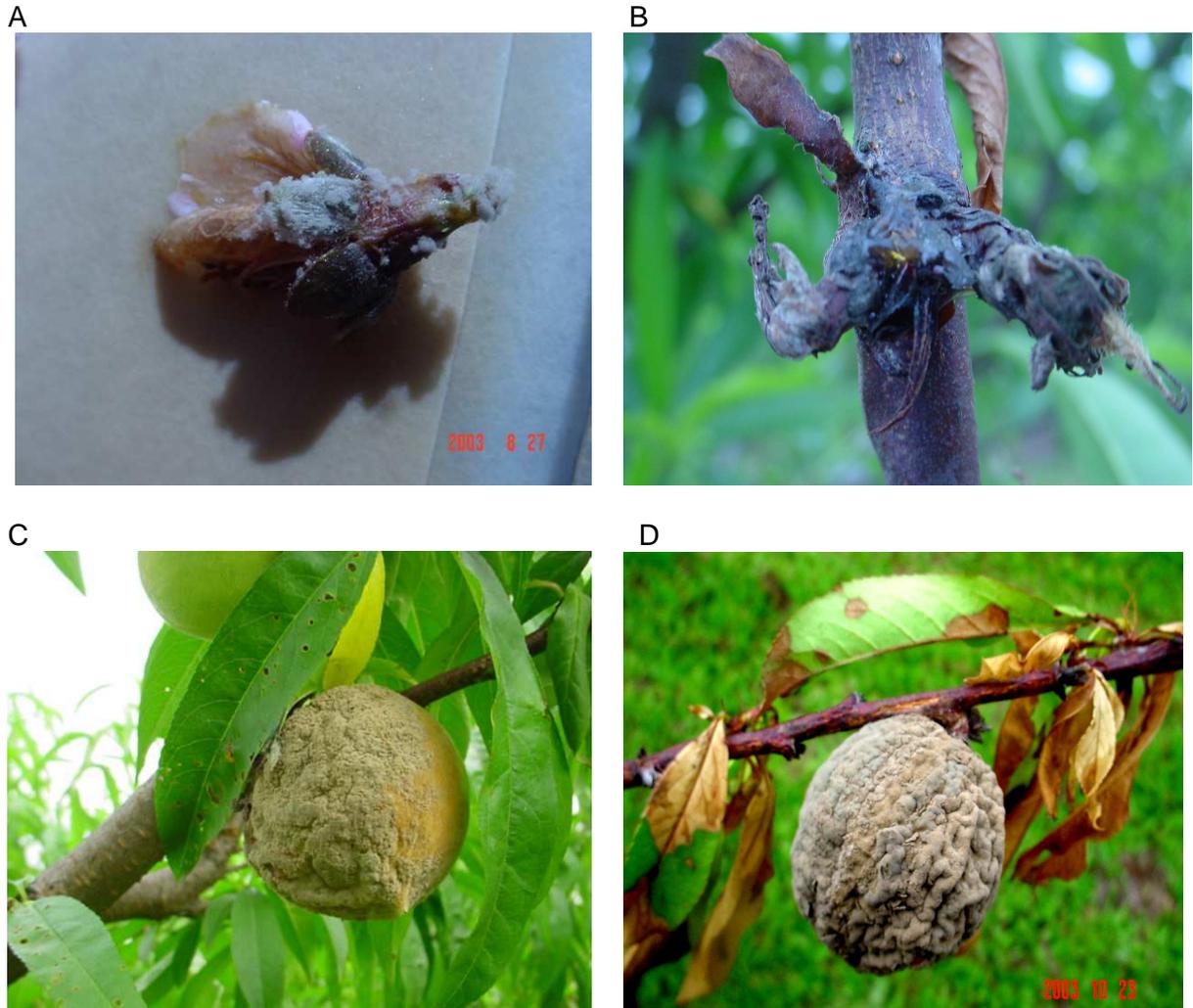


Figura 2.1- Sintomas de podridão parda causada por *Monilinia fructicola*, em flores, ramos e frutos de pessegueiro.

(A) Sintomas em flores, (B) Cancros em ramos, (C) Sintomas na colheita, (D) Sintomas em múmias. Fotos (MAY DE MIO, L.L., 2004).

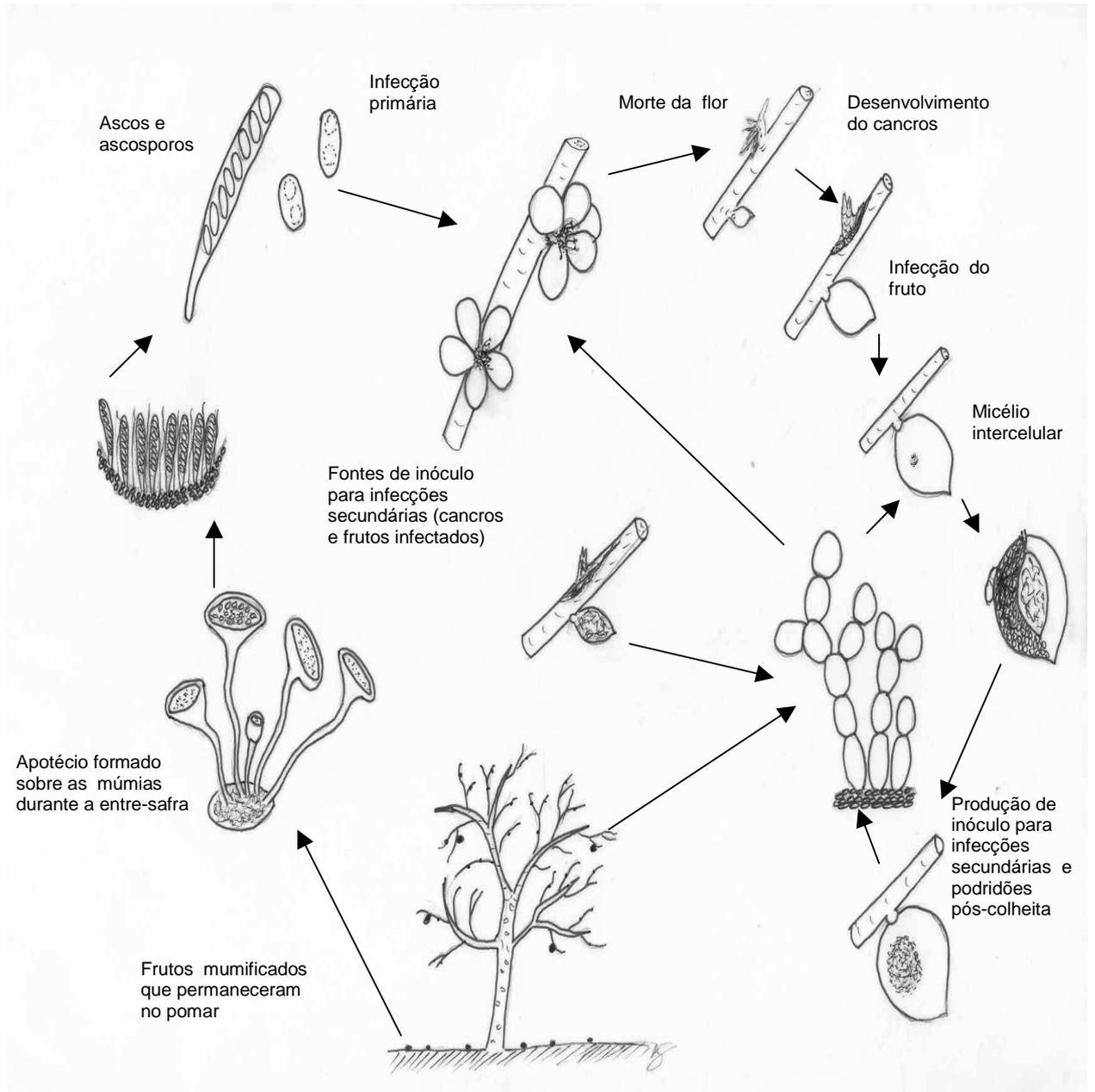


Figura 2.2 – Ciclo da *Monilinia fructicola* em pessegueiro (Ilustração GARRIDO, L.; MAY DE MIO et al., 2004).

2.3. CONTROLE DA DOENÇA

O controle da podridão parda na cultura do pessegueiro é baseado na manutenção de saneamento adequado dos pomares pela falta de variedades resistentes à doença. Várias metodologias de controle de *Monilinia sp.* têm sido relatadas, como os controles cultural, físico, químico e biológico, durante o ciclo da cultura ou em pós-colheita (FORTES, 1993; ANDRADE, 1995; BLEICHER, 1997; BERGAMIN FILHO et al., 1995; GALLI, 1980; MAY DE MIO et al., 2004).

As principais medidas de profilaxia são o controle cultural o qual consiste em poda de limpeza de inverno, com a eliminação de ramos doentes, capulhos florais e frutos mumificados, que devem ser queimados (ANDRADE, 1995). Durante a fase de repouso vegetativo é recomendado um tratamento de natureza erradicante com produtos à base de enxofre, como calda sulfocálcica e cúpricos para eliminação de inóculo o qual poderá causar novas infecções em pré e pós-colheita (CARVALHO, 1980; HONG et al., 1997b; FORTES e MARTINS, 1998).

Em pomares onde existe alta pressão da podridão parda, deve-se iniciar o tratamento químico quando as sépalas estão se tornando visíveis. A pulverização seguinte deve ser feita na fase de plena floração, na queda das pétalas e separação do cálice (RASEIRA et al., 1990; ANDRADE, 1995; MONDIN e HICKEL, 1995; BLEICHER, 1997; FORTES e MARTINS, 1998). O número destes tratamentos é reduzido sempre que as condições climáticas não forem favoráveis à ocorrência da podridão parda. Pulverizações de pré-colheita são realizadas aos vinte e um, catorze e sete dias antes da colheita. Os produtos indicados para o controle da doença são os fungicidas químicos comerciais como benomyl, tiofanato metílico, vinclozolin, iprodione, triforine, mancozeb, dicloran, captan, dodine, clorothalonil, myclobutanil, fenbucanazole e propiconazole, enxofre e cúpricos (FELICIANO e SACHS, 1984; RASEIRA et al., 1990; ANDRADE, 1995; MONDIN e HICKEL, 1995; BLEICHER, 1997; FORTES e MARTINS, 1998). É recomendada o controle de pragas e insetos desde o início do desenvolvimento dos frutos até a colheita (FELICIANO e SACHS, 1984; AGRIOS, 1997; BLEICHER, 1997).

2.3.1. CONTROLE COM PRODUTOS ALTERNATIVOS AOS FUNGICIDAS PADRÕES

Segundo PENTEADO (1998) são considerados alternativos todos os produtos químicos, biológicos, orgânicos ou naturais que possuem características de baixa toxicidade (classe toxicológica IV), custo reduzido para aquisição e emprego, baixa ou nenhuma agressividade ao homem e à natureza, simplicidade quanto ao manejo e aplicação,

eficiência no combate aos insetos e microorganismos nocivos, alta disponibilidade para aquisição e não favorecer formas de resistência a insetos e microorganismos.

O uso de agrotóxicos na agricultura moderna, visando atender a demanda mundial por alimentos, tem causado problemas ambientais como a contaminação de alimentos, do solo, da água e animais; intoxicação de agricultores, ressurgimento de algumas pragas, resistência de patógenos e pragas invasoras a determinados produtos (BURG, 2001; MONDINO, 2002; STADNIK e TALAMINI, 2004). Neste sentido é imprescindível o fortalecimento da agricultura ecológica e orgânica na busca de alimentos mais limpos e livres de agrotóxicos (PINHEIRO e BARRETO, 1996; WORDELL FILHO, 2004).

Considerando estes problemas e o elevado custo de produção pela carga de produtos químicos utilizados, muitos produtores passaram a optar por técnicas alternativas de produção, que possibilitam tirar vantagem dos processos naturais e das interações biológicas benéficas para o solo e plantas, reduzindo o uso de recursos externos e melhorando a eficiência das operações. Desta forma muitos produtores rurais buscam diversificar suas operações, usando os mais variados recursos internos disponíveis. Eles estão preferindo sistemas alternativos de manejo das culturas incluindo aproveitamento de potencial genético e biológico dos cultivares (MIYASAKA, 1997; PRIMAVESI, 1990; PAULA JÚNIOR et al., 2005).

Alguns produtos alternativos para o controle da podridão parda são indicados por vários autores, como a calda sulfocálcica, sulfato de cobre, enxofre coloidal, iodo e alguns indutores de resistência na sua grande maioria baseados em produtos minerais ou vegetais. No entanto, o uso destes produtos somente não tem sido suficiente ao controle da podridão parda do pessegueiro em campo (GALLI, 1980; FORTES, 1993; PINHEIRO e BARRETO, 1996; ABREU JUNIOR, 1998; CHABOUSSOU, 1999; BURG e MAYER, 2001; STADNIK e TALAMINI, 2004).

Na pós-colheita, outras técnicas consideradas alternativas para o controle de podridões de frutos estão sendo pesquisadas como o uso de gás ozônio, compostos naturais, ácidos orgânicos, ácido paracético, sanificantes, indutores de resistência, fosfitos e silicatos entre outras (PEREIRA e KARUNARATNE, 2001; PALOU et al., 2002; ROMANAZZI et al., 2002; TEIXEIRA-YAÑES et al., 2004; STADNIK e TALAMINI, 2004).

Alguns nutrientes minerais exercem importantes funções no metabolismo vegetal, influenciando não somente o crescimento e a produção das plantas, mas também o aumento ou a redução da resistência a determinados patógenos. O cálcio por exemplo, pode induzir resistência em plantas através do seu efeito no metabolismo de pectinas (THOMAS, 1966). Esse elemento modifica as pectinas hidrossolúveis em polipectato

insolúvel que é resistente às enzimas pectolíticas dos patógenos. A severidade da murcha, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopercisi*, Snyder e Hansen, tem sido controlada com correção da deficiência de cálcio, admitindo-se que o mesmo inibe a atividade da poligalacturonase produzida pelo *Fusarium* (CORDEN, 1965).

Trabalhos para o controle de *M. fructicola* com produtos alternativos podem ser citados com o de ADASKAVEG et al. (1992) que utilizaram materiais, como o formiato e silicato de cálcio (2 g.L^{-1}), “materiais formadores de película” (20 mL.L^{-1}) e a resina acrílica (20 mL.L^{-1}), comparando-os ao iprodione, no controle de *M. fructicola* em pré-colheita e *in vitro*. A resina acrílica e os sais de cálcio mostraram fungitoxicidade *in vitro*, enquanto o material formador de película inibiu a germinação dos conídios do fungo. O formiato de cálcio promoveu um controle similar ao iprodione.

BERTON et al. (1992) avaliaram o uso de cloreto de cálcio (CaCl_2 a 0,5 %), aplicado em pré-colheita associado ao iprodione em pós-colheita. A aplicação de (CaCl_2) em pré-colheita, reduziu a podridão dos frutos, e quando houve a associação com iprodione em pós-colheita, o número de frutos sadios foi de até 98,25 % enquanto o iprodione sem combinação controlou 85 % da doença.

BIGGS et al. (1997) testaram sais de cálcio *in vitro* para o controle de *M. fructicola*. O trabalho envolveu o uso de propionato, hidróxido, óxido, silicato e pirofosfato de cálcio. O propionato chegou a controlar 90 % da doença, enquanto que os demais chegaram a 65 % de controle.

A calda sulfocálcica é considerada um defensivo alternativo permitido pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento para o uso na agricultura orgânica. A base do produto é a cal virgem e o enxofre e pode ser preparada na própria propriedade rural. Além de fertilizante foliar é também considerado acaricida, fungicida e inseticida pela ação dos polissulfetos de cálcio, principalmente os tetra e pentasulfetos (ABREU JUNIOR, 1998; AZEVEDO, 2003).

A calda sulfocálcica é recomendada como tratamento erradicante principalmente, para o período de inverno em plantas como pessegueiros, pereiras, macieiras, figueiras, parreiras e ameixeiras (CARVALHO, 1980; FORTES e MARTINS, 1998). Nas diluições recomendadas são inócuos aos mamíferos, sendo, portanto, de aplicação bastante segura. Sua classificação toxicológica é de classe IV, têm grau médio de ação sobre os predadores, estando, portanto de acordo com os conceitos do manejo integrado de pragas - MIP. É de custo bastante baixo e pode ser adquirido comercialmente ou produzida na própria propriedade (ABREU JUNIOR, 1998). Além de sua ação fitossanitária fornece nutrientes às plantas tais como cálcio e enxofre (possui 19 % de enxofre e 8 % de cálcio), tem ação

rápida sobre ácaros e certos insetos diminuindo perdas por ocorrência de chuvas logo após os tratamentos (ABREU JUNIOR, 1998; AZEVEDO, 2003).

Em relação à forma de aplicação da calda sulfocálcica, preconiza-se que a mesma deve ter entre 25 a 33 graus Baumé. Não deve ser aplicada em dias muito ensolarados, devendo ser observado um intervalo mínimo de 15 dias após aplicação da calda bordalesa e no máximo 10 dias antes da colheita. Cuidados especiais devem ser tomados com equipamentos, roupas e pele em função de seu elevado grau de corrosão (BURG et al., 2001). Para o controle da podridão parda a calda sulfocálcica deve ser diluída para 3,5 °Bé, devendo ser aplicada em períodos frescos do dia, evitando ser aplicada em dias sujeitos a geadas ou em temperaturas acima de 32 °C (PAULUS, 2001; AZEVEDO, 2003).

O Iodo também é permitido na produção vegetal pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento pela Instrução Normativa 007 de 17 de maio de 1999. Nas plantas é considerado um micronutriente, mas ainda hoje não há condições de determinar a função quali-quantitativa do mesmo para o metabolismo dos vegetais (PINHEIRO e BARRETO, 1996).

A utilização do Iodo como fungicida ainda não tem sido explorada de forma a comprovar sua eficiência no controle ou prevenção de doenças, principalmente aquelas causadas por fungos e bactérias. No Brasil, existe trabalho no Rio Grande do Sul com uso de Iodo para o controle de doenças fúngicas na fruticultura, no entanto, há falta de publicações sobre o assunto. Em Santa Catarina, com base nos trabalhos desenvolvidos no Rio Grande do Sul, a EPAGRI, Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural, tem testado com êxito a aplicação do Iodo 2 % na concentração de 30 mL.100. L⁻¹ de água, associado à calda sulfocálcica para manejar a sarna da ameixeira, *Cladosporium carpophilum* Thüm, cultivada em sistema orgânico e para controle da podridão parda na cultura da ameixeira (GONÇALVES et al., 2005). Atualmente alguns produtores em sistemas orgânicos do Alto Vale do Itajaí em Santa Catarina vêm utilizando o produto também na cultura do pessegueiro.

2.3.1.1. PRODUTOS LIBERADOS PARA PRODUÇÃO ORGÂNICA

A produção de orgânicos no Brasil é ainda incipiente, relativamente às atividades na Europa e na América de Norte cujo modelo de produção teve início em 1920 (CAMARGO et al., 2004). No final do século XX, o Brasil ocupava o trigésimo quarto lugar no “ranking” dos países exportadores de produtos orgânicos. Nos últimos anos o crescimento das vendas chegou a 50 % ao ano e as áreas cultivadas poderiam estar perto dos 100 mil hectares, em cerca de 5.000 unidades de produção orgânica. Segundo os estudos realizados,

consideraram que aproximadamente 70 % da produção orgânica brasileira encontra-se nos Estados do Paraná, São Paulo, Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Paraná, cujos mercados vêm aumentando significativamente (DAROLT, 2000).

Segundo a Instrução Normativa nº 007, de 17 de maio de 1999, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, considera-se sistema orgânico todo aquele em que se adotam tecnologias que otimizem o uso de recursos naturais e sócioeconômicos, tendo por objetivo a auto-sustentação no tempo e no espaço, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energias não renováveis e a eliminação do emprego de agrotóxicos e de outros insumos artificiais tóxicos, organismos geneticamente modificados (OMG/transgênicos) ou radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, armazenamento e consumo, privilegiando a preservação da saúde ambiental e humana e assegurando a transparência em todos os estágios de produção e da transformação (MAA, 1999). Em suma, busca-se não apenas a oferta de produtos saudáveis e de elevado valor nutricional, isentos de qualquer tipo de contaminantes que ponham em risco a vida do consumidor, do agricultor e do meio ambiente, como também a preservação e ampliação da biodiversidade dos ecossistemas e a conservação das condições físicas, químicas e biológicas do solo, da água e do ar.

O cultivo orgânico de frutas de caroço, como o pessegueiro, é possível, com muitas vantagens para o agricultor. Adubar com fertilizantes orgânicos, como compostos e húmus de minhocas, com acompanhamento do estado nutricional da planta evitando o excesso de nitrogênio e o déficit de potássio, permitem adubação equilibrada, que não libera aminoácidos para as pragas e patógenos. As plantas tratadas com defensivos alternativos, como calda sulfocálcica e biofertilizantes ficam mais resistentes, reduzindo em 80 a 90 % dos ataques às plantas. O solo deve ser manejado com roçadeira, mantendo sempre a sua cobertura, evitando erosão e garantindo a presença dos inimigos naturais. A produtividade não é afetada, porém os frutos são mais aromáticos e saborosos. Além destas práticas, o uso de variedades resistentes, métodos culturais, físicos, tratamentos erradicantes no inverno e o controle biológico de pragas e doenças são recomendados (CARVALHO, 1980; OGAWA et al., 1995; FORTES e MARTINS, 1998).

Para o controle de doenças fúngicas são permitidos pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento o uso de enxofre simples e suas preparações, a critério da certificadora, pó de pedra, um terço de sulfato de alumínio e dois terços de argila (caulim ou bentonita) em solução a 1 %, sais de cobre, própolis, cal hidratado, iodo, extratos de plantas, vermicomposto, calda bordaleza e sulfocálcica e homeopatia.

2.3.1.2. FOSFITOS

Outros produtos alternativos que vêm sendo utilizado na agricultura orgânica são os fosfitos cuja ação sobre os fungos pode se dar de forma direta (FENN e COFFEY, 1985; ROHRBACH e SCHENCK, 1985) ou através da ativação de mecanismos de defesa da planta, como o estímulo à produção de fitoalexinas (GUEST e GRANT, 1991; JACKSON et al., 2000; SAINDRENAN et al., 1988) ou ainda por meio de uma maior lignificação e produção de fenóis (NOJOSA et al., 2005).

O ácido fosforoso possui propriedades indutoras de resistência nos vegetais (WILD et al., 1998; GUEST e GRANT, 1991; JACKSON et al., 2000) e pode também reduzir a esporulação dos patógenos nas plantas, possibilitando com isso a redução na incidência e na severidade das doenças (PANICKER e GANGADHARAN, 1999).

Os fosfitos são rapidamente absorvidos pelas plantas, quer pelas raízes, folhas ou tronco. Apresentam ação sistêmica e são translocados via xilema ou floema (GUEST e GRANT, 1991), o que facilita sua ação e forma de utilização. Dependendo da cultura, a translocação das folhas para as raízes pode ocorrer num prazo de até 24 horas (ROHRBACH e SCHENCK, 1985) e permanecer ativo por até 160 dias conforme observado em citrus (MATHERON e MATJKA, 1988).

Experiências com fosfitos na fruticultura iniciaram na Austrália em 1983 para controle da podridão da raiz do abacateiro causada por *Phytophthora cinnamomi* Rands. Testes posteriores sobre outros fungos pertencentes à mesma família e em culturas diversas apontavam resultados positivos, com maior destaque para gomoses, cancrios, podridões do caule e das raízes, e míldios da videira e das hortaliças, passando a ser comumente utilizado na Austrália, África do Sul, Israel, Estados Unidos, Europa e mais recentemente na América do Sul e Central (BRANDÃO, 2006). WICKS et al. (1996) verificaram bons resultados no controle de míldios e doenças causadas por *Phytophthora* spp.

Ensaio conduzidos na Austrália mostraram que o ácido fosforoso aplicado depois da infecção inibiu o desenvolvimento de *Plasmopara viticola* Berl. e De Toni em folhas e cachos de uvas. Em alguns ensaios, o efeito do ácido fosforoso foi equivalente ou até melhor do que o metalaxyl ou metalaxyl + mancozeb (WICKS et al., 1991). A ação deste tratamento com fosfito de potássio foi principalmente pela significativa redução na esporulação e aceleração da necrose das manchas de “óleo” do míldio, que uma vez secas erradicam eficientemente a doença, evitando a produção de inóculo (REUVENI, 1997).

Também na Austrália, GRANT (1994) obteve controle do mal-do-Panamá, causado por *Fusarium oxysporum*, variedade cubense Snyder e Hansen, raça 4, com o uso de

fosfitos de potássio na cultura da bananeira. O estudo demonstrou que o fosfito inibiu o crescimento do patógeno.

Na cultura da laranjeira "Hamlin", FEICHTENBERGER e TAVEL (1999) avaliaram o efeito de fungicidas sistêmicos e de fosfitos no desenvolvimento de lesões causadas por *Phytophthora parasítica* Dastur, induzidas experimentalmente no tronco das plantas. Os fosfitos de K e N utilizados apresentaram resultados significativos inclusive superiores a alguns fungicidas sistêmicos na redução das lesões.

Na Nova Zelândia houve relato da eficiência do fosfito misturado ao fungicida metiram no controle da sarna e oídio da macieira, em condições de baixa pressão de doença (GEELEN, 1999).

Estudos feitos em Israel demonstraram eficácia do fosfito de potássio no controle do mofo no interior dos frutos da macieira causado por *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., comparado a outro fungicida (β -aminobutyric acid.). O uso do fosfito de potássio reduziu em 60 % o número de frutos com a doença (REUVENI et al., 2003).

O instituto de pesquisas do cacau em parceria com o instituto de recursos naturais de Ghana mostrou que o fosfito de potássio injetado em hastes do cacau é tão eficiente quanto ao uso do metalaxyl e cobre no controle da *Phytophthora megakarya* Brasier e Griffin (MARK e KEITH, 2002).

Um estudo em Queensland, norte da Austrália demonstrou que o uso do fosfito de potássio (10 g/L) reduziu em 47 % a podridão da raiz causada por *Phytophthora palmivora* Butler, na cultura do mamão papaya (VAWDREY et al., 2004).

Os primeiros testes desenvolvidos no Brasil com o uso de fosfitos foram feitos no final dos anos 80 e início dos anos 90. Ultimamente, empresas de pesquisa estão voltando atenção para o uso destes produtos ao tratamento de doenças das plantas, principalmente após resultados obtidos em experimentos com videira, citrus e macieira.

O fosfito de CaB foi testado nas doses de 0, 0,75, 1,5 e 3,0 (mL/L) para controle das podridões da maçã em pós-colheita. O fosfito de CaB (1,5 e 3,0 mL/L) reduziu significativamente ($p \leq 5\%$) a incidência e o tamanho das lesões causadas por *Penicillium expansum* Link, na cultivar Fuji, porém, não foi eficiente no controle das podridões amarga, *Glomerella cigulata* Stonem, e olho de boi, *Pezicula malicorticis* (Jacks.) Nannfeld. Strains, nos cultivares Fuji e Gala (GUIMARÃES et al., 2001).

Testes com Fitofos CaB (10,7 % de P_2O_5 , 3,89 % de Ca e 0,5 % de B) e 'Fitofos K Plus' (40 % de P_2O_5 e 30 % de K_2O) foram usados para controle pós-colheita do mofo azul em maçã causado por *P. expansum*, concluindo-se que a adição de Fosfito CaB (1,5 mL/L)

ou Fosfito K (0,5 e 1,5 mL/L) em água contaminada com *P. expansum* foi tão eficiente quanto a adição de benomil (150 ppm) na redução da doença nas cultivares 'Fuji' e 'Gala'. Frutos tratados com fosfito de K (1,5 mL/L) e benomil (150 ppm) foram menos afetados pela doença do que aqueles submetidos aos demais tratamentos (HACK NETO et al., 2002).

VALDEBENITO-SANHUEZA (1991a; 1991b) verificou efeito positivo dos fosfitos na redução de lesões de *Phytophthora cactorum* (Lebert e Cohn) Schröter na cultura da maçã, cultivar Fuji, enxertadas sobre porta-enxerto MM106 e inoculadas artificialmente. Na Nova Zelândia, GEELLEN (1999) relatou resultados satisfatórios no controle de sarna e oídio em macieira com a mistura de fosfitos e o fungicida metiram sob baixa pressão da doença. Em ensaios in vitro e testes preliminares realizados em campo com uso de fosfitos, BONETI e KATSURAYAMA (2002) observaram bons resultados em macieira, cultivar Fuji, para o controle da podridão branca (*Botryosphaeria dothidea*) (Moug. Fr) Ces e De Not., podridão amarga (*G. cingulata*), fuligem (*Gloeodes pomigena*) (Schw.) Colby e sujeira de mosca (*Schizothyrium pomi*) (Mont. e Fr.) Arx. Resultados eficientes também foram observados no controle da sarna da macieira (*Venturia inaequalis*) (Cke.) Wint., com aplicações de fosfitos de K a cada sete a dez dias (BONETI e KATSURAYAMA, 2005).

BRACKMANN et al. (2004) avaliaram o uso de fosfito de potássio (250mL.100L⁻¹), + CaCl₂ (2 %), fosfito de cálcio (300mL.100L⁻¹) e fosfito de cálcio mais boro (Ca + B) (300mL.100L⁻¹) no controle de podridões da maçã 'Fuji' em pós-colheita. A conclusão do trabalho indicou que a aplicação de fosfito de potássio (250mL.100L⁻¹), associado ao CaCl₂ (2 %) apresentou resultados satisfatórios no controle de podridões pós-colheita em maçãs 'Fuji' frigoconservadas, podendo substituir o fungicida iprodione.

Para o controle do míldio da videira REUVENI (1997) aplicou fosfito de potássio K₃PO₃ combinado com dimethomorph o qual demonstrou eficiência na inibição da doença. Outra avaliação importante deste trabalho foi a observação do aparecimento de sintomas de fitotoxidade nas folhas, devido a aplicações freqüentes e/ou dosagens muito elevadas. Além disso, ocorreram algumas queimaduras nas bordas das folhas da videira quando a aplicação foi feita nas horas mais quentes do dia com intensa radiação solar.

Na Epagri, Estação Experimental de Videira-SC, foram conduzidos dois ensaios comparando o uso de fosfito de potássio com fungicidas tradicionalmente utilizados no controle do míldio da videira (*P. viticola*). Um experimento avaliou o uso dos produtos preventivamente, enquanto que o outro avaliou o efeito curativo destes. Em ambos os experimentos, o fosfito de potássio mostrou-se eficiente para o controle da doença (DALBÓ e SCHUCK, 2003).

Este trabalho demonstrou ainda que o reaparecimento da doença é mais prolongado em plantas tratadas com fosfitos e que as plantas mantiveram as folhas por mais tempo. Uma possível explicação reside no mecanismo de ação atribuído aos fosfitos que consiste na ativação do sistema de defesa da planta, a qual teria um efeito adicional e mais prolongado em relação à ação direta do fosfito sobre o fungo (SMILLIE et al., 1989). As plantas tratadas com fosfito de K continuaram a emitir folhas novas com mais intensidade que nos demais tratamentos, o que resultou num maior enfolhamento.

Experimentos iniciados em 1997 e concluídos em 2003 foram realizados na EMBRAPA uva e vinho de Bento Gonçalves, com uso de fosfitos para o controle do míldio da videira. Os resultados mostraram que o tratamento com os fosfitos de CaB e K apresentaram alta eficácia no controle da doença, tanto na folha quanto no cacho, sendo equivalente aos tratamentos padrão utilizados com o uso de fungicidas comerciais. Neste experimento foram utilizados dentre outros o Fitofós K e CaB na dosagem de 200 e 300 mL/100 litros de água (SONEGO e CZERMAINSKI, 2003).

Outros trabalhos com fosfito de potássio na cultura da videira para o controle do míldio *P. viticola* no Rio Grande do Sul foram realizados com diversas marcas de fosfito de potássio em diferentes concentrações de NPK, sendo as mais comuns: 00-40-20; 00-28-26; 00-30-20. Os experimentos mostraram elevada eficácia destes fosfitos no controle do míldio da videira, tanto que a partir das safras 2002/2003 estes produtos foram muito utilizados em substituição aos fungicidas tradicionais (SONEGO e GARRIDO, 2005).

Conforme MOREIRA (1999), em trabalho de dissertação de mestrado no município da Lapa – PR, demonstrou que o fosfito de K (47,5 mL para 16 L de água), em pré-colheita e (0,4 mL para 200 mL de água) em pós-colheita reduziu em 26,5 e 57 %, respectivamente, a incidência de podridão parda no pêssego.

Além dos trabalhos realizados com fosfitos na fruticultura, existem também experimentos em outras plantas e culturas como é o caso de trabalhos para controle da *P. cinnamomi* em raiz de *Eucalyptus marginata* Donn ex Sm. (JACKSON et al., 2000), *Peronospora parasitica* (Pers.) Fr. em couve flor (BÉCOT et al., 2000), míldio da alface (PAJOT et al., 2001), *Peronospora capsici* Tao e Li em tomateiro e pimenteira (FÖRSTER et al., 1998; SALA et al., 2004), *Alternaria solani* (Ellis e Martin) Jones e Grout e *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary em tomate (DOMINGUES et al., 2005; GALLI et al., 2005), *P. cactorum* na cultura do morango (REBOLLAR e ELLES 2004), *P. infestans* e *Phytophthora erythroseptica* Pethybr., (MILLER et al., 2006) em tubérculos de batata em pós-colheita, *Phytophthora destructor* (Berk.) Casp. ex Berk. em cebola (KATSURAYAMA e BONETI, 2002), *P. cinnamomi* em ecossistemas naturais (HARDY et al., 2001), *Banksia brownii* (R.

Br.) e *P. cinnamomi* em planta exótica da Austrália *Xanthorrhoea australis* R. Br.) (DANIEL et al., 2005), *P. palmivora* em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (DANIEL e GUEST, 2006), *Phytophthora citrophthora* (R.E. Sm. e E.H. Sm.) Leonian e *Peronospora nicotianae* Speg. em cafeeiro e míldio, *Peronospora sparsa* Berk em roseira (ANN, 2001) e ainda para melhoria na produção de cana-de-açúcar (VITTI, 2005) e da soja (BRANDÃO, 2006).

O controle alternativo de doenças na fruticultura é uma opção que poderá viabilizar a produção nos próximos anos auxiliando na redução dos custos e contribuindo para o processo de transição do modelo convencional para o orgânico. Novas pesquisas no campo da produção vegetal, especialmente em fitossanitarismo, poderão contribuir significativamente para a adoção de técnicas que venham a atender os princípios do LISA “*Low Input and Sustainable Agriculture*” (baixo custo e agricultura sustentável) (KOZAKI, 2001). Segundo FLORES (2001), a evolução deste processo é impulsionada pelo mercado consumidor, o qual participa na determinação do padrão de qualidade, sanidade e preço. O incremento mundial da produção é um bom exemplo disto. Assim, toda a nova tecnologia precisa atender aos anseios sociais, como afirmam KOGAN e SHENK (2002), “*sendo o agro-sistema o resultado da sobreposição das escalas ecológicas e socioeconômicas, nenhuma inovação será adotada se não contribuir para os objetivos econômicos do produtor e alcançar os requisitos de aceitação por parte da sociedade*”.

2.3.1.3. CONTROLE BIOLÓGICO

Os altos custos ambientais e econômicos derivados do uso de agrotóxicos na agricultura resultaram num maior esforço em pesquisas direcionadas ao desenvolvimento de sistemas de controle de pragas e doenças através de agentes biológicos. As maiores vantagens da adoção deste método pelos agricultores são um impacto ambiental menor e maior segurança ao homem, tanto para aqueles que aplicam os produtos quanto para o consumidor dos alimentos tratados, sem falar nos sistemas de produção dos biopesticidas menos poluentes que os agrotóxicos, além de sua maior seletividade (MONDINO, 2002). O uso de agrotóxicos, além de atingir os organismos-alvo, podem causar efeitos danosos a outros organismos, incluindo aqueles benéficos para a agricultura, como insetos-predadores, microrganismos fixadores de nitrogênio, micorrizas e decompositores da matéria orgânica. (COOK e BAKER, 1983; STADNICK e TALAMINI, 2004).

IPPOLITO e NIGRO (2000) enfatizam que um controlador biológico deve resistir às variações climáticas quando utilizados em pré-colheita com grande capacidade de adesão sobre o hospedeiro. WISNIEWSKI e WILSON (1992) citam que para o uso em pós-colheita o antagonista deve ser geneticamente estável, efetivo a baixas concentrações, não seja

exigente em requerimentos nutricionais, seja hábil para sobreviver em condições ambientais adversas, efetivo contra uma ampla gama de fitopatógenos, possa ser formulado com longa vida útil, não produza metabólitos nocivos à saúde humana e apresente resistência aos produtos químicos utilizados.

Os trabalhos com controladores biológicos para doenças de plantas são bastante recentes, sendo que os mais importantes surgiram a partir da década de 90. Para o controle da podridão parda do pessegueiro, os experimentos “*in vitro*” foram historicamente voltados para o controle pós-colheita e com resultados positivos, mas o avanço para aplicações em campo ainda é limitado. Um trabalho em campo foi desenvolvido por DE CAL et al. (1990) com uso do antagonista *Penicillium frequentans* Westling, sozinho ou em alternância com o fungicida captan, aplicado em ramos de pessegueiro para controle da *M. laxa*. O antagonista preparado com nutrientes reduziu a doença em até 80 %. A combinação do antagonista com o fungicida captan apresentou controle similar ao uso dos dois produtos isoladamente. SMILANICK et al. (1993) verificaram que *Pseudomonas cepacia* (Burkholder) Palleroni e Holmes reduziu o tamanho da lesão de *M. fructicola* sobre nectarinas imersas em suspensão por duas a seis horas após terem sido inoculadas com o patógeno. Da mesma forma, experimentos com *Epicoccum nigrum* Link, sozinho ou combinado com captan foram utilizados em pessegueiros inoculados com *M. laxa*. A eficiência do antagonista associado ao captan proporcionou controle da doença similar à utilização isolada dos dois produtos (MADRIGAL et al., 1994).

MADRIGAL e MELGAREJO (1995) verificaram que o antagonista *E. nigrum* ocasionou alterações na colônia de *M. laxa* como o aparecimento de hifas espiraladas, dilatações, deformações, ramificações curtas e freqüentes, além de vacuolização, desorganização e coagulação das hifas, tubos germinativos e esporos do patógeno. Interferências também no crescimento deste patógeno com modificações da coloração das colônias, a destruição de hifas e alterações na esporulação foram observadas em testes com *Penicillium rugulosum* Thom (LEITES et al., 1997).

Outro trabalho em campo foi realizado por WITTIG et al. (1997) nos Estados Unidos com o uso dos microorganismos *Aureobasidium pullulans* (de Barri) G. Arnaud, *Epicoccum purpurascens* Link e *Gliocladium roseum* Bainier aplicados sobre flores de cerejeiras infectadas com *M. fructicola*. No experimento houve uma redução de 93,4 % de incidência do patógeno nas flores tratadas com *E. purpurascens* em câmara de nebulização, e também de 100 % nas tratadas com benomyl, e 56,5 % com iprodione. Testes em campo proporcionaram 45 a 47 % de redução do patógeno quando tratadas com *E. purpurascens* e *A. pullulans*, comparados ao iprodione que foi de 98 %, enquanto que o *G. roseum* não apresentou eficiência de controle. Nesta mesma linha SCHENA et al. (2003) testaram *A.*

pullulans (isolado 547) obtendo 47 % de redução de podridão em cerejeiras na pré-colheita. Este estudo demonstrou que o antagonista sobreviveu nas condições de campo, apresentou aumento da população durante a estocagem dos frutos a baixas temperaturas e foi capaz de penetrar nos frutos quando aplicado durante a floração demonstrando sua habilidade de viver interna e externamente a estes.

Na Espanha, PASCUAL et al. (2000) testaram o antagonista *P. frequentans* em lesões de ramos de pessegueiro causadas por *M. laxa*, tendo verificado reduções significativas e similares das lesões para o antagonista produzido em meio com potencial reduzido e não reduzido de água.

Outro experimento mais recente foi realizado com o antagonista *E. nigrum* aplicado em 4 pulverizações (2 na floração e 2 na pré-colheita) de pessegueiros para controle de *M. laxa* obtendo-se controle de 42 % com o antagonista contra 26 % com fungicida na Espanha, 12 a 39 % contra 17 a 54 % na Itália e 4 a 17 % contra 29 a 51 % na França, sendo que a incidência da doença na testemunha variou entre 58 a 84 % (LARENA et al., 2005). Os mesmos autores verificaram que entre os pomares avaliados, houve maior ocorrência de *M. laxa* (85 a 90 %), seguida de *M. fructigena* (10 a 15 %) obtidas na Espanha e Itália, porém na França em 2001, foi encontrada a *M. fructicola*, que é considerado um microorganismo quarentenário na Europa e que segundo BYRDE e WILLETTS (1977) é uma espécie mais virulenta que as anteriores, o que pode explicar a causa do baixo nível de controle obtido na França.

Outros trabalhos com controle biológico em pós-colheita podem ser citados com a utilização de fungos e bactérias antagonistas como o *Trichoderma atroviride* (Karsten), *Trichoderma viride* (Persoon: Fries) e *Candida spp.* (HONG et al., 1998), *E. nigrum* (LARENA et al., 2004), *P. frequentans* (GUIJARRO et al., 2007), *Pseudomonas syringae* Strain, (MA-4 e NSA-6), *Pseudomonas fluorescens* Braz. arch. (BAP-3) e *Cândida sp.* (NSD-4) (ZHOU et al., 1999; BONATERRA et al., 2003), *Bacillus subtilis*, Cohn (FORTES e BETTIOL, 1997; PUSEY, 1989). Também trabalhos com a utilização de leveduras como a *Rhodotorula sp.* (HONG et al., 1998), *Kloeckera apiculata* (Reess) Janke (DR54), (KARABULUT e BAYKAL, 2003), *Pichia membranaefaciens* Hansen. e *Cryptococcus albidus* (Saito) C.E. Skinner (KARABULUT et al., 2002; CHAN e TIAN, 2005).

A limitação no uso de antagonistas com sucesso para controle de doença de plantas está na falta de conhecimento de como adaptar o produto biológico para a cadeia comercial reduzindo a variabilidade da eficácia desses produtos (WISNIEWSKI et al., 2001). A descoberta de novos microorganismos e suas formas de ação permitem além da ampliação nas possibilidades de controle, uma maior segurança nos processos de aplicação e o

estabelecimento de condições ótimas para a interação entre patógeno e antagonista (BONATERRA et al., 2003). São destacados como modos de ação, a produção de antibióticos, competição por nutrientes e espaço, produção de enzimas de lise, parasitismo e indução de resistência (WILSON E WISNIEWSKI, 1989; JANISIEWICZ e KORSTEN, 2002; BONATERRA et al., 2003).

Neste sentido, HONG et al. (1996) obtiveram 32 isolados de fungos epífitas em de pêssegos, nectarinas e ameixas, mumificados por *M. fructicola*. Destes, 11 isolados mostraram-se potenciais no controle “*in vitro*” da podridão parda, sendo, quatro isolados de *Trichoderma spp.*, três de *T. roseum*, três de *Penicillium spp.* e um de *E. nigrum*.

Em outro trabalho, HONG et al. (2000) estudaram a microflora de múmias de frutas de caroço. Na superfície destas, os fungos mais encontrados foram espécies de leveduras não filamentosas (32,1 %), *Penicillium* (28,8 %), *Cladosporium* (11,4 %) e *Mucor* (10,8 %). Quando avaliaram tecidos internos das múmias, encontraram em maior quantidade *Penicillium* (23,7 %), *Mucor* (19,6 %) *Cladosporium* (17,3 %) e *Rhizopus* (11,1 %). Os autores destacaram que houve uma baixa recuperação de *M. fructicola* associada às múmias das quais foram isolados *Botrytis*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Trichoderma*, e não houve recuperação do patógeno quando estas múmias foram colonizadas por espécies de *Botrytis cinerea* Pers., *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link, *Mucor racemosus* Bull., *Penicillium sp.*, *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., *T. atroviride* e *T. roseum*, indicando que alguns destes organismos podem ter contribuído para diminuir a recuperação do patógeno, acabando por reduzir o inóculo primário nos pomares.

MERCIER e JIMÈNEZ (2004), pesquisando formas de biocontrole mostraram a eficiência do fungo endofítico *Muscodor albus* Worapong, Strobel e W.M. Hess, isolado de plantas de cinamomo o qual foi utilizado como fumigante por produzir várias substâncias voláteis como o 2-metil-1-butanol, ac. isobutírico e etil propiônico, tendo apresentado controle de 100 % em testes “*in vitro*” com podridão parda em pêssegos pós-colheita para todos os períodos de 24, 48 e 72 horas e, cinco dias de exposição dos mesmos ao fungo, ainda, os frutos não desenvolveram infecção nos dez dias de avaliação nem apresentaram qualquer tipo de desordem.

A utilização do antagonista *T. roseum* como agente de controle de doenças das plantas tem sido aprofundada nos últimos anos. Utilizando *T. roseum*, HUANG et al. (2000) observaram 47 % de incidência contra 72 % na testemunha no controle do mofo branco do feijão. Potencial do antagonista foi verificado também para o controle de *B. cinerea* (SESAN et al., 2002) e de *Phakopsora pachyrhizi* Syd. e P. Syd. na cultura da soja, tendo inibido em 90 % a germinação dos ureodósporos (KUMAR e JHA, 2002)

Em trabalho realizado no Japão, KONISHI et al. (2003) extraíram do micélio de *T. roseum* através de cromatografia, algumas micotoxinas do grupo das trichothecenes como, trichothecinols, trichothecin, trichodermol e trichothecolone as quais após serem submetidas a testes de laboratório com ratos revelaram possuir potencial inibidor de câncer pela capacidade em inibirem a síntese de proteínas a nível celular, resultando na inibição da síntese do DNA. Tais autores concluíram também que estas micotoxinas são responsáveis pela inibição no desenvolvimento de diversos fungos fitopatogênicos podendo ser as responsáveis pela ação de antibiose.

Em viticultura, a podridão radicular causada por *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm. foi controlada com eficiência após aplicações com *T. roseum* (LLARIA PERTOT et al., 2006).

Além das avaliações feitas sobre a ação antagonista do *T. roseum*, testes *in vitro* foram feitos por MOREIRA (2005) para avaliar a influência da temperatura no crescimento micelial do fungo e a sensibilidade do mesmo a fungicidas e fosfitos. Do experimento, a autora concluiu que dentre as temperaturas testadas de 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C, o melhor desempenho do antagonista ocorreu entre as temperaturas de 20 e 25 °C, enquanto que a temperatura mínima variou de 2,5 a 4,9 °C, e a máxima foi de 35 °C. Do estudo sobre o efeito dos produtos químicos utilizados nas concentrações de 1, 10, e 100 mg.L⁻¹ sobre o antagonista, foi verificado que a menor inibição do mesmo ocorreu na concentração de 100 mg.L⁻¹ para os fosfitos e os fungicidas captan, azoxystrobin e imonocadine, sugerindo que estes produtos podem ser utilizados em um programa de controle integrado da podridão parda. A ampla capacidade de sobrevivência do *T. roseum* quando submetido a condições adversas de temperatura e ainda a paralização do crescimento a temperaturas superiores a 35 °C verificado neste trabalho são características importantes, pois, demonstra a capacidade do antagonista em suportar grandes variações climáticas, o que freqüentemente ocorre em condições ambientais e ainda, sua incapacidade de sobrevivência em humanos onde a temperatura corporal é superior a 35 °C.

Problemas de colonização de *T. roseum* foram verificados em trabalhos de pesquisa conforme relatos de HONG e MICHAILIDES (1997) os quais verificaram colonização do fungo em frutos de pêssegos e nectarinas feridos e não feridos, provenientes de pomares comerciais nos Estados Unidos após duas semanas da inoculação com o antagonista.

Outro fato é na cultura do melão Hami onde o *T. roseum* é considerado um patógeno pós-colheita causador da podridão rosa, a qual é controlada por iprodione e azoxystrobin (MA et al., 2004). Estes autores comprovaram redução significativa de lesões em melões inoculados com o fungo e tratados com um indutor Harpin (90 mg.L⁻¹), que é um elicitador

bacteriano a base de proteína rica em açúcar. A proteção foi associada à ativação da peroxidases e quitinase.

No Brasil, o uso de antagonistas do gênero *Trichothecium* não manifestaram nenhum sintoma de colonização dos frutos e plantas tratadas, contrariando ao observado por HONG e MICHAILIDES (1997). Na região da Lapa, Estado do Paraná, vários antagonistas foram selecionados a partir de múmias e ramos de pêssegos e ameixas. Destes isolados, dois antagonistas de *Trichothecium sp.* proporcionaram um controle superior a 85 % de lesões latentes em frutos de pêssego (MOREIRA, 1999). O isolado *T. roseum* e fosfitos de Cálcio, Boro e de potássio apresentaram controle de até 88 % da podridão parda em relação à testemunha não tratada sobre frutos em pós-colheita (MOREIRA et al., 2002). Os mesmos autores testaram em campo *T. roseum* alternado com captan + fosfitos de CaB e de K, conseguindo reduções de 80 % com o antagonista e 95 % quando alternado com o fungicida e fosfitos em infecções latentes em pêssego. Nestes experimentos, nenhum sintoma de colonização do antagonista sobre os frutos foi observado.

Da mesma forma, no Estado de Santa Catarina o uso de *T. roseum* associado ou não com fosfitos e aplicado nas fases de floração e desenvolvimento dos frutos de pessegueiro cultivado em sistema orgânico revelou eficiência no controle de *M. fructicola* sem causar danos aos frutos e plantas (NEGRI, Cap. I).

O sucesso ou fracasso do controle biológico está na dependência da seleção do agente antagonista. A obtenção destes microorganismos, segundo BETTIOL (1991), deve partir da microflora residente no local da ocorrência da doença. Para JANISIEWICZ (1987) o local mais apropriado para obtenção de antagonistas é o próprio hospedeiro. Segundo BAKER e COOK (1974) as maiores chances de sucesso para se obter bons antagonistas é a sua busca em locais onde a doença causada por um dado patógeno não ocorre ou tem diminuído, ou não pode se desenvolver, apesar da presença de hospedeiros suscetíveis, em taxas superiores àquelas onde a doença ocorre. Após a obtenção de um antagonista, são necessários seu isolamento e testes adicionais como a antibiose e hiperparasitismo, os quais são feitos *in vitro*, com técnicas laboratoriais específicas (BETTIOL, 1991).

Outra consideração a respeito da utilização de um antagonista é a necessidade de desenvolvimento de metodologia para produção de inóculo para posterior aplicação em campo em grandes quantidades. Neste sentido, várias metodologias para produção de antagonistas foram utilizadas em diferentes substratos como o arroz, sorgo e trigo (HARTMAN et al., 1997; MOREIRA, 1999; GÁSPERI et al., 2003; LEONI e GUINI, 2003; COSTA e COSTA, 2004).

2.4. ALTERAÇÕES NO METABOLISMO VEGETAL

A utilização de indutores bióticos ou abióticos no controle de doenças das plantas constitui-se em importante área de estudos por parte da fitopatologia considerando que tal estratégia contempla a produção de produtos agrícolas menos contaminados com resíduos químicos, uma vez que, a ação destes indutores pode ocorrer diretamente sobre um determinado patógeno ou indiretamente pela alteração no metabolismo vegetal com a ativação de novas rotas de produção de compostos de defesa (TAIZ e ZEIGER, 2004; CAVALCANTI, 2005). Esses ativadores químicos ou biológicos são considerados uma nova classe de pesticidas chamados de fungicidas de quarta geração (BONALDO, 2005).

Toda a planta possui estratégias de defesa através de mecanismos constitutivos ou pré-formados mesmo sem a necessidade de utilização representados por estruturas, como: ceras, cutícula, parede celular espessa, tricomas, adaptações em estômatos e fibras vasculares, além de substâncias químicas como os fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas (PASCHOLATI e LEITE, 1995; AGRIOS, 2005). Outros mecanismos são manifestados com mudanças metabólicas das plantas quando desafiadas por um agente agressor. Nestas respostas ocorre a formação de papilas, halos, maior lignificação da parede celular, suberização, camada de cortiça, formação de tiloses e deposição de goma, além da produção de compostos de defesa como as fitoalexinas, proteínas relacionadas a patogênese (PRP) e espécies reativas de oxigênio (EAOs) (PASCHOLATI e LEITE, 1995; AGRIOS, 2005).

As alterações metabólicas nos vegetais podem ocorrer sob duas formas de indução: a resistência sistêmica adquirida (RSA) ou a resistência sistêmica induzida (RSI). A RSA, tem como principal sinalizador o ácido salicílico (AS) levando a expressão principalmente de proteínas- RP. A RSI é induzida por rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR), não é dependente de (AS) e tem o ácido jasmônico (AJ) e o etileno (ET) como os principais sinalizadores (PIETERSE et al., 2001; BOSTOCK, 2005). Tanto a RSA quanto a RSI são mecanismos ativadores de defesa das plantas após a exposição destas a agentes estressores como insetos, doenças e outros fenômenos naturais como o calor, umidade e nutrição (ZAMBOLIM, 1993; BONALDO, 2005; AGRIOS 2005).

As mudanças no metabolismo das plantas induzidas por elicitores ocorrem de forma diferenciada segundo o seu pré-condicionamento. Quando a planta é induzida pela presença de um elicitador, as alterações no metabolismo vegetal são facilmente percebidas. Porém, quando esta planta for induzida por um agente patogênico após ter sido induzida por um mesmo elicitador abiótico, as alterações no metabolismo ocorrem de forma mais intensa que a anterior, evidenciando-se que a planta está mais capacitada a dar resposta de defesa

quando da presença do patógeno (COOLS e ISHII, 2002. CONRATH, et al., 2002). Como exemplo, Cools e Ishii (2002) demonstraram que plantas de pepino induzidas com ASM expressaram genes de peroxidases e de proteínas-RP, mas que não havia a expressão de genes que codificavam para a FAL. Porém, quando estas mesmas plantas foram expostas à ação de *Colletotrichum orbiculare*, após a indução foram observados aumentos significativos na atividade de peroxidases e nos níveis de proteínas-RP, bem como na expressão da FAL, em magnitude superior às plantas não tratadas e inoculadas.

As modificações metabólicas das plantas alocando compostos do metabolismo primário como os aminoácidos, açúcares e proteínas para a ativação do metabolismo secundário com vistas à produção de substâncias específicas de proteção contra fitopatógenos são assuntos de grande interesse da fitopatologia atual tanto na busca de novos elicitores como na busca de cultivares geneticamente mais eficientes para estas expressões. Talvez com o aprofundamento das pesquisas nesta área, em breve, o uso de elicitores preferencialmente naturais ou biológicos promotores de resistência em plantas cultivadas reduzirá drasticamente a aplicação de fungicidas sintéticos gerando menor impacto ambiental e produzindo produtos isentos de resíduos tóxicos.

REFERÊNCIAS

- ABREU JUNIOR, H. **Práticas Alternativas de Controle de Pragas e Doenças na Agricultura**. (Coletânea de Receitas). EMOPI, Campinas: 1998. 115p.
- ADASKAVEG, J.E.; FORSTER, H.; THOMPSON, D.F. Identification and etiology of visible quiescent infections of *Monilinia fructicola* and *Botrytis cinerea* in sweet cherry fruit. **Plant Disease**, St. Paul, v.3, n.84, p.328-333, 2000.
- ADASKAVEG, J.E.; OGAWA, J.M.; FELICIANO, A.J. Comparisons of calcium based and film-forming materials for control of Brown rot of peach caused by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul, v.82, n.10, p.158, 1992. (Abstract).
- AGRIANUAL 2002. Anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: FNP. Consultoria e Comércio, 2001. 536p.
- AGRICULTURA ORGÂNICA. Florianópolis, SC: Instituto CEPA, 2002. 50p.
- AGRIOS, G.N. Plant diseases caused by fungi. In:____. **Plant Pathology**, San Diego, 4^a ed. Academic Press, p.245-406, 1997.

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**, 5th ed San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.
- ANDRADE, E.R. **Doenças do pessegueiro e da ameixeira e seu controle no Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 52p, 1995. (EPAGRI. Boletim Técnico, 71).
- ANN, P.J. Control of plant diseases with non-pesticide compound- phosphorous acid. **Plant-Pathology-Bulletin**, Dept. Plant Pathology, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan, v.10, n.4, p.147-154, 2001.
- AZEVEDO, L.A.S. **Fungicidas protetores**. Syngenta, São Paulo, 2003. 320p.
- BAKER, K.F.; COOK, R.J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W.H. Freeman, 1974. 433p.
- BÉCOT, S.; PAJOT, E.; LE CORRE, D.; MONOT, C.; SILUE, D. Phytogard® (K₂HPO₃) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**, Oxford, v.19, n.6, p.417-425, 2000.
- BETTIOL, W. Seleção de microorganismos antagônicos a fitopatógenos. In: Bettiol, W. (ed.) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna, CNPMA/EMBRAPA, 1991. p.223-236.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3^a ed. São Paulo, Ceres, 1995. 919p.
- BERTON, O.; SCHROEDER, A.L.; BLEICHER, J. Controle de podridões em pêsegos através de tratamentos em pré e pós-colheita. **Agropecuária Catarinense**, EPAGRI, Florianópolis, v.5, n.3, p.4-5, 1992.
- BIGGS, A.R.; EL-KHOLI, M.M.; EL-NESHAWY, S. e NICKERSON, R. Effects os calcium salts on growth, polygalacturonase activity, and infection of peach fruit by *Monilinia fructicola*. **Plant Disease**. St. Paul. v.81, p.399-403, 1997.
- BLEICHER, J. Doenças de rosáceas de caroço. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN F.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. ed. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3^a ed. São Paulo: Ceres, 1997. p.621-627
- BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**, Piracicaba: FEALQ, 2005. p.11-28.

BONATERRA, A.; MARI, M.; CASALINI, L.; MONTESINOS, E. Biological control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest of stone fruit by *Pantoea agglomerans* EPS125 and putative mechanisms of antagonism. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v.84, p.93-104. 2003.

BONETI, J.I.; KATSURAYAMA, Y. Viabilidade do uso de fosfitos no manejo das doenças de macieira. In: Encontro nacional sobre fruticultura de clima temperado, 5, 2002. Fraiburgo, SC. **Anais...** Fraiburgo: EPAGRI, 2002. v.5, 307p., p.125-139

BONETI, J.I.; KATSURAYAMA, Y. Viabilidade do uso de fosfitos no controle da sarna da macieira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.18, n.2, p.51-54, 2005.

BOSTOCK, R.M. Signal conflicts and synergies in induced resistance to multiple attackers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Palo Alto, v.42, p.545-580, 2005.

BRACKMANN, A.; FABIANO, R.; GIEH, H.; SESTARI I.; STEFFENS C.A. Fosfitos para o controle de podridões pós-colheita em maçãs 'Fuji' durante o armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, 2004.

BRANDÃO, R.P. Fosfito estimula a defesa das plantas contra doenças fúngicas. **Informativo Grupo Bio Soja**, UFLA, Lavras, ano II, n.3, p.4-5, 2006.

BRUTON, B.D. Mechanical injury and latent infections leading to postharvest decay. **HortScience**, Alexandria, v.29, n.7, p.747-749, 1994.

BURG, I.C.; MAYER, P.H. **Alternativa ecológicas para prevenção e controle de pragas e doenças**. 15ª ed. GRAFIT, Francisco Beltrão, 2001. 153p.

BYRDE, R.J.W.; WILLETTS, H.J. Infection. In: **The brown rot of fruit: their biology and control**. Oxford, Pergamon Press, 1977, p.87-110

CAMARGO, A.M.M.P.; CAMARGO FILHO, W.P. de; CAMARGO, F.P. de; ALVES, H.S.; Produção em agropecuária orgânica: considerações sobre o quadro atual. **Informações Econômicas**, SP, v.34, n.7, p.21-27, 2004.

CARVALHO, P. DE C. T. **Doenças das rosáceas**. In: GALLI, F. et al. ed. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 2ª ed. São Paulo: Ceres, 1980. p.443-458

CAVALCANTI, L.S.; BRUNELLI, K.R.; STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.;

PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.da S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**: Piracicaba: FEALQ, 2005. p.81-113

CHAN, Z.; TIAN, S. Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.36, p.215-223, 2005.

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos**. (A teoria da trofobiose) 2^a ed. LePM, Porto Alegre, 1999. 272p.

CONRATH, U.; PIETERSE, C.M.J.; MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v.7, p.210-216, 2002.

COOK, R.J.; BAKER, K.F. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. St. Paul: APS Press, 1983. 539p.

COOLS, H.J.; ISHII, H. Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes phenylalanine ammonia lyase gene (PAL1) for enhanced expression upon attack with a pathogenic fungus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.61, p.273-282, 2002.

CORDEN, M.E. Influence of calcium nutrition on *Fusarium* wilt of tomato and polygalacturonase activity. **Phytopathology**, St. Paul. v.55, p.222, 1965.

COSTA, G.R.; COSTA, J.L. da S. Influência da densidade de inóculo de *Fusarium solani f. sp. Phasioli* na severidade da podridão radicular seca do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.34, n.2, p.89-92, 2004.

CRUICKSHANK, R.H.; WADE, G.C. The activation of latent infections of *Monilinia fructicola* on apricots by volatiles from the ripening fruit. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.136, p.107-112, 1992.

DALBÓ, M.A.; SCHUCK, E. Avaliação do uso de fosfitos para o controle do míldio da videira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.16, n.3, p.33, 2003.

DANIEL R.; GUEST, D.I. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Michigan, v.67, p.194-201, 2006.

DANIEL, R.; WILSON, B.A.; CAHILLET, D.M. Potassium phosphonate alters the defence response of *Xanthorrhoea australis* following infection by *Phytophthora cinnamomi*. [Australasian Plant Pathology](#), Orange, v.34, n.4, p. 541-548, 2005.

DAROLT, M.R. **As Dimensões da Sustentabilidade: Um estudo da agricultura orgânica na região metropolitana de Curitiba-PR**. Curitiba, 2000. Tese de Doutorado em Meio Ambiente e Desenvolvimento, Universidade Federal do Paraná/ParisVII. 310 p.

DE CAL, A.; SAGASTA, E.M.; MELGAREJO, P. Biological control of peach twig blight (*Monilinia laxa*) with *Penicillium frequentans*. **Plant Pathology**, London, v.39, n.4, p.612-618, 1990.

DUCROQUET, J.H. P.J.; MONDIN, P.V. **Cadeias produtivas do Estado de Santa Catarina: pêssego e ameixa**. EPAGRI –SC, Florianópolis, 1997, boletim técnico n° 80.

DOMINGUES, R.J.; TÖFOLI, J.G.; SARTORI, J.E. Associação entre fungicidas, nutrientes e fosfitos de potássio visando o controle da pinta preta do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, supl., p.93-94, 2005.

EMERY, K.M.; MICHAILIDES, T.J.; SCHERM, H. Incidence of latent infection of immature peach fruit by *Monilinia fructicola* and relationship to brown rot in Georgia. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, p.853-857, 2000.

EMERY, K.M.; SCHERM, H.; SAVELLE, A.T. Assessment of interaction between components of fungicide mixtures against *Monilinia fructicola*. **Crop Protection**, Guildford, v.21, p.41-47, 2002.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Peaches and Nectarines Production**. Statistical Databases. 2006. Disponível em: <http://www.fao.org>
Acesso em: 15 outubro de 2006.

FEICHTENBERGER, E.; TAVEL, A.P.R. Efeito de fungicidas sistêmicos e fosfitos no desenvolvimento de lesões de *Phytophthora parasitica* em laranjeiras "Hamlin". **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.4, p.282-283, 1999.

FELICIANO, A.; SACHS, S. **A Cultura do Pessegueiro**. Guia de Tratamentos Fitossanitários. EMBRAPA-CNPFT, Pelotas: 1984. P. 80-101 (EMBRAPA-CNPFT, Circular Técnica, 10).

FENN, M.E.; COFFEY, M.D. Further evidence for direct mode of action of phosethyl-al and phosphorous acid. **Phytopathology**, St. Paul, v.75, p.1064-1068, 1985.

FLORES, E.C.H. Situação atual e perspectiva do manejo integrado de pragas no cultivo de fruteiras de clima temperado. In: Seminário sobre Fruticultura de Clima Temperado, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: EPAGRI/JICA/EMBRAPA, p.115-119, 2001.

FORTES, J.F.; BETTIOL, W. Controle biológico e químico de *Monilinia fructicola*, com tratamento pós-colheita de pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, supl., p.264, 1997.

FORTES, J.F. **Doenças do Pessegueiro e ameixeira**. Etiologia e Controle. EMBRAPA, Pelotas: 1993. 14p. (EMBRAPA -CPACT. Documentos, 02).

FORTES, J.F.; MARTINS, O.M. Sintomatologia e controle das principais doenças. In: Medeiros, C.A.B.; RASEIRA, M. do C.B. ed. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1998. p.243-264

FÖRSTER, H.; ADASKAVEG, J.E.; KIM, D.H.; STANGHELLINI, M.E. Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to *Phytophthora* root and crown rot in hydroponic culture. **Plant Disease**, St. Paul, v.82, n.10, p.1165-1170, 1998.

GALLI, F. **Manual de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. Vol I, CERES, São Paulo: 1980. 373p.

GALLI, M.A.; TORRES, S.G.; MONFERDINI, M.A.; GUIDOTTI, W. Ação do fosfito de zinco no controle da requeima (*phytophthora infestans*) na cultura do tomate (*Lycopersicon esculentum*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, supl., p.94, 2005.

GARRIDO, L.; SÔNEGO, O.R. Sistema de produção de pêssego de mesa na região da serra gaúcha. EMBRAPA Uva e Vinho. Bento Gonçalves, 2003. ISSN 1678-8761, (Sistema de produção n.3).

GÁSPERI, A.C.; PRESTES, A.M.; COTAMILAN, L.M. Reação de cultivares de soja à podridão vermelha da raiz causada por *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28 n.5 Brasília, 2003.

GEELLEN, J.A. **An evaluation of Agrio-Fos Supra 400 for the control of black spot and powdery mildew of apple in Hawke's Bay**. N.I. Geelen Research. Independent Horticultural Consultants, 1999. 15p.

GONÇALVES P.A.S, DEBARBA, J.F; KESKE, C. Incidência da mosca-das-frutas, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae), em cultivares de ameixa conduzidas sob sistema orgânico. **Revista de Ciências Agroveterinária**, Lages, v.2, p.101-108, 2005.

GRANT, B. [Effects of Phosphorus Acid on Controlling Panama Disease in Bananas](http://www.rirdc.gov.au/pub/compendium/93-94/index-b.html). RIR, Compêndio 1993 – 1994. capturado em 18 jul. 2006. Online. Disponível na Internet. <http://www.rirdc.gov.au/pub/compendium/93-94/index-b.html>

GUEST, D.I.; GRANT, B.R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Review**, Cambridge, v.66, p.159-187, 1991.

GUIJARRO, B.; MELGAREJO, P; TORRES, R.; LAMARCA, N.; USALL, J.; DE CAL, A. Effects of different biological formulations of *Penicillium frequentans* on brown rot of peaches. **Biological Control**, Orlando, v.42, p.86–96, 2007.

GUIMARÃES, L.S. Efeito de fosfitos CaB em podridões pós-colheita da maçã. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, supl.; p.318, 2001.

GUTIERREZ, A.S.D. **Danos mecânicos pós-colheita em pêssego fresco**. Tese de Doutorado. Piracicaba, ESALQ. USP. 2005. 123p.

HACK NETO, P.; BLUM, L.E.B.; DEZANET, A.; LIMA, E.B.; AMARANTE, C.V.T. Do; ÁVILA, R.D.; WEINGÄRTNER, S.; SIEGA, V.; DOMINGOS, M.D. Fosfito Aplicado em Pós-Colheita Reduz o Mofo Azul da Maçã. In: XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2002, Belém. XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura: Anais. Belém: MP-Design Gráfico, 2002. v.1. p.1-4

HARDY, G.E. St.J.; BARRETT, S.; SHEARER, B.L. The future of phosphite as a fungicide to control the soilborne plant pathogen *Phytophthora cinnamomi* in natural ecosystems. **Australasian Plant Pathology**, Orange, v.30, p.133-139, 2001.

HARTMAN, G.L., HUANG, Y.H., NELSON, R.L. e NOEL, G.R. Germoplasm evaluation of *Glycine max* for resistance to *Fusarium solani*, the causal organism of sudden death syndrome. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, p.515-518, 1997.

HONG, C.X.; HOLTZ, B.A.; MORGAN, D.P.; MICHAILIDES, T.J. Significance of thinned fruit as a source of the secondary inoculum of *Monilinia fructicola* in California nectarine orchards. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, n.5, p.519-524. 1997b.

- HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J. Effect of temperature on the discharge and germination of ascospores by apothecia of *Monilinia fructicola*. **Plant Disease**, St. Paul, v.82, n.2, p.195-202, 1998.
- HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J.; HOLTZ, B.A. Effects of wounding, inoculum density, and biological control agents on postharvest Brown rot of stone fruit. **Plant Disease**, St. Paul, v.82, n.11, p.1210-1216, 1998.
- HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J.; HOLTZ, B.A. Mycoflora stone fruit mummies in California orchards. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.4, p.417-422, 2000.
- HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J.; HOLTZ, B.A. Potential of sporulation of nectarine fruit infected and mummified by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul, v.87, n.6, p.43, 1997a.
- HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J.; HOLTZ, B.A. Resident fung of stone fruits mummified by *Monilinia fructicola*. In: Joint Annual Meeting, 1996, Indianapolis. **Anais**. Indianápolis: The American Phytopathological Society, 1996. p.81
- HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J. Prune, plum, and nectarine as hosts of *Trichothecium roseum* in California orchards. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, p.112. 1997. (note).
- HUANG, H.C.; BREMER, E.; HYNES, R.K.; ERICKSON, R.S. Foliar application of fungal biocontrol agents for the control of white mold of dry bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, Orlando, v.18, p.270–276, 2000.
- IBD. Instituto Biodinâmico (Botucatu, SP). Projetos certificados IBD. Botucatu: 2005. Disponível em: <http://www.ibd.com.br>. Acessado em: 14 junho de 2007.
- IBGE. Instituto de Geografia e Estatística. (Brasília), 2005. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em: 27 de setembro de 2007.
- IPPOLITO, A. NIGRO, F. Impact of preharvest application of biological control agentes on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Crop Protection**, Oxford, v.19. p.715-723, 2000.
- JACKSON, T.J. et al. Action of the fungicide phosphite on *Eucaliptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, London, v.49, p.147-154, 2000.
- JANISIEWICZ, W.J.; KORSTEN, L. Biological control of postharvest diseases of fruits. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.40, p.411-441, 2002.

JANISIEWICZ, W.J. Postharvest biological control of blue mold on apples. **Phytopathology**, St. Paul, v.77, p.481-485. 1987.

JENKINS, P.T.; REINGANUM, C. The occurrence of a quiescent infection of stone fruits caused by *Sclerotinia fructicola* (Wint.) Rehm. **Australian Journal of Agricultural Research**, Austrália, v.16, n.2, p.131-140, 1965.

KARABULUT, O.A.; BAYKAL, N. Biological control of postharvest diseases of peaches and nectarines by yeasts. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.151, p.130-134, 2003.

KARABULUT, O.A.; COHEN, L.; WIESS, B.; DAUS, A.; LURIE, S.; DROBY, S. Control of brown rot and blue mold of peach and nectarine by short hot water brushing and yeast antagonists. **Postharvest Biology and Technology**, Oxford, v.24, p.103-111, 2002.

KATSURAYAMA, K.; BONETI, J.I.S. **Avaliação da eficiência do Fitofos-K plus no controle do míldio (*Peronospora destructor*) da cebola**. São Joaquim: SC. Epagri, 2002. 7p.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ª ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, 774p.

KOGAN, M.; SHENK, M. Conceptualización del manejo integrado de plagas em escalas espaciales y niveles de integración más amplios. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, v.65, p.34-42, 2002.

KONISHI, K.; IIDA, A.; KANEKO, M.; TOMIOKA, K.; TOKUDA, H.; HOYOKU NISHINO, H.; KUMEDA, Y. Cancer preventive potential of trichothecenes from *Trichothecium roseum*. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**, San Diego, v.11, p.2511–2518, 2003.

KOZAKI, I. Perspectiva e estratégia da pesquisa a nível mundial visando a agricultura de baixo impacto ambiental. In: Seminário sobre Fruticultura de Clima Temperado, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: EPAGRI/JICA/EMBRAPA, p.21-30, 2001.

KRUGNER, T.L.; BACCHI, L.M.A. Fungos. In: BERGAMIN, F.; KIMATI, H.; AMORIM, L. ed. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3ª ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 46-96

KUMAR, S.; JHA, D.K. *Trichothecium roseum*: a potential agent for the biological control of soybean rust. [Indian-Phytopathology](#), Nova Delhi, v.55, n.2, p.232-234, 2002.

LARENA I.; DE CAL, A.; MELGAREJO, P. Solid substrate production of *Epicoccum nigrum* conidia for biological control of brown rot on stone fruits. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v.94, p.161-167, 2004.

LARENA, I.; TORRES, R.; De CAL, A.; LIÑÁN, M.; MELGAREJO, P.; DOMENICHINI P.; BELLINI, A.; MANDRIN, J.F.; LICHOU, J.; OCHOA de ERIBE, X.; USALL, J. Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia spp.*) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. **Biological Control**, Orlando, v.32, p.305-310, 2005.

LEITES, L.; MONDINO, P.; BURGUEÑO, J. Efecto antagonico *in vitro* de *Penicillium rugulosum* sobre *Monilinia laxa*. In: Congresso Latinoamericano de Fitopatologia, 9, 1997, Montevideu. **Anais...**Montevideu: Associação Latino Americana de Fitopatologia, 1997. p.162

LEONI, C. e GHINI, R. Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade *in vitro* a *Phytophthora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, Brasília, 2003.

LLARIA PERTOT, [V.](#); [GUALANDRI, V.](#); DE LUCA, F.; [LONGA, C.](#); [PELLEGRINI, E.](#) Decayed *Armillaria mellea* fruiting bodies as source for potential biological control agents against root rot disease. [Bulletin-OILB/SROP](#), Dijon, France, v.29, n.2, p.27-130, 2006.

LUO, Y.; MICHAILIDES, T.J. Threshold conditions that lead latent infection to prune fruit rot caused by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul. v.93, p.102-111, 2003.

MA, L.Y.; BI, Y.; ZHANG, Z.K.; ZHAO, L.; AN, LI.; MA, K.Q.; Control of pre and postharvest main diseases on melon variety Yindi with preharvest azoxystrobin spraying. **J. Gansu Agric.Univ.** Queensland, v.39, p.14–17, 2004.

MAA. Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasília, DF). Instrução Normativa no 007. Normas para produção de produtos orgânicos vegetais e animais. Brasília: 1999. n.p.

MADAIL, J.C.M.; REICBERT, L.J. **Pêssego Produção**: Embrapa Clima Temperado: Pelotas, 2003, Brasília: EMBRAPA, Informações Tecnológica, frutas do Brasil, 49, 2003, 162p.

MADRIGAL, C.; MELGAREJO, P. Morphological effects of *Epicoccum nigrum* and its antibiotic flavipin on *Monilinia laxa*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.73, p.425-431, 1995.

MADRIGAL, C.; PASCUAL, S.; MELGAREJO, P. Biological control of peach twig blight (*Monilinia laxa*) with *Epicoccum nigrum*. **Plant Pathology**, London, v.43, p.554-561, 1994.

MARTINS, M.C.; BETTI, J.A.; LEITE, R.M.V.B.C.; AMORIM, L. Doenças das rosáceas de caroço. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2: Doenças das Plantas Cultivadas, cap. 62, p. 545-557.

MARK, H.; KEITH, H. Control of *Phytophthora megakarya* diseases of cocoa with potassium phosphonate. CRIG, NRI, University of Reading, 2002. Acessado em 20 jul. 2006. Disponível na Internet. www.cabi-Commodities.org/Cocoa/CocP/CocPCPcmd.htm.

MATHERON, M.E.; MATJKA, J.C. Persistence of systemic activity for fungicides applied to citrus trunk for contro *Phytophthora gummosis*. **Plant Disease**, St. Paul. v.72, p.170-174, 1988.

MAY DE MIO, L.L.; GARRIDO, L.; UENO, B. Doenças de fruteiras de caroço. In: MONTEIRO, L.B.; MAY DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; MOTTA, A.C.; CUQUEL, F.L. ed. **Fruteiras de caroço: uma visão ecológica**, UFPR, Curitiba: 2004. p.169-221

MERCIER, J.; JIMÉNEZ, J.I. Control of fungal decay of apples and peaches by the biofumigant fungus *Muscodor albus*. **Postharvest Biology and Technology**, Oxford, v.31, p.1-8, 2004.

MILLER, J.S.; NORA, O.; LYNN, W.; LYNDON, D.P.; SHANE, C. Post harvest applications of zoxamide and phosphite for control of potato tuber rots caused by Oomycetes. **American Journal of Potato Research**, USA, v.1, 2006.

MIYASAKA, S. **Agricultura Natural**. 2ª ed. SEBRAE/MT; Cuiabá: 1997. 82p.

MONDIN, V.P.; HICKEL, E.R. Empresa de Pesquisa Agropecuária e de Extensão Rural de Santa Catarina. **Normas técnicas para o cultivo de pessegueiro em Santa Catarina**. Florianópolis, 1995. 38p (EPAGRI. Sistemas de Produção, 23).

MONDINO, P. Hacia una política de racionalización del uso de agrotóxicos. In: DOMINGUEZ, A. ; PRIETO, R. (Eds.), **Perfil Ambiental del Uruguay**, 2002. p.93-97

MONDINO, P.; PÉREZ, E.; GEPP, V.; GARCIA, S. Detecção de infecciones latentes de *Monilinia* sp. sobre frutos verdes de duraznero. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, supl., p.287, 1997.

MONTEALEGRE, J. Métodos alternativos para el control de enfermedades de plantas en Chile. P. 177-192. In : STADNICK, J. M., TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. CCA/UFSC. Florianópolis, 2004. 293p

MOREIRA, L.M. **Alternativas de controle integrado da podridão parda do pessegueiro**. Tese de Doutorado. Curitiba, PR. Universidade Federal do Paraná, 2005. 113p.

MOREIRA, L.M. **Controle químico e biológico de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey e monitoramento de infecções latentes em frutos**. Dissertação de Mestrado. Curitiba, PR. Universidade Federal do Paraná, 1999. 76p.

MOREIRA, L.M.; MAY DE MIO, L.L. Metodologia para detecção de infecções latentes de *Monilinia fructicola* em frutas de caroço. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.628-633, 2007.

MOREIRA, L.M.; MAY DE MIO, L.L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; LIMA, M.L.R.Z.C.; POSSAMAI, J.C. Controle em pós-colheita de *Monilinia fructicola* em pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, p.395-398, 2002.

MOTTA, A.C.V.; MAY DE MIO, L.L.; TRATCH, R.; DOLINSKI, M.A.; SERRAT, B.M.; TUTIDA, I.; SOUZA, S.R. Nitrogênio e potássio em relação ao manejo de doença em rosáceas de caroço. In: XL Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Maringá, **Revista Brasileira de Fitopatologia, Brasília**, v.32, Sup. p.72-74, 2007. (palestra).

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos**: Piracicaba: FEALQ, 2005. p.139-153

NORTHOVER J. e CERKAUSKAS R.F. Detection and significance of symptomless latent infections of *Monilinia fructicola* in prums. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.16, p.30-36, 1994.

OGAWA, J. M.; ZEHR, E. I.; BIRD, G. W.; RITCHIE, D. F.; URIU, K; UYEMOTO, J. K. ed. **Compendium of stone fruit diseases**, St. Paul: APS Press, 1995. 98p.

OSÓRIO, V.A.; FORTES, J.F. **Pêssego. Fitossanidade**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, 2003. 53 p.; il.; (Frutas do Brasil, 50).

PAJOT, E.; LE CORRE, D.; SILUÉ, D. Phytogard® and DL-beta-amino butyric acid (BABA) induce resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce (*Lactuca sativa* L). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, n.9, p. 861-969, 2001.

PALOU, L.; CRISOSTO, C.H.; SMILANICK, J.L.; ADASKAVEG, J.E.; ZOFFOLI, J.P. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. **Postharvest Biology and Technology**, Oxford, v.24, p.39-48, 2002.

PANICKER, S.; GANGADHARAN, K. Controlling downy mildew of maize caused by *Peronosclerospora sorghi* by foliar sprays of phosphonic acid compounds. **Crop Protection**, Oxford, v.18, p.115-118, 1999.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, v.1, 1995. p.193-217.

PASCUAL, S.; MELGAREJO, P.; NARESH, M. Accumulation of compatible solutes in *Penicillium frequentans* grown at reduced water activity and biocontrol of *Monilinia laxa*. **Biocontrol Science and Technology**, Lethbridge, v.10, n.1, p.71-80, 2000. (Resumo).

PAULA JÚNIOR, T.J. de; MORANDI, M.A.B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M.B. da. Controle alternativo de doenças de plantas – Histórico. In: VENEZON, M; PAULA JÚNIOR, T.J. de; PALLINI, A. (Eds.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, 2005. p.135-162

PAULUS, G.; MÜLLER, A.M.; BARCELLOS, L.A.R. Agroecologia Aplicada: práticas e métodos para uma agricultura de base ecológica. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v.2, n.1, jan./mar. 2001.

PENTEADO, S.R. **Os inimigos da cultura do pêssego**. Grupo Técnico Viticultura e Fruticultura de Clima Temperado, Campinas, Sp (Correio Agrícola), 1998, p.488-489

PEREIRA, O.D.A.N.; KARUNARANTNE, A.M. Response of bananas to postharvest acid treatments. **Journal of Horticultural Science e Biotechnology**, Ashford, v.76, n.1, p.70-76, 2001.

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT, J.A.; VAN WEES, S.C.M.; TON, J.; VERHAGEN, B.W.M.; LEÓN-KLOOTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENTE, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN-JUNIOR, A.; RESENDE, M.L.V.; VAN

LOON, L.C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.13, p.277-295, 2005.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S.B. “**MB-4**” **Agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes**. Fundação Juquira Candiru. Canoas RS. MIBASA. LA SALLE. 1996. 257p.

PRIMAVESI, A. **Manejo Ecológico de Pragas e Doenças**. NOBEL, São Paulo: 1988.137p.

PUSEY, P.L. Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. **Pesticide Science**, London, v.27, p.133–140, 1989.

RASEIRA M.C.B.; QUEZADA A.C. **Pêssego Produção**: Embrapa Clima Temperado: Pelotas, 2003, Brasília: EMBRAPA, Informações Tecnológica, frutas do Brasil, 49, 2003, 162p.

RASEIRA, M.C.B.; NAKASU, B.H.; FORTES, J.F. Cartilha do produtor de pêssego. Pelotas: **EMBRAPA**, 1990. 30p. (EMBRAPA-CNPFT. Documentos, 36).

REBOLLAR, A e ELLES, M.A. Evaluation of strobilurin fungicides (Abound and Cabrio), potassium phosphite (ProPhyt) and Ridomil Gold for control of leather rot of strawberry, caused by *Phytophthora cactorum*. The Ohio State University/OARDC, **The North American Strawberry Growers Association**. USA, v.2, 2004.

REUVENI, M. SHEGLOV, D. COHEN, Y. Control of Moldy-Core Decay in Apple Fruits by β -Aminobutyric Acids and Potassium Phosphites. **Plant Disease**, St. Paul. v.87, p.933-936, 2003.

REUVENI, M. Post-infection applications of K₃PO₃, phosphorous acid and dimethomorph inhibit development of downy mildew caused by *Plasmopara viticola* on grapevines. **Journal of Small Fruit e Viticulture**, Beltsville, USA, v. 5, n. 22, p.27-38, 1997.

ROHRBACH, K.G.; SCHENCK, S. Control of pineapple heart rot, caused by *Phytophthora parasitica* and *P. Cinnamomi*, with fosetyl-al and phosphorous acid. **Plant Disease**, St. Paul. v.69, p.320-323, 1985.

ROMANAZZI,G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; VENERE, D.D.; SALERNO, M. Effects of pré- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. **Journal of Food Science**, Mysore, v.67, n.5, p.1862-1866, 2002.

SAINDRENAN, P.; BARCHIETTO, T.; BOMPEIX, G. et al. Modification of the phosphite induced resistance response in leaves of cowpea infected with *Phytophthora cryptogea* by aminooxyacetate. **Plant Science**, Canadá, v.58, n.2, p.245-252, 1988.

SALA, F.C. ; da COSTA, C.P. ; de MORAES, E. ; MARTINS, M.C. ; VLAT, S.F. Efeito do fosfito na reação de pimentão e pimenteira a *Phytophthora capsici*. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, SP. v.61, n.5, 2004.

SCHENA, L.; NIGRO, F.; PENTIMONE, I.; LIGORIO, A.; IPPOLITO, A. Control of postharvest rots of sweet cherries and table grapes with endophytic isolates of *Aureobasidium pullulans*. **Postharvest Biology and Technology**, Oxford, v.30, p.209-220, 2003.

[SESAN, T.E.](#); [STEFAN, A.L.](#); [CONSTANTINESCU, F.](#); [PETRESCU, A.](#) Grapevine rots diseases coming back into actuality in viticulture. II. Biological control. Putregaiurile strugurilor - boli revenite in actualitate in viticultura. II. Combatere biologica. [Analele-Institutului-de-Cercetare-Dezvoltare-pentru-Protectia-Plantelor](#). France, v.32, p.167-174, 2002.

SMILANICK, J.L.; DENIS-ARRUE, R.; BOSCH, J.R.; GONZALEZ, A.R.; HENSON, D.; JANISIEWICZ, W.J. Control of postharvest brown rot nectarines and peaches by *Pseudomonas species*. **Crop Protection**, Oxford, v.12, n.7, p.513-520, 1993.

SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: Evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. **Phytopathology**, St. Paul, v.79, p.921-926, 1989.

SÔNIGO, O.R.; CZERMAINSKI, A.B.C. **Avaliação de fosfitos no controle do mildio da videira**. Bento Gonçalves: EMBRAPA UVA E VINHO, 2003. 16p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 11).

SÔNIGO, O.R; GARRIDO, L. da R. **Avaliação da eficácia de algumas marcas comerciais de fosfito de potássio e de fosfonato de potássio no controle do mildio da videira**. Bento Gonçalves, EMBRAPA Uva e Vinho, 2005. 13p. (Circular Técnica n.60).

STADNICK, J.M., TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. CCA/UFSC. Florianópolis, 2004. 293p.

TAIZ, L. ZEIGER, E., **Fisiologia Vegetal**, 3. ed., Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p

TEIXEIRA-YAÑES, L.D.D.; FABRI, E.G.; SALA, F.C.; MINAMI, K. Efeito do dióxido de cloro sobre a reação de alface a *Thielaviopsis basicola*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.1, p.87-88, jan./mar. 2004. Apresentado no Congresso Paulista de Fitopatologia, 27, 2004, Campinas.

THOMAS, C.A. Calcium and water – insoluble pectic substances in safflower hypocotyls in relation to resistance to *Phytophthora drechsleri*. **Phytopathology**, St. Paul. v.56, p.985, 1966.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Controle químico da podridão de raízes de macieira causada por *Phytophthora cactorum* no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.16, p.25-29, 1991a.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Tratamento de mudas de macieiras inoculadas com *Phytophthora cactorum* em condições de telado. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.17, p.154-158, 1991b.

VAWDREY, L.L. The use of metalaxyl and potassium phosphonate, mounds, and organic and plastic mulches, for the management of *Phytophthora* root rot of papaya in far northern Queensland. **Australasian Plant Pathology**, Austrália, v.33, n.1, p.103-107, 2004.

VITTI, G.C. **Utilização de fosfitos em cana-de-açúcar**. II Simpósio de tecnologia de produção de cana-de-açúcar, **Anais**, GAPE-GELQ-ESALQ/USP, Piracicaba, SP. 2005.

WATSON, W.A.; ZEHR, E.I., GRIMES, L.W. Influence of temperature and wetting period on inoculum production by *Monilinia fructicola* in peach twig cankers. **Plant Disease**, St. Paul, v.86, n.6, p.666-668, 2002.

WICKS, T.J. ; MARGAREY, P.A. ; DE BOER, R.F. ; PEGG, K.G. Evaluation del fosfito potasico como fungicida en Australia. (*Conferencia de Brinhton para protecció n de las cosechas. Pestes y Enfermedades, 1990*). In: **Fosfitos Pesquisas**, São Paulo, 1996, p.19-25

WICKS T.J., MAGAREY P.A., WACHTEL M.F., FRENHAM A.B. Effect of postinfection application of phosphorous (phosphonic) acid on the incidence and sporulation of *Plasmopara viticola* on grapevine. **Plant Disease**, St. Paul. v.75, 40-43, 1991.

WILD, B.L.; WILSON, C.L.; WINLEY, E.L. **Apple host defense reactions as affected by cycloheximide, phosphonate, and citrus green mould, *Penicillium digitatum***. Camberra: ACIAR, p.155-161.1988. (ACIAR. Proceedings Series, 80).

WISNIEWSKI, M.E. e WILSON, C.L. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: recent advances, **HortScience**, Alexandria, v.27, n.2, p.94-98, 1992.

WISNIEWSKI, J.; WILSON, C.; EL-GHAOUTH, A.; DROBY, S.; BEN-ARIE, R.; PHILOSOPH-HADAS, S. Non-chemical approaches to postharvest disease control. **Acta Horticulturae**, Bélgica, n.553, v.2, p.407-412, 2001.

WILSON, C.L.; WISNIEWSKI, M.E. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.27, p.425-441, 1989.

WITTIG, H.P.P.; JOHNSON, K.B.; PSCHIEDT, J.W. Effect of epiphytic fungi on brown rot blossom blight and latent infections in sweet cherry. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, n.4, p.383-387, 1997.

WORDELL FILHO, J.A. Manejo ecológico de doenças de plantas em Santa Catarina. p.31-44. In: STADNICK, J. M., TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. CCA/UFSC. Florianópolis, 2004. 293p.

YUSSEFI, M.; WILLER, H. (Eds.) **The world of organic agriculture: statistics and future prospects**. 5th rev. ed. [S.I.]:IFOAM Publication, Feb. 2003. 130p.

ZEHR, E.I. Control of brown rot in peach orchards. **Plant Disease**, St. Paul, v.66, n.12, p.1101-1105. 1982.

ZAMBOLIN, L.; VENTURA, J.A. Resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas. **RAAP**, v.1, p.275-319, 1993.

ZHOU, T.; NORTHOVER, J.; SCHNEIDER, K.E. Biological control of postharvest diseases of peach with phyllosphere isolates of *Pseudomonas syringae*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.21, n.4, p.375-381, 1999. (Resumo).

3- CAPITULO I - CONTROLE DA PODRIDÃO PARDA DO PESSEGUIRO CULTIVADO EM SISTEMA ORGÂNICO

RESUMO

A podridão parda causada por *Monilinia fructicola* na cultura do pessegueiro é considerada no Brasil e em outras partes do mundo a principal causa de prejuízos da cultura, principalmente em cultivo orgânico. O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de produtos alternativos e agentes de controle biológico aplicados nas fases de floração e pré-colheita, para controle da podridão parda em duas cultivares de pessegueiro, a Granada e a Chimarrita, cultivadas em sistema orgânico. As aplicações foram realizadas no início, na plena e no final da floração e mais cinco aplicações na fase de desenvolvimento dos frutos até uma semana antes da colheita. Os tratamentos foram realizados com calda sulfocálcica (300 mL.100 L⁻¹), iodo (30 mL.100 L⁻¹), fosfito de CaB (300 mL.100 L⁻¹) e fosfito de K (200 mL.100 L⁻¹) e o antagonista *Trichothecium roseum* (10⁶ conídios.mL). As avaliações foram feitas pela incidência em flores, frutos verdes, frutos com sintomas durante a colheita e na pós-colheita. Os tratamentos com o antagonista *T. roseum* aplicado sozinho ou associado aos fosfitos de CaB e de K foram eficientes nas duas cultivares, controlando em até 73 % da doença em flores, 79 % em frutos verdes e 30 % em pós-colheita em relação à testemunha. A calda sulfocálcica foi eficiente apresentando até 50 % de controle da doença em flores, 84 % em frutos verdes e 54 % na pós-colheita na cultivar Chimarrita em relação à testemunha. Nenhum dos tratamentos foi eficientes para o controle da doença na fase de colheita, sendo recomendado a continuidade dos tratamentos até a colheita em experimentos futuros.

Palavras-chave: *Monilinia fructicola*, antagonista, fosfitos, *Trichothecium roseum*

CONTROL OF BROWN ROT OF PEACH TREE CULTIVATED IN ORGANIC SYSTEM

ABSTRACT

In Brazil and other parts of the world, brown rot caused by *Monilinia fructicola* in peach trees is considered as the main cause of damage in the crop, mainly in organic ones. The aim of this work was to evaluate the use of alternative products and biological agents applied in the flowering and pre-harvest phases in order to control brown rot in two peach cultivars – Granada and Chimarrita, cultivated in organic system. The applications were made at the beginning, in full and end of flowering and five applications in the fruit development phase up to one week before harvest. The treatments were lime sulfur (300 mL.100 L⁻¹), iodine (30 mL.100 L⁻¹), CaB phosphite (300 mL.100 L⁻¹) and K phosphite (200 mL.100 L⁻¹), and the antagonist *Trichothecium roseum* (10⁶ conidia.mL). The evaluations of the incidence of brown rot in flowers, green fruit, fruit during harvest and post-harvest were made. The treatments with *T. roseum* alone, or associated with CaB and K phosphites were efficient in two cultivars controlling up to 73 % of the disease in buds, 79 % in green fruit and 30 % in post-harvest in relation to the check. Lime sulfur was efficient, presenting up to 50 % of disease control in flowers, 84 % in green fruit and 54 % in post-harvest in the Chimarrita cultivar in relation to the check. None of the treatments until blossom was efficient to control the disease at harvest, being recommended the continuity of the treatments at harvest for futures experiments.

Key words: *Monilinia fructicola*, antagonist, phosphites, *Trichothecium roseum*

3.1. INTRODUÇÃO

As podridões de frutas causadas pela ação de fungos fitopatogênicos constituem grande limitação para a comercialização *in natura* trazendo prejuízos aos produtores rurais, principalmente àqueles que cultivam frutas em sistema orgânico.

Na cultura do pessegueiro, *Prunus persicae* (L.) Batsch, a podridão parda causada por *Monilinia fructicola* (G. winter) Honey é a principal doença no campo e também em pós-colheita, afetando flores e ramos, podendo ficar latente em frutos sem apresentar sintomas visíveis. A doença está disseminada por todas as regiões de clima temperado do mundo onde se cultiva o pessegueiro e outras rosáceas (RASEIRA e QUEZADA, 2003).

O controle da podridão parda é baseado em produtos químicos, no entanto além destes causarem desequilíbrios ambientais elevam muito o custo de produção e muitas vezes não são garantia de controle da doença em função de inóculo alto, condições climáticas ou manejo cultural. Considerando as normas para a utilização de produtos químicos ao controle de doenças em frutíferas e respeitando-se os períodos de carência, alguns produtos não podem ser utilizados no período da colheita quando o inóculo da doença é alto e a suscetibilidade da fruta é maior, proporcionando um rápido desenvolvimento do patógeno e o aumento da doença de forma epidêmica.

Em condições favoráveis à doença e mesmo com uso de controle químico nos pomares, os danos na pós-colheita podem atingir níveis superiores a 50 % dos frutos (HONG et al., 1998), ou até acima de 90 %, entre a colheita e pós-colheita em parcela de pessegueiro sem controle, cultivado em sistema convencional no Estado do Paraná (MOREIRA, 2005).

Atualmente, com a expansão da agricultura orgânica, pesquisadores e produtores vêm demonstrando maior interesse pela pesquisa do uso de indutores de resistência, produtos menos agressivos ao meio ambiente e de microorganismos antagônicos como estratégia de controle de doenças em substituição aos fungicidas sintéticos (PINHEIRO, 1996).

Dentre as alternativas, o uso de fosfitos está indicado por poderem controlar patógenos pela sua ação direta (FENN e COFFEY, 1985) ou através da ativação de mecanismos de defesa da planta, como o estímulo à produção de fitoalexinas (JACKSON et al., 2000; SÔNEGO e GARRIDO, 2005) ou através de uma maior lignificação e produção de fenóis (NOJOSA et al., 2005). Os fosfitos de Cálcio e Boro (CaB) e de potássio (K) foram testados em campo com resultados positivos no controle da *M. fructicola* em pessegueiros.

Outro produto permitido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento conforme Instrução Normativa nº 007, de 17 de maio de 1999, para o uso na agricultura

orgânica é a calda sulfocálcica, a qual além de fornecer nutrientes às plantas tais como cálcio e enxofre apresenta efeito acaricida, fungicida e inseticida sendo indicada para controle fitossanitário em diversas frutíferas e culturas (GARRIDO e SONEGO, 2003; RASEIRA e QUEZADA, 2003).

Em relação ao controle biológico, as pesquisas com controle da *M. fructicola* em sua grande maioria são direcionadas ao controle pós-colheita, tendo sido intensificadas a partir da década de 90. Neste sentido, alguns isolados antagonistas foram testados em campo, dentre eles, o *Trichothecium roseum* (Pers.) Link para controle de *M. fructicola* no Brasil e Estados Unidos (HONG et al., 1998; MOREIRA, 2005) e o antagonista *Epicoccum nigrum* (Link) para controle de *Monilinia laxa* (Aderh. e Ruhl.) na Espanha, Itália e França (LARENA et al., 2005).

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos do antagonista *T. roseum*, dos fosfitos de cálcio/boro e potássio e da calda sulfocálcica associada a iodo para controle da podridão parda em pessegueiro cultivado em sistema orgânico, nas cultivares Granada e Chimarrita correlacionando a incidência da doença entre as fases da cultura.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no ano de 2004, em pomar de pessegueiro com as cultivares Granada e Chimarrita, cultivado em sistema orgânico, localizado no município de Rio do Sul, SC, Brasil, coordenadas geográficas com latitude: 27° 11' 07" S e longitude: 49° 39' 39" W. As plantas possuíam sete anos de idade e espaçamento de 6,5 metros entre linhas e 5 metros entre plantas, sendo conduzidas em forma de taça.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados constituídos por três plantas para cada parcela, com três repetições para cada tratamento. Utilizou-se quatro tratamentos com uso de calda sulfocálcica e iodo, fosfitos de CaB e de K e o antagonista *T. roseum*. Foram realizadas três aplicações durante a floração e cinco durante a pré-colheita com o uso de pulverizador costal (Jacto com bico leque) com capacidade para 20 L, sendo utilizado em média 3 L.planta⁻¹. A descrição dos tratamentos, doses, fases e datas de aplicação constam da Tabela 3.1. e quadro 3.1.

Tabela 3.1 – Descrição de tratamentos e dosagens para controle de podridão parda em pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC. 2004.

Tratamentos	Dose/100 L água	Fases
1- Calda Sulfocálcica e Iodo *	300 mL e 30 mL	- Floração
	400 mL e 30 mL	- Pré-colheita
2- Tratamento misto		
Calda Sulfocálcica e Iodo	300 mL e 30 mL	- Floração
Fosfitos de CaB **	300 mL	- Floração
<i>Trichothecium roseum</i>	10 ⁶ conídios/m	- Floração e pré-colheita
Fosfito de K ***	200 mL	- Pré-colheita
3- <i>Trichothecium roseum</i>	10 ⁶ conídios/mL	- Floração e pré-colheita
4- Testemunha	Não tratado	

* Calda Sulfocálcica (28 °Baumé) e Iodo (2 %)

** Fosfito de Cálcio e Boro (equivalente a 10,7% P₂O₅ + 3,89 % Ca + 0,51 % B)

*** Fosfito de Potássio (equivalente a 40 % P₂O₅ + 20 % K₂O)

Quadro 3.1 – Tratamentos realizados em pomar de pessegueiro cultivado em sistema orgânico, cvs. Granada e Chimarrita, Rio do Sul, SC, 2004.

Tratamentos (Chimarrita)	Floração			Crescimento de frutos			Pré-colheita	
	4/ago	11/ago	18/ago	14/out	21/out	26/out	4/nov	13/nov
Calda sulfocálcica + iodo								
Tratamento misto								
<i>T. roseum</i>								
Testemunha								

Tratamentos (Granada)	Floração			Crescimento de frutos				Pré-colheita	
	4/ago	19/ago	2/set	11/set	14/out	21/out	26/out	4/nov	13/nov
Calda sulfocálcica + iodo									
Tratamento misto									
<i>T. roseum</i>									
Testemunha									

Legenda:

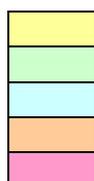
Calda Sulfocálcica

Fosfito de Cálcio e Boro + *T.r*

Fosfito de Potássio

T. roseum (*T.r*)

T. roseum + Fosfito de K



3.2.1. Incidência de podridão parda em flores

Foram efetuadas duas coletas com 50 flores totalmente abertas da planta central de cada parcela, sendo uma coleta feita antes e outra 24 horas após as pulverizações. Após serem coletadas, as flores foram acomodadas em caixas plásticas (11 x 11 x 3,5 cm) tipo gerbox[®], com 20 flores por caixa, forradas com papel filtro esterilizado umedecido em água estéril, que permaneceram incubadas a 25 °C, no escuro por três dias e após, a 4 °C por mais três dias, adaptado de LUO et al. (2001). As avaliações foram feitas com microscópio estereoscópico observando-se a presença de sintomas e sinais do patógeno nas estruturas florais.

3.2.2. Incidência de podridão parda em frutos verdes

Para verificar a presença de infecção latente de *M. fructicola* em frutos verdes na cultivar Granada foram utilizados 50 frutos por parcela no início da frutificação e 20 frutos 45 dias antes da colheita. Para a cultivar Chimarrita foram coletados 20 frutos por parcela no início da frutificação e 10 frutos 45 dias antes da colheita. Todos os frutos foram coletados nas partes internas das duas plantas laterais de cada parcela. Após a coleta, os frutos foram imersos, por 1 minuto, em solução de etanol 70 %, hipoclorito de sódio 2 %, paraquat 2 % e posteriormente lavados em água estéril, conforme metodologia adaptada de NORTHOVER e CERKAUSKAS (1994). Em seguida foram colocados em bandejas de PVC embaladas em sacos plástico contendo papel toalha umedecido com água estéril, e incubados a 25 °C por sete dias. Avaliou-se a presença de infecção no 3^o e 7^o dias após a incubação das amostras, sendo o resultado o somatório das duas avaliações.

3.2.3. Incidência de podridão parda durante a colheita e pós-colheita.

A incidência da doença durante o período da colheita foi determinada pelo número de frutos que apresentaram sintomas da doença e calculando-se a proporção da mesma em relação ao total de frutos colhidos. Para as avaliações em pós-colheita os frutos foram coletados nas plantas centrais de cada parcela, sendo utilizados 50 frutos da cultivar Granada, divididos em duas coletas de 20 frutos e uma de 10 frutos; para a cultivar Chimarrita, que apresentava um baixo número de frutos por planta neste ciclo, foram utilizados 20 frutos, divididos em duas coletas de 10 frutos. Metade destes frutos foram imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,5 % durante um minuto e em seguida lavados em água estéril. Os demais frutos não sofreram nenhuma desinfestação. Todos os frutos foram acomodados sobre mesas forradas com papel toalha, à temperatura ambiente e avaliados por incidência no 5^o dia após a colheita.

3.2.4. Obtenção e preparo do inóculo do fungo *Trichothecium roseum*

O isolado do fungo *T. roseum* foi obtido junto ao Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças da Universidade Federal do Paraná e multiplicado na Estação Experimental da EPAGRI no município de Ituporanga, SC. É um fungo ectofítico isolado em trabalho de pesquisa com controle biológico realizado em 1997 a partir de frutos de pêssego da região da Lapa – PR. Estes isolados passaram por vários testes laboratoriais (MOREIRA, 1999) e também de eficiência de controle da doença em pós-colheita (MOREIRA et al., 2002) e em campo (MOREIRA, 2005). O preparo e produção do inóculo seguiram a metodologia adotada por MOREIRA (2005).

A concentração do fungo foi determinada com auxílio de câmara de Neubauer e a viabilidade dos esporos verificada após o preparo das caldas quando foram adicionados 0,1 mL da calda por placa Petri, em três placas com meio Ágar/água (AA) as quais foram incubadas a 25 °C por 12 horas no escuro. Em seguida foram contados aleatoriamente os 100 primeiros esporos, considerando-se viáveis aqueles em que o pró-micélio apresentava 1,5 vezes o diâmetro do esporo.

3.2.5. Análise estatística

Os dados de incidência em flores, frutos verdes, frutos durante a colheita e frutos pós-colheita foram transformados em proporção de doença e posteriormente submetidos à análise estatística, sendo transformados em $\ln x$ ou se necessário em $\sqrt{x} + 1$ pelo programa estatístico SAS utilizando-se ANOVA e em caso de significância aplicou-se o teste de Duncan a 5 %.

Para avaliar o grau de associação entre as diferentes fases de ocorrência da doença aplicou-se análise de correlação entre as médias de incidência e para avaliar o efeito de uma variável sobre a outra se fez análise de regressão linear que resultou o coeficiente de determinação (R) e o valor de significância (p), sendo considerada a hipótese de correlação para teste de $p < 0,05$. As análises foram feitas através do programa “Statistica® 6.0”. Os dados de proporção nas diferentes fases foram plotadas em curva de progresso da doença e a partir disto foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), pelo método da integralização trapezoidal de BERGER (1988), que serve para demonstrar a flutuação epidêmica relacionada com os períodos de seu progresso.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando-se o desenvolvimento da doença ao longo do ciclo da cultura verificou-se que para o período de pré-colheita a incidência da doença foi reduzida para todos os tratamentos em relação à testemunha nas duas cultivares. Para o período de colheita e pós-colheita fase em que os tratamentos não foram mais aplicados houve crescimento da doença para todos os tratamentos. A testemunha apresentou incidência da doença sempre superior aos tratamentos para a cultivar Chimarrita. Para a cultivar Granada houve um crescimento da doença durante a floração, mantendo-se nos mesmos níveis dos tratamentos na fase de colheita e superior a estes nas demais fases (Figura 3.1).

O crescimento da doença a partir da colheita está de acordo com o constatado por LUO e MICHAILIDES (2003) que afirmaram que nesta fase a *M. fructicola* se expressa com maior intensidade em virtude de condições climáticas ideais ao desenvolvimento do patógeno. Outra razão deste crescimento pode ser a ativação da infecção latente pelo processo de maturação ou senescência dos frutos (CRUICKSHANK e WADE, 1992). Além destes fatores, a elevada pressão de inóculo no local por outras cultivares mais precoces e com elevada incidência de podridão parda, podem ter contribuído para o crescimento da doença nesta fase. Isto indica que a paralisação dos tratamentos sete dias antes da colheita favoreceu o crescimento da doença, sugerindo que a continuidade de tratamento com agente biológico durante a colheita e pós-colheita poderá contribuir para uma menor incidência da doença nestas fases. Os resultados de infecção latente no final da fase de formação dos frutos nas duas cultivares foi inferior aos observados no início da formação confirmando resultados de LUO e MICHAILIDES (2003), os quais revelaram que as fases de maior expressão da doença são o final da formação do caroço, final do crescimento do embrião e uma semana antes da colheita.

O crescimento da doença na colheita e pós-colheita demonstrou a necessidade de tratamentos para estas fases. Considerando a possibilidade de resíduos tóxicos sobre os frutos tratados durante e após a colheita, o controle biológico pode ser uma alternativa para minimizar os prejuízos. Neste sentido, diversos microorganismos foram testados com eficiência no controle de *M. fructicola* em pós-colheita (HONG e MICHAILIDES, 1997; HONG et al., 1998; MERCIER e JIMÈNEZ, 2004; LARENA et al., 2005). O antagonista *Trichothecium spp.* (isolados F1 e F2) e o fosfito de potássio podem ser recomendados para controle da podridão parda em pós-colheita, uma vez que os mesmos foram eficientes no controle da doença em pessegueiro com reduções de 80 a 85 % (MOREIRA et al., 2002).

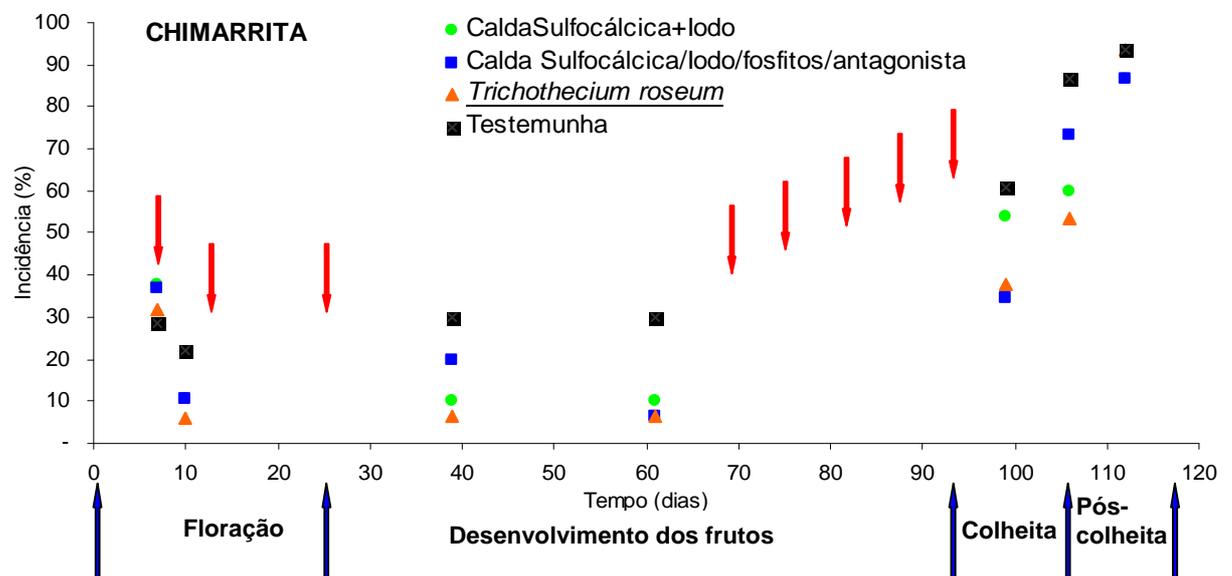
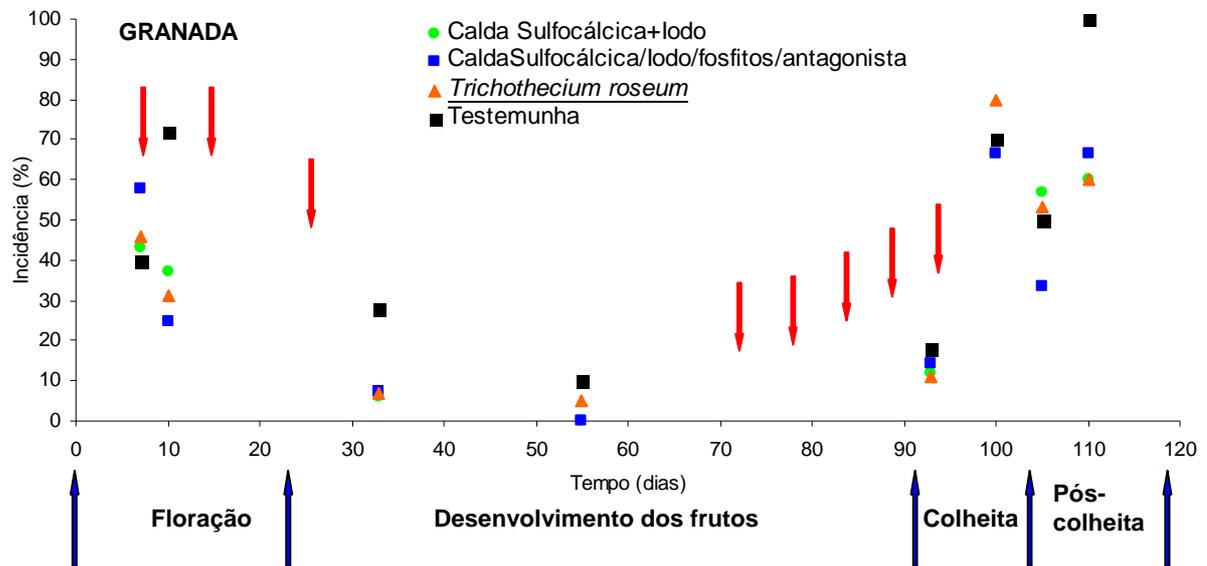


Figura 3.1 – Incidência de podridão parda em pessegueiro, por tratamento, cvs. Granada e Chimarrita, para as fases de floração, desenvolvimento dos frutos, colheita e pós-colheita. Rio do Sul, SC, 2004. ↑ = Fases da cultura ↓ = Pulverizações

A ocorrência de podridão parda para as fases de floração, frutos verdes (infecção latente), colheita, pós-colheita e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) podem ser observadas nas Tabelas 3.2 e 3.3.

Na fase de floração, a incidência de podridão parda antes das pulverizações era uniforme para todos os tratamentos, variando de 40 a 58 % na cultivar Granada, (Tabela 3.2) e de 29 a 38 % na cultivar Chimarrita (Tabela 3.3). Nesta fase, todos os tratamentos foram eficientes pelo teste de (Duncan $P < 0,05$) havendo reduções de 49 a 65 % na cultivar Granada e de 50 a 73 % na cultivar Chimarrita em relação a testemunha. Estes resultados confirmam experiências desenvolvidas por MOREIRA et al. (2002) com fosfitos e *T. roseum*, resultados de LARENA et al. (2005) e, ainda relatos de HONG et al. (1996) e HONG e MICHAILIDES (1997) os quais verificaram potencial com microorganismos do mesmo gênero aplicados nas fases de floração e em pós-colheita.

Um fator que pode explicar o crescimento da doença no período de floração para a cultivar Granada é o aumento da temperatura ocorrido neste período o qual foi em média de 10 °C superior ao período de floração da cultivar Chimarrita. Segundo BLEICHER (1997), a temperatura ótima para o crescimento micelial, germinação e produção de conídios é de 25 °C necessitando de um período mínimo de 18 horas a 10 °C e de 5 horas a 25 °C para ocorrência de infecção.

Pela comparação das médias de incidência da doença entre as cultivares (Tabelas 3.2 e 3.3) verifica-se mais doença na cultivar Granada na fase de floração antes e após as pulverizações indicando que a Granada é mais susceptível nesta fase. Na fase de desenvolvimento dos frutos, a cultivar Granada apresentou 19 % de incidência na testemunha, contra 30 % na Chimarrita e na colheita a cultivar Chimarrita apresentou 61 % contra 18 % demonstrando ser esta cultivar mais susceptível à doença nestas fases. Comparando-se a incidência de podridão parda na colheita entre as cultivares verificou-se diferenças estatísticas significativas pelo teste ("t") com 5 % de significância e CV de 19,2 indicando que a cultivar Chimarrita foi mais susceptível que a Granada. A maior resistência da Granada na fase de colheita pode estar relacionada à maior firmeza de polpa e menor taxa de açúcares que a Chimarrita (BIASI, et al., 2004).

A elevada incidência de podridão parda no início da floração equivale ao verificado por LUO et al. (2001) que obtiveram 40 % de incidência na plena floração contra 10 % na queda de sépalas.

Tabela 3.2 - Proporção de podridão parda durante a floração, desenvolvimento dos frutos, colheita e pós-colheita do pessegueiro com diferentes tratamentos, cv. Granada. Rio do Sul, SC, 2004.

Tratamentos*	Floração		Fruto Verde (Inf. Latente)	Colheita		Pós-colheita		AACPD
	AAP	APP		Nº. Frutos ¹	Incidência	FD	FND	
CS+I	0,43 b	0,37 b	0,03 b	611 a	0,12 ns	0,26 c	0,61 ns	10,09 b
CS+I, FCaBK e <i>Tr</i>	0,58 a	0,25 b	0,04 b	429 ab	0,14	0,40 b	0,56	8,76 b
<i>T. roseum</i>	0,46 b	0,31 b	0,06 b	331 b	0,11	0,52 ab	0,64	10,57 b
Testemunha	0,40 b	0,72 a	0,19 a	379 ab	0,18	0,57 a	0,73	25,94 a
Médias	0,47	0,41	0,08	437,50	0,14	0,44	0,64	13,84
CV (%)	10,00	4,71	1,00	3,88	34,91	15,10	31,69	9,99

*CS+I = Calda Sulfocálcica + Iodo; FCaBK = Fosfitos de Cálcio, Boro e Potássio; *Tr* = *Trichothecium roseum*; AAP = Avaliação antes da pulverização; APP = Avaliação após a pulverização; AACPD = Área abaixo da curva de progresso da doença; FD = Frutos desinfestados; FND = Frutos não desinfestados. Dados originais. As médias seguidas verticalmente pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade de erro. ¹ Dado original em unidade de frutos colhidos, média por tratamento. Dados transformados em Ln x.

Durante a fase de desenvolvimento dos frutos, todos os tratamentos foram eficientes reduzindo a doença em 68,4 a 84,21 % no cultivar Granada e de 56,66 a 76,66 % na cultivar Chimarrita em relação à testemunha (Tabela 3.2 e 3.3). O controle da doença pelo uso do antagonista *T. roseum* associado à calda sulfocálcica e fosfitos está de acordo com resultados de MOREIRA (2005) que utilizando *T. roseum* alternado com captan + fosfitos conseguiu reduções de 80 e 95 % respectivamente em infecções latentes em pêsego. O método utilizado para a verificação deste tipo de infecção, proporciona o favorecimento de condições propícias para a manifestação do patógeno, o que não ocorre em condições normais de campo.

A eficiência dos fosfitos no controle de doenças fúngicas foi verificada em diversas culturas como a maçã, videira, citrus, tomate, abacate, hortaliças, café, abacaxi (FENN e COFFEY, 1985; GUEST e GRANT, 1991; JACKSON et al., 2000).

Tabela 3.3 - Proporção de podridão parda durante a floração, desenvolvimento dos frutos, colheita e pós-colheita do pessegueiro com diferentes tratamentos, cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2004.

Tratamentos *	Floração		Fruto Verde (Inf. Latente)	Colheita		Pós-colheita		AACPD
	AAP	APP		Nº. Frutos ¹	Incidência	FD	FND	
CS+I	0,38 ns	0,11b	0,10 b	107 ns	0,54 ns	0,67 ns	0,73 b	18,40 b
CS+I, FCaBK e <i>Tr</i>	0,37	0,11 b	0,13 b	142	0,34	0,60	0,80 ab	16,73 b
<i>T. roseum</i>	0,32	0,06 b	0,07 b	47	0,38	0,73	0,73 b	12,36 b
Testemunha	0,29	0,22 a	0,30 a	77	0,61	0,67	0,90 a	34,00 a
Médias	0,34	0,13	0,15	93,25	0,47	0,67	0,79	20,38
CV (%)	41,70	26,94	46,04	17,96	23,23	12,40	2,04	8,23

*CS+I = Calda Sulfocálcica + Iodo; FCaBK = Fosfitos de Cálcio, Boro e Potássio; *Tr* = *Trichothecium roseum*; AAP = Avaliação antes da pulverização; APP = Avaliação após a pulverização; AACPD = Área abaixo da curva de progresso da doença; FD = Frutos desinfestados; FND = Frutos não desinfestados. Dados originais. As médias seguidas verticalmente pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade de erro. ¹ Dado original em unidade de frutos colhidos, média por tratamento. Dados transformados em Ln x.

A calda sulfocálcica demonstrou potencialidade no controle da doença em pré-colheita justificando assim sua eficiência comprovada contra diversas doenças fúngicas em frutíferas e outras culturas (ABREU JUNIOR, 1998). Seu emprego no controle da podridão parda é indicado por vários autores (ABREU JUNIOR, 1998; GARRIDO e SÔNEGO, 2003; RASEIRA e QUEZADA, 2003). Pesquisadores da EPAGRI, Estação Experimental de Ituporanga, SC, estão utilizando com sucesso a calda sulfocálcica 29 °Bé diluída a 0,4 % associada a iodo 2 % diluído a 0,04 % no manejo da sarna da ameixeira, causada por *Cladosporium carpophyllum* Thuem (GONÇALVES et al., 2005).

A maior incidência da doença durante a fase de desenvolvimento dos frutos verificado para as duas cultivares nas plantas testemunha em relação aos demais tratamentos, confirma a ocorrência da entrada de novas infecções nesta fase da cultura conforme já foi relatado por MOREIRA (2005), para o cultivar BR1, e o observado por BYRDE e WILLETS (1977) que o patógeno consegue penetrar na região de inserção do pêlo com a epiderme do fruto antes da colheita.

A desuniformidade no número de frutos em plantas tratadas com calda sulfocálcica e iodo em relação aos demais tratamentos na cultivar Granada (Tabela 3.2), se justifica pela falta de raleio dos frutos em uma das parcelas. O baixo número de frutos na cultivar Chimarrita ocorreu em função do mau estado fitossanitário e de formação em que as plantas se encontravam no início do experimento. O baixo número de repetições podem ter contribuído pela não diferença estatística entre os tratamentos. Em função disto, recomenda-se que para os próximos experimentos, o número de repetições seja aumentado.

Quanto ao número de frutos na colheita, verificou-se que as plantas tratadas com calda sulfocálcica apresentaram um maior número de frutos, enquanto que, para as plantas tratadas com *T. roseum* houve um menor número de frutos nas duas cultivares, no entanto, o mesmo não ocorreu para as plantas tratadas com *T. roseum* aplicado em associação com a calda sulfocálcica e fosfitos. Neste sentido, há indicativo da possibilidade de abortamento de flores em plantas pulverizadas com *T. roseum*, ou queda de frutos durante o seu desenvolvimento. Este fato requer maior investigação em trabalhos futuros, com experimento específico para esta avaliação uma vez que, não foram encontrados relatos destas ocorrências em outros trabalhos desenvolvidos com o mesmo antagonista.

A incidência de podridão parda durante a colheita, demonstraram que as perdas foram de 68 e 47 frutos (61 e 18 %) na testemunha, contra 36 e 18 frutos (38 e 11 %) no tratamento com o antagonista *T. roseum* para as cultivares Granada e Chimarrita respectivamente. Estes dados demonstram a importância do controle biológico para a minimização dos prejuízos ao produtor no momento da colheita embora os dados não tenham apresentado significância estatística. A elevada pressão da *M. fructicola* na fase de colheita em função de condições climáticas ideais e da maior propensão a ferimentos e ataque de pragas é afirmativa de vários autores (ADASKAVEG et al., 2000; LUO e MICHAILIDES, 2003).

As avaliações em pós-colheita com frutos mantidos 7 dias em prateleira demonstraram que a incidência de podridão parda em frutos desinfestados foi menor que em frutos não desinfestados para as duas cultivares avaliadas indicando que contaminações durante a colheita, transporte e armazenamento contribuem para a manifestação da doença durante este período. Na cultivar Granada houve em média 26 a 57 % de incidência em frutos desinfestados e 56 a 73 % em frutos não desinfestados. A manifestação de podridão parda em pós-colheita para frutos desinfestados é proveniente de infecção latente em frutos verdes a qual segundo LUO e MICHAILIDES (2001) podem se desenvolver no interior dos frutos indo causar danos significativos na pós-colheita.

Os tratamentos com calda sulfocálcica + iodo e calda sulfocálcica e iodo associada a fosfitos de CaB e de K e o antagonista *T. roseum* foram eficientes no controle da doença em frutos desinfestados apresentando respectivamente 54,38 e 29,82 % de redução da doença em relação à testemunha na cultivar Granada. Eficiência também foi confirmada na cultivar Chimarrita, para os tratamentos com calda sulfocálcica e iodo e o *T. roseum* não associado a outros produtos em relação à testemunha, embora com 73 % de incidência para os dois tratamentos, contra 90 % na testemunha em frutos não desinfestados.

Estes dados estão de acordo com avaliação feita por MOREIRA (2005), a qual verificou em 5 dias pós-colheita, incidência de 96 % na testemunha e de 50 a 62 % em frutos tratados na pré-colheita com *T. roseum* e captan e os fungicidas preconizados pela Produção Integrada de Pêssego do Paraná.

Verifica-se que a aplicação dos produtos testados até uma semana antes da colheita não controlou com eficiência a podridão parda para esta fase e na pós-colheita. A continuidade dos tratamentos durante a colheita e na pós-colheita poderá ser um estratégia que venha a contribuir para a redução da doença, e a minimização de prejuízos nestas fases. Neste sentido, diversos microorganismos como *T. viride*, *T. atroviride* (Ta 291 e 23-E-6), *Rhodotorula sp.*, *Pseudomonas syringae* (MA-4 e NSA-6), *Pseudomonas fluorescens* (BAP-3), *Candida sp.* (NSD-4), *E. nigrum*, *T. roseum* foram testados com resultados positivos (HONG e MICHAILIDES, 1998; MOREIRA et al., 2002; LARENA et al., 2004).

Considerando-se os valores de incidência da podridão parda para cada fase da cultura (Tabelas 3.2 e 3.3) e com isso projetando-se uma área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para o período de pré-colheita verificou-se que todos os tratamentos foram eficientes, apresentando reduções de 44,29 a 53,63 % na cultivar Granada e de 45,89 a 65,65 % para a cultivar Chimarrita em relação à testemunha.

A análise de regressão linear e a correlação entre as médias de incidência da podridão parda por tratamento e fases da cultura (Figuras 3.2 e 3.3), fornece dados que explicam a influência de uma fase sobre a outra contribuindo para uma maior ou menor incidência da doença. Na cultivar Granada, os dados das regressões entre a fase de floração com a de desenvolvimento dos frutos (latência), colheita e pós-colheita foram de 0,54 a 0,91, enquanto que as correlações foram de 0,80 a 0,94 (Figura 3.2). Na cultivar Chimarrita, com dados também entre a fase de desenvolvimento dos frutos e a área abaixo da curva de progresso da doença, os valores das regressões foram de 0,60 a 0,87 e as correlações de 0,78 a 0,99 (Figura 3.3). Estes dados indicam que a ocorrência da doença nas fases de floração e desenvolvimento dos frutos exerce influência de uma fase sobre a outra e ambas sobre a colheita e pós-colheita.

A análise das correlações (R) com todos os dados obtidos nas avaliações demonstrou várias combinações expressivas de interação entre algumas fases da cultura, inclusive com probabilidade de erro (p) menor que 0,05. Para as fases de floração com a latência, os valores de (R) e (p) foram de (0,67 e 0,017), entre a floração e AACPD, de (0,7 e 0,017), entre a latência e AACPD de (0,95 e 0,000002) na cultivar Chimarrita. Para a cultivar Granada, os valores de (R) e (p), entre a floração e latência, foram de (0,67 e 0,01), floração e pós-colheita, de (0,56 e 0,05), floração e AACPD, de (0,70 e 0,01), latência e pós-colheita, de (0,67 e 0,01) e entre a latência com a AACPD, de (0,95 e 0,000002). Considerando estes dados verifica-se que os valores de (R) explicam de 56 a 95 % as correlações entre as diversas fases, com maior expressão entre o período de desenvolvimento dos frutos (latência) e a área abaixo da curva de progresso da doença, com grau de significância menor que 0,01 nas duas cultivares. Estas informações são úteis para a adoção de estratégias mais severas de controle da doença nas fases consideradas de maior influência sobre as demais.

A relação entre as fases de flor e desenvolvimento dos frutos pode ser explicada considerando que o patógeno presente em flores pode infectar os frutos ficando latente no seu interior indo manifestar-se somente após a maturação dos mesmos (BLEICHER, 1997; MAY DE MIO et al., 2004). No entanto, quando for utilizada metodologia apropriada para a avaliação destas infecções, a incidência nesta fase pode ser observada conforme apresentado no presente trabalho.

Por outro lado, além dos frutos já infectados na fase de floração, outros podem ser infectados durante o seu desenvolvimento uma vez que, o patógeno também pode penetrar diretamente nos frutos verdes ou ficar dormente entre os pelos da superfície dos frutos até a chegada da fase de maturação (BYRDE e WILLETS, 1977; LUO e MICHAILIDES, 2003). Estas ocorrências, explicam a relação de incidência de podridão parda entre a fase de desenvolvimento dos frutos com a colheita e pós-colheita. Estudos feitos nos Estados Unidos sobre a incidência de podridão parda em pessegueiro, confirmaram a existência de relação direta entre as fases de desenvolvimento dos frutos com a colheita e pós-colheita (EMERY et al., 2000).

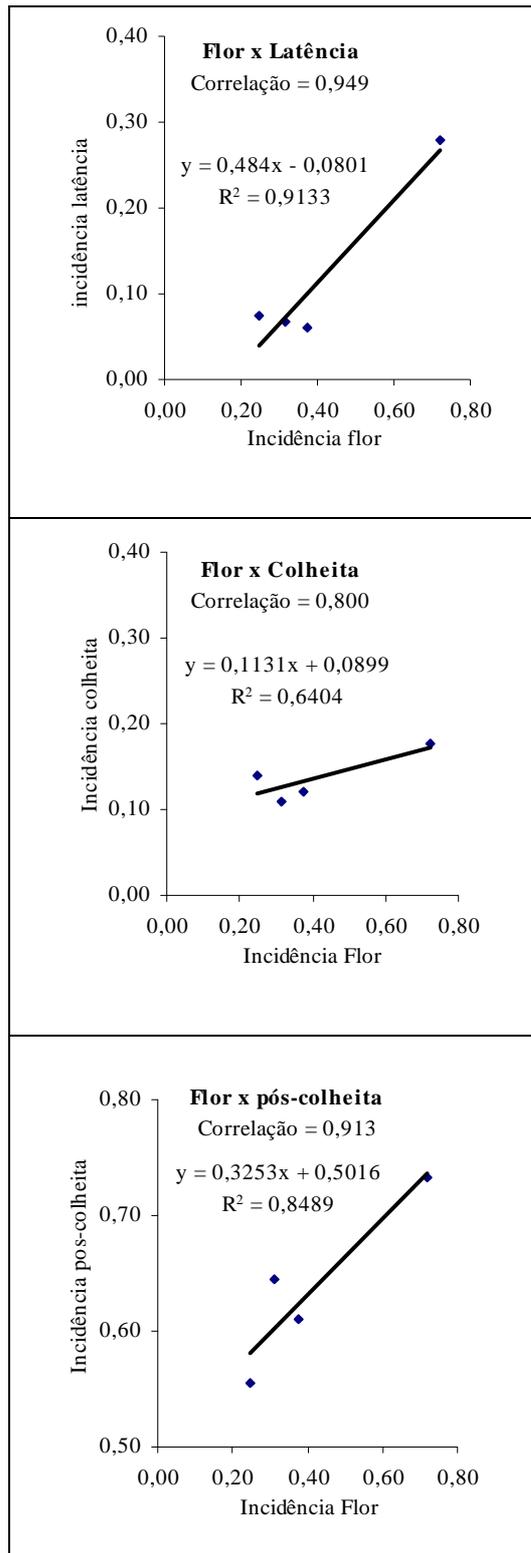


Figura 3.2 – Regressão linear entre as médias e correlação com todos os dados de incidência de podridão parda, após tratamentos, em diferentes fases da cultura do pessegueiro, cv. Granada. Rio do Sul, SC, 2004.

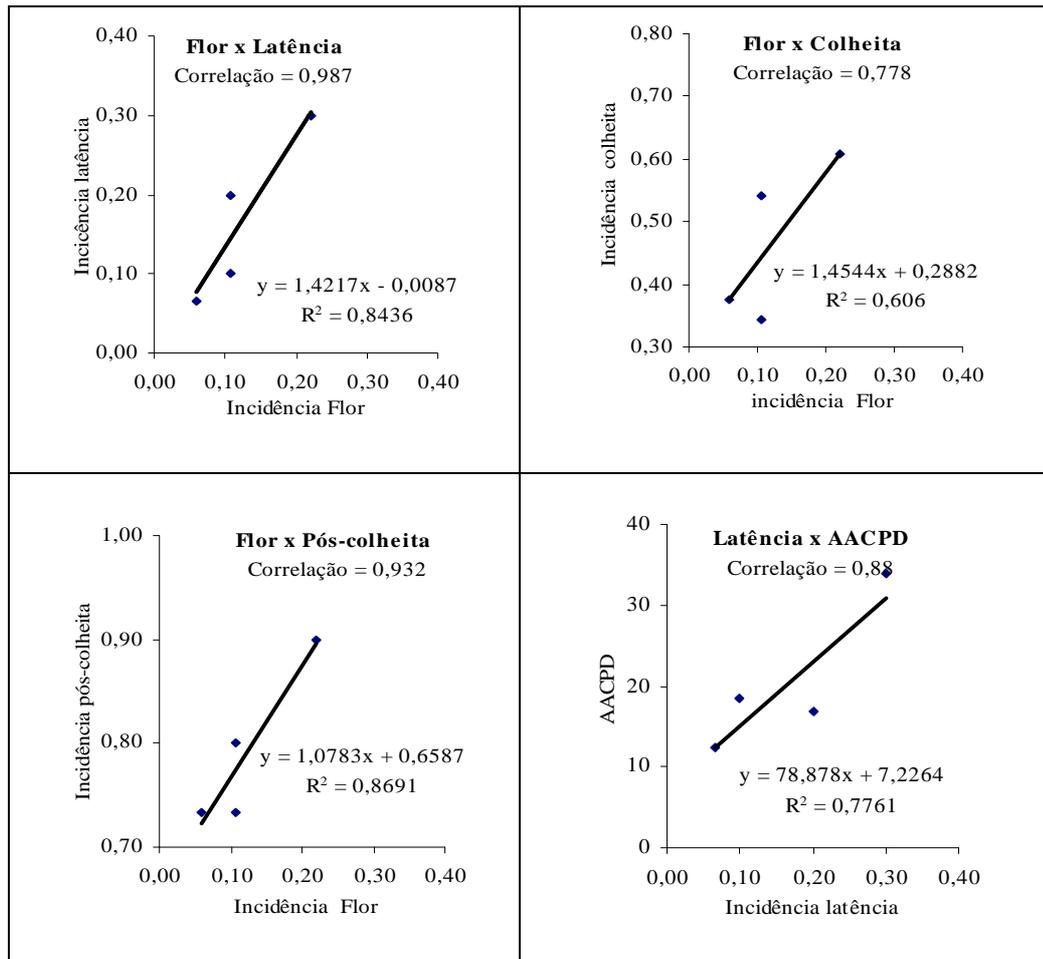


Figura 3.3 – Regressão linear entre as médias e a correlação com todos os dados de incidência de podridão parda, após tratamentos, em diferentes fases da cultura do pessegueiro, cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2004.

3.4. CONCLUSÕES

A calda sulfocálcica com iodo, os fosfitos de CaB e de K e o antagonista *Trichothecium roseum* foram eficientes no controle da podridão parda nas fases de floração e desenvolvimento dos frutos do pessegueiro.

A calda sulfocálcica com iodo e o tratamento misto com calda sulfocálcica e iodo, fosfitos de CaB e de K e o antagonista *T. roseum* foram eficientes na fase de pós-colheita na cultivar Granada.

Nenhum dos tratamentos aplicados a sete dias antes da colheita controlou a podridão parda para esta fase sugerindo que os tratamentos devam ser continuados até o início da colheita.

A cultivar Granada foi mais susceptível à podridão parda na fase de floração e menos nas fases de desenvolvimento dos frutos, colheita e pós-colheita em relação à Chimarrita.

REFERÊNCIAS

- ABREU JUNIOR, H. **Práticas Alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura**: Coletânea de Receitas. Campinas. EMOPU, 1998. 115p.
- ADASKAVEG, J.E.; OGAWA, J.M.; FELICIANO, A.J. Comparisons of calcium based and film-forming materials for control of Brown rot of peach caused by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul., v.10, p.1158, 1992.
- BLEICHER, J. Doenças de rosáceas de caroço. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN F.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. ed. **Manual de Fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. 3ª ed. São Paulo: Ceres, 1997. p.621-627
- BIASI, L.A.; ZANETTE, F.; PETRI, J.L, MARODIN, G.A.B. Cultivares de Fruteiras de Caroço. In: MONTEIRO, L.B.; MAY DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; MOTTA, A.C.; CUQUEL, F.L. ed. **Fruteiras de caroço**: uma visão ecológica, UFPR, Curitiba: 2004. p.05-32
- BYRDE, R.J.W.; WILLETTS, H.J. Infection. In: _____ **The brown rot of fruit: their biology and control**. Oxford, Pergamon Press, 1977, p.87-110
- CRUICKSHANK, R.H.; WADE, G.C. The activation of latent infections of *Monilinia fructicola* on apricots by volatiles from the ripening fruit. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v.136, p.107-112, 1992.
- EMERY, K.M.; MICHAILIDES, T.J.; SCHERM, H. Incidence of latent infection of immature peach fruit by *Monilinia fructicola* and relationship to brown rot in georgia. **Plant Disease**, St. Paul. v.84, p.853-857, 2000.
- FENN, M.E.; COFFEY, M.D. Further evidence for direct mode of action of phosethyl-al and phosphorous acid. **Phytopathology**, St. Paul. v.75, p.1064-1068, 1985.
- GARRIDO, L.; SÔNEGO, O.R. Sistema de produção de pêssego de mesa na região da serra gaúcha. EMBRAPA Uva e Vinho. Bento Gonçalves, 2003. ISSN 1678-8761, (Sistema de produção n.3).
- GONÇALVES P.A.S.; DEBARBA, J.F.; KESKE, C. Incidência da mosca-das-frutas, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae), em cultivares de ameixa conduzida sob sistema orgânico. **Revista de Ciências Agroveterinária**, Lages, v.2, p.101-108, 2005.
- GUEST, D.I.; GRANT, B.R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Review**, Cambridge, v.66, p.159-187, 1991.

HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J. Effect of temperature on the discharge and germination of ascospores by apothecia of *Monilinia fructicola*. **Plant Disease**, St. Paul, v.82, n.2, p.195-202, 1998.

HONG, C.; MICHAILIDES, T.J.; HOLTZ, B.A. Effects of wounding, inoculum density, and biological control agents on postharvest Brown rot of stone fruit. **Plant Disease**, St. Paul, v.82, p.1210-1216, 1998.

HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J.; HOLTZ, B.A. Resident fung of stone fruits mummified by *Monilinia fructicola*. In: Joint annual meeting, Indianapolis. **Anais**. Indianápolis: The American Phytopathological Society, 1996. p.81.

HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J. Prune, plum, and nectarine as hosts of *Trichothecium roseum* in California orchards. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, p.112, 1997. (note).

JACKSON, T.J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; FORTE, G.E. StJ. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, London, v.49, p.147-154, 2000.

LARENA I.; DE CAL, A.; MELGAREJO, P. Solid substrate production of *Epicoccum nigrum* conidia for biological control of brown rot on stone fruits. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v.94, p.161-167, 2004.

LARENA, I.; TORRES, R.; De CAL, A.; LIÑÁN, M.; MELGAREJO, P.; DOMENICHINI P.; BELLINI, A.; MANDRIN, J.F.; LOCHOU, J.; de ERIBE, X.O.; USALL, J. Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia spp.*) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. **Biological Control**, Orlando, v.32, p.305-310, 2005.

LUO, Y.; MORGAN, D.P.; MICHAILIDES, T.J. Risk analysis of rot blossom blight of prune caused by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul, v.91, n.8, p.759-768, 2001.

LUO e MICHAILIDES, T.J. Threshold conditions that lead latent infection to prune fruit rot caused by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 93, p.102-111, 2003.

MAY DE MIO, L.L.; GARRIDO, L.; UENO, B. Doenças de fruteiras de caroço. In: MONTEIRO, L.B.; MAY DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; MOTTA, A.C.; CUQUEL, F.L. ed. **Fruteiras de caroço: uma visão ecológica**, UFPR, Curitiba: 2004. p.169-221

MERCIER, J.; JIMÉNEZ, J.I. Control of fungal decay of apples and peaches by the biofumigant fungus *Muscodora albus*. **Postharvest Biology and Technology**, Oxford, v.31, p.1-8, 2004.

MOREIRA, L.M. **Alternativas de controle integrado da podridão parda do pessegueiro**. Tese de Doutorado. Curitiba PR. Universidade Federal do Paraná. 2005. 113p.

MOREIRA, L.M. **Controle químico e biológico de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey e monitoramento de infecções latentes em frutos**. Dissertação de Mestrado. Curitiba PR. Universidade Federal do Paraná. 1999. 76p.

MOREIRA, L.M.; MAY DE MIO, L.L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; LIMA, M.L.R.Z.C.; POSSAMAI, J.C. Controle em pós-colheita de *Monilinia fructicola* em pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, p.395-398, 2002.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**: Piracicaba: FEALQ, 2005. p.139-153

NORTHOVER J. e CERKAUSKAS R.F. Detection and significance of symptomless latent infections of *Monilinia fructicola* in prums. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.16, p.30-36, 1994.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S.B. **“MB-4” Agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes**. Fundação Juquira Candiru. Canoas RS. MIBASA. LA SALLE. 1996. 257p.

RASEIRA M.C.B.; QUEZADA A.C. Pêssego produção. Embrapa Clima Temperado. Brasília. EMBRAPA. 2003. (Informações Tecnológicas, frutas do Brasil n.49). 162p.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R. Avaliação da eficácia de algumas marcas comerciais de fosfito de potássio e de fosfonato de potássio no controle do míldio da videira. EMBRAPA Uva e Vinho. Bento Gonçalves. 2005. 13p. (Circular Técnica n.60).

4- CAPÍTULO II – *Trichothecium roseum*, CALDA SULFOCÁLCICA e FOSFITOS PARA O CONTROLE DA PODRIDÃO PARDA DO PESSEGUEIRO CULTIVADO EM SISTEMA ORGÂNICO

RESUMO

O cultivo do pessegueiro em sistema orgânico depende de estratégias diferenciadas do sistema convencional para o controle de doenças, especialmente com relação à podridão parda causada por *Monilinia fructicola*. Para tanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o progresso da doença no tempo em diferentes tratamentos, em sistema orgânico, correlacionando a doença entre as fases da cultura com dados climáticos nas cultivares, Granada e Chimarrita. O experimento foi conduzido no Estado de Santa Catarina, Brasil, nos anos de 2005 e 2006 com quatro tratamentos: 1) calda sulfocálcica (28 °Bé), 2) Fosfitos de Cálcio e Boro (CaB) e de potássio (K) associado ao fungo *Trichothecium roseum*, 3) o antagonista *T. roseum*, 4) Fosfitos de Cálcio e Boro (CaB) e de potássio (K), em comparação com a testemunha sem nenhum produto aplicado. A doença foi avaliada por incidência nas fases de floração, frutos em desenvolvimento, colheita e pós-colheita sendo estes dados utilizados para plotagem da curva de progresso da doença e calculado a área abaixo da curva. Os resultados demonstraram que para a fase de floração, a calda sulfocálcica foi eficiente reduzindo a doença de 25 a 80 % em relação à testemunha, o antagonista *T. roseum* reduziu a doença de 59 a 95 % e de 45 a 90 % quando aplicado com fosfitos, enquanto que os fosfitos aplicados sem associação ao antagonista reduziram a doença de 18,7 a 60 %, todos em relação à testemunha. Para as demais fases na cultivar Chimarrita, verificou-se potencial de todos os tratamentos para o controle da doença com reduções que variaram entre 24 a 62,5 % de incidência em relação à testemunha sendo as maiores com o *T. roseum*. Considerando a área abaixo da curva de progresso da doença, somente os fosfitos não diferiram estatisticamente da testemunha. O antagonista *T. roseum* reduziu a doença em 57,69 %, sendo indicado para o controle da *M. fructicola* na cultura do pessegueiro cultivado em sistema orgânico. A fase de menor incidência da doença foi a de desenvolvimento dos frutos, e a cultivar Granada apresentou maior susceptibilidade na fase de floração. As variações climáticas ocorridas nos dois anos do experimento interferiram diretamente sobre a incidência da doença com maior expressão para o ano de 2006 em relação a 2005 em todas as fases da cultura.

Palavras-chave: *Monilinia fructicola*, antagonista, controle biológico, pêssego

***Trichothecium roseum*, LIME SULFUR AND PHOSPHITES FOR THE CONTROL OF BROWN ROT IN PEACH CULTIVATED IN ORGANIC SYSTEM**

ABSTRACT

Peach production in organic systems depends on strategies for disease control that are different from the conventional system, mainly for the control of peach brown rot caused by *Monilinia fructicola*. Thus, the aim of this work was to evaluate the disease progress along time in different organic system treatments, correlating the disease between the phases of the crop with climatic data in cultivars Granada and Chimarrita. The experiment was conducted in the State of Santa Catarina, Brazil, in 2005 and 2006, with four treatments: 1) lime sulfur (28 °Bé), 2) Calcium and Boron (CaB) and potassium (K) phosphites associated with the fungus *Trichothecium roseum*, 3) the antagonist *T. roseum*, 4) Calcium and Boron (CaB) and potassium (K) phosphites and 5) the check without the application of any product. The disease incidence was evaluated at flowering, developing fruit, harvest and postharvest phases, so that the data were used for plotting the disease progress curve and for calculating the area under curve. The results showed that, for the flowering phase, lime sulfur was efficient, reducing the disease in 25 to 80% in relation to the check; antagonist *T. roseum* reduced the disease in 59 to 95% and in 45 to 90% when applied with phosphites, whereas the phosphites alone reduced the disease in 18.7 to 60%, all in relation to the check. For the other phases, in Chimarrita cultivar all the treatments demonstrated potential for disease incidence control, with reductions that varied between 24 and 62.5% in relation to the check, with the highest value for *T. roseum*. Considering the area under the disease progress curve, only the phosphites did not differ statistically from the check. The antagonist *T. roseum* reduced the disease in 57.69%, being, therefore, recommended for the control of *M. fructicola* in peach crop cultivated in organic system. The phases of less disease incidence was at fruit development end Granada cultivar presented higher susceptibility in the flowering phase. There was climatic variation in both years interfering directly on the disease incidence, with higher expression in 2006 in relation to 2005 in all crop phases.

Key words: *Monilinia fructicola*, antagonist, biological control, peach.

4.1. INTRODUÇÃO

Monilinia fructicola (Wint.) Honey é o patógeno causador da podridão parda na cultura do pessegueiro *Prunus persicae* (L.) Batsch sendo responsável por grandes prejuízos em virtude dos danos que causa em flores, ramos e frutos na pré e pós-colheita (OGAWA, 1995). Em sistemas orgânicos de produção, a redução de inóculo inicial na área de produção através de métodos e produtos autorizados, é fundamental para o manejo da doença durante todo o ciclo da cultura (BURG e MAYER, 2001).

A incidência de podridão parda em pessegueiro tem estreita relação com as fases da cultura e variações climáticas (BYRDE e WILLETTS, 1977; BLEICHER, 1997; LUO e MICHAILIDES, 2003). O conhecimento da evolução da doença no local da produção comparado aos fatores climáticos existentes facilita a adoção de práticas de controle da doença.

As restrições ao uso de químicos ao controle de doenças fundamenta-se pela necessidade de evitar resistência de patógenos, de oferta de produtos isentos de resíduos tóxicos aos consumidores e à preservação ambiental. Neste sentido, é indispensável o uso de métodos e estratégias de controle de doenças que garantam uma produção de qualidade através de produtos menos agressivos ao meio ambiente (ABREU JUNIOR, 1998; IPPOLITO et al., 2000). Sendo assim, um significativo incremento ao uso de produtos alternativos e microorganismos antagonistas para controle biológicos tem ocorrido nos últimos anos (WISNIEWSKI e WILSON, 1992; OOIJKAS et al., 1998; LUO e MICHAILIDES, 2003; MAY DE MIO et al., 2004).

Estudos epidemiológicos revelaram que as fases de maior expressão da doença são o final da formação do caroço, final do crescimento do embrião e uma semana antes da colheita (LUO e MICHAILIDES, 2003). O conhecimento das fases de maior susceptibilidade da planta ao patógeno permite o estabelecimento de estratégias antecipadas de controle as quais irão contribuir para a minimização de prejuízos nas fases finais da cultura e na pós-colheita (NORTHOVER e CERKAUSKAS, 1994; MONDINO et al., 1997; LUO e MICHAILIDES, 2003).

Alguns produtos opcionais podem ser utilizados pelos produtores em sistemas orgânicos como a calda sulfocálcica, sulfato de cobre, enxofre coloidal, iodo e indutores de resistência. O controle biológico é mais uma estratégia que atende as necessidades de substituição dos agrotóxicos tradicionalmente utilizados para o controle de doenças, inclusive da podridão parda do pessegueiro. No entanto, o uso destes produtos somente não tem sido suficiente para o controle da doença em campo (GALLI, 1980; FORTES, 1993; PINHEIRO, 1996; ABREU JUNIOR, 1998; CHABOUSSOU, 1999; BURG e MAYER, 2001).

Para o controle biológico de *M. fructicola*, vários antagonistas foram testado em campo e *in vitro*. Os microorganismos *Aureobasidium pullulans*, (de Bary) G, Arnaud, *Epicoccum purpuracens* (Link) e *Gliocladium roseum* Bainier foram testados sobre flores de cerejeiras infectadas com *M. fructicola* com bons resultados (WITTING et al., 1997). O fungo *Penicillium frequentans* Westling foi aplicado em suspensão na pré-colheita para controle da *Monilinia laxa* (Aderh. e Ruhland) Honey em pêssegos na Espanha (PASCUAL et al., 2000). Também durante a floração e pré-colheita, LARENA et al. (2005) utilizaram *Epicoccum nigrum* Link, em pomares na Espanha, Itália e França, obtendo até 54 % de controle da *M. laxa* contra 84 % de incidência na testemunha. SCHENA et al. (2003) testaram *A. pullulans* (isolado 547) obtendo 47 % de redução de podridão em cerejeiras na pré-colheita.

No Brasil, o antagonista *Trichothecium roseum* (isolado UFPR F4) foi testado em pomares de pêssego no Estado do Paraná, demonstrando controle da *M. fructicola* em flores, frutos em desenvolvimento e em pós-colheita, obtendo até 52,5 % de controle na colheita quando aplicado sozinho e de 80,2 % quando associado a captan + fosfitos em relação à testemunha (MOREIRA, 2005). O antagonista *T. roseum* também foi testado nos Estados Unidos sobre pêssegos e nectarinas *Prunus persica* (L.) Batsch var. *nucipersica*, (HONG E MICHAILIDES, 1997), na cultura do feijão para controle do mofo branco (HUANG et al., 2000), em viticultura para o controle de *Botrytis cinerea* Pers. (SESAN et al., 2002) e de *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm (LLARIA PERTOT et al., 2006) e também na cultura da soja para controle de *Phakopsora pachyrhizi* Syd, e P. Syd., tendo inibido em 90 % a germinação dos ureodósporos ([SANGIT](#) e JHA, 2002).

Denota-se uma carência de informações com controle biológico no Brasil e no mundo para produção orgânica no controle de *M. fructicola*, bem como as interações climáticas com a incidência da doença nas diversas fases da cultura.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos do antagonista *T. roseum*, os fosfitos de cálcio e boro (CaB), de potássio (K) e a calda sulfocálcica aplicados durante a floração e em pré-colheita para controle da *M. fructicola* nas cultivares de pessegueiro Granada e Chimarrita cultivadas em sistema orgânico correlacionado a incidência da doença com os fatores climáticas e as fases da cultura.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos anos de 2005 e 2006 em pomar de pessegueiro conduzido em sistema orgânico nas cultivares Granada e Chimarrita. As plantas possuíam oito e nove anos de idade, sendo conduzidas em forma de taça e espaçamento de seis metros e meio entre linhas e cinco metros entre plantas, localizado no município de Rio do

Sul, SC, Brasil, coordenadas geográficas com Latitude: 27° 11' 07" S e Longitude: 49° 39' 39" W.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados constituídos de uma planta por parcela para cada tratamento, com cinco repetições na cultivar Granada e seis na Chimarrita. Todas as plantas estavam dispostas em uma única linha para cada cultivar e separadas entre elas e nas laterais com outras cultivares.

As pulverizações foram realizadas durante as fases de floração e pré-colheita, com pulverizador costal (jacto com bico leque) com capacidade para 20 L, sendo utilizado em média de 3 L/planta. Para evitar a deriva entre os tratamentos as plantas eram isoladas com cortina plástica durante as pulverizações. A descrição dos tratamentos, doses e datas das aplicações constam da Tabela 4.1. A cultivar Granada recebeu os tratamentos somente no período de floração considerando a falta de frutificação por problemas climáticos ocorridos nos dois anos do experimento. Em 2005 as pulverizações na cultivar Chimarrita foram realizadas em pré colheita e interrompidas uma semana antes da colheita. Em 2006 uma última pulverização com o antagonista *T. roseum* foi realizada um dia antes do início da colheita.

4.2.1. Incidência de *M. fructicola* em flores

Foram realizadas quatro coletas anuais de 40 flores totalmente abertas (10 por pernada), em cada parcela, sendo uma coleta feita um dia antes e outra um dia após as pulverizações, as quais ocorreram no início e em plena floração, num total de 8.800 flores avaliadas em cada ano. As flores foram acomodadas em caixas de plástico (11 x 11 x 3,5 cm) tipo gerbox®, com vinte flores por caixa, forradas com papel filtro esterilizado e umedecido em água estéril, que permaneceram incubadas a 25 °C, no escuro por três dias e após, a 4 °C por mais três dias (adaptado de LUO et al., 2001). As avaliações foram feitas com auxílio de microscópio estereoscópico observando-se a presença de sinais do patógeno nas estruturas florais.

Tabela 4.1 – Dosagem dos produtos e datas das pulverizações para controle de *M. fructicola* em pomar de pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.

Tratamentos*	Dose/100 L água	Datas das Pulverizações			
		Cv. Granada ¹		Cv. Chimarrita	
		2005	2006	2005	2006
Calda Sulfocálcica	300 mL	24/8, 3 e 10/9	29/7, 8 e 14/8	20/8, 3 e 10/9,	26/7, 8 e 14/8
	400 mL			10,17 e 24/11, 3/12	2, 9,16 e 23/10
		(3)	(3)	(7)	(7)
Fosfito de Cálcio e Boro	300 mL	24/8, 3 e 10/9	29/7, 8 e 14/8	20/8 e 3 e 10/9	26/7, 8 e 14/8
Fosfito de Potássio	200 mL			10,17 e 24/11, 3/12	2,9,16 e 23/10
<i>Trichothecium roseum</i>	10 ⁶ con/mL	24/8, 3 e 10/9	29/7, 8 e 14/8	20/8, 3 e 10/9	26/7, 8 e 14/8,
				10,17 e 24/11, 3/12	2,9,16 e 23/10, 8/11
		(3)	(3)	(14) ¹	(15) ¹
<i>Trichothecium roseum</i>	10 ⁶ con/mL	24/8, 3 e 10/9	29/7, 8 e 14/8	20/8, 3 e 10/9,	26/7, 8 e 14/8,
				10,17 e 24/11, 3/12	2,9,16 e 23/10, 8/11
		(3)	(3)	(7)	(8)
Fosfito de Cálcio e Boro	300 mL	24/8, 3 e 10/9	29/7, 8 e 14/8	20/8, 3 e 10/9	26/7, 8 e 14/8
Fosfito de Potássio	200 mL			10,17 e 24/11, 3/12	2,9,16 e 23/10
		(3)	(3)	(7)	(7)
Testemunha	Não tratado				

* Calda Sulfocálcica (28 °Bé); Fosfito de Cálcio e Boro (equivalente a 10,7 % P₂O₅ + 3,89 % Ca + 0,51 % B); Fosfito de Potássio (equivalente a 40 % P₂O₅ + 20 % K₂O). O número em parênteses indica o total de pulverizações por tratamento.¹ Fosfitos e *T. roseum* aplicados separadamente. con. = conídios. (1) Pulverizações realizadas somente na fase de floração.

4.2.2. Incidência de *M. fructicola* em frutos verdes

A avaliação de infecção latente de *M. fructicola* em frutos verdes foi realizada apenas na cultivar Chimarrita, uma vez que, a cultivar Granada não produziu frutos necessários para estas avaliações. Os frutos foram coletados aleatoriamente em todas as plantas tendo sido realizadas duas coletas (13/10 e 03/11) de 15 frutos e uma (01/12) de 10 frutos no ano de 2005 e duas coletas (08/09 e 04/10) de 15 frutos por avaliação em 2006. Foram avaliados

um total de 2.100 frutos nos dois anos do experimento. Após a coleta, os frutos foram imersos, em solução de etanol 70 %, hipoclorito de sódio 2 %, paraquat® 2 % e posteriormente lavados em água estéril, todos pelo tempo de 1 minuto em cada solução, conforme metodologia adaptada de NORTHOVER e CERKAUSKAS (1994). Em seguida foram colocados em bandejas de PVC desinfetadas e embaladas em sacos plástico contendo papel toalha umedecido com água estéril, e incubados a 25 °C por sete dias. Avaliou-se a presença de infecção aos sete dias após a incubação das amostras.

4.2.3. Incidência de *M. fructicola* durante a colheita e pós-colheita.

A incidência da doença durante o período da colheita foi determinada, pelo número de frutos que apresentaram sintomas da doença em campo calculando-se a proporção da mesma em relação ao total de frutos colhidos nas diferentes datas de colheita. Para as avaliações de pós-colheita foram coletados aleatoriamente 20 frutos de cada planta por ano em duas sub-amostras de 10 frutos, todos colhidos nas partes internas de cada planta. Uma amostra de cinco frutos de cada parcela e cultivar foi imersa em solução de hipoclorito de sódio 0,5 % por um minuto e em seguida os frutos foram lavados em água estéril. Os demais frutos não sofreram nenhuma desinfestação. Todos os frutos foram acomodados sobre mesas forradas com papel toalha à temperatura ambiente, e avaliados por incidência no 5º dia após a colheita. Nesta fase foram avaliados 1.200 frutos nos dois anos do experimento para a cultivar Chimarrita.

4.2.4. Obtenção e preparo do inóculo de *Trichothecium roseum*

O isolado do fungo *T. roseum* (isolado UFPR-F4) foi obtido junto ao Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças da Universidade Federal do Paraná. É um fungo ectofítico isolado por MOREIRA (1999). Este isolado passou por vários testes laboratoriais (MOREIRA, 1999) e também de eficiência de controle da doença pós-colheita (MOREIRA et al., 2002) e em campo (MOREIRA, 2005). A multiplicação e preparo do inóculo seguiu a metodologia adotada por MOREIRA (2005).

A calda para pulverização foi preparada dissolvendo-se o inóculo do antagonista em água de torneira até atingir uma concentração de 10^6 conídios/mL, a qual era determinada com auxílio de câmara de Neubauer. A viabilidade dos esporos era comparada através do preparo de três placas Petri contendo meio Ágar/água (AA) às quais eram adicionados 0,1 mL da suspensão para pulverização e incubadas a 25 °C por 12 horas no escuro. Em seguida eram contados aleatoriamente os 100 primeiros esporos germinados de cada placa considerando-se viáveis aqueles em que o pró-micélio era 1,5 vezes o diâmetro do esporo.

4.2.5. Informações climatológicas

Os dados de precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e temperatura foram coletados diariamente, através de um pluviômetro (a céu aberto) e dois termômetros (um normal e outro digital) colocados no interior de um abrigo meteorológico instalado na área do pomar durante todo o período do experimento. Os dados originais foram representados graficamente compreendendo além do período de floração, os dez dias antes e após este período. Para correlacionar os dados climáticos com a incidência da doença calculou-se a média dos dados para os dez dias que antecederam a coleta das amostras de flores, frutos em desenvolvimento e frutos na colheita.

4.2.6. Análise estatística

Os dados de incidência foram transformados em proporção de doença e posteriormente submetidos à análise estatística, sendo inicialmente transformados em $\ln x$ e posteriormente quando necessário em $\sqrt{x} + 1$ pelo programa estatístico SAS[®] e em caso de significância aplicou-se o teste de Duncan a 5 %. Os dados de proporção nas diferentes fases foram plotados em curva de progresso da doença e a partir disto foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), pelo método da integralização trapezoidal de BERGER (1988).

4.3. RESULTADOS

Observando-se o desenvolvimento da doença nas diferentes fases da cultura dopessegueiro (Figura 4.1) verificou-se na floração elevada incidência antes das pulverizações nos dois anos do experimento com maior intensidade em 2006. Após as pulverizações ocorreu redução da doença em todos os tratamentos, com crescimento da incidência na testemunha, o que indica um efeito positivo dos tratamentos. Na fase de desenvolvimento dos frutos a incidência foi menor que 10 % em todos os tratamentos nos dois anos avaliados. Na fase de colheita e pós-colheita ocorreu a maior expressão da doença apresentando 49 a 58 % de podridão parda, em 2005 e 48 a 92 % em 2006. Nestas fases a incidência da doença foi regular para todos os tratamentos em 2005 e maior na testemunha em 2006 em relação aos demais tratamentos.

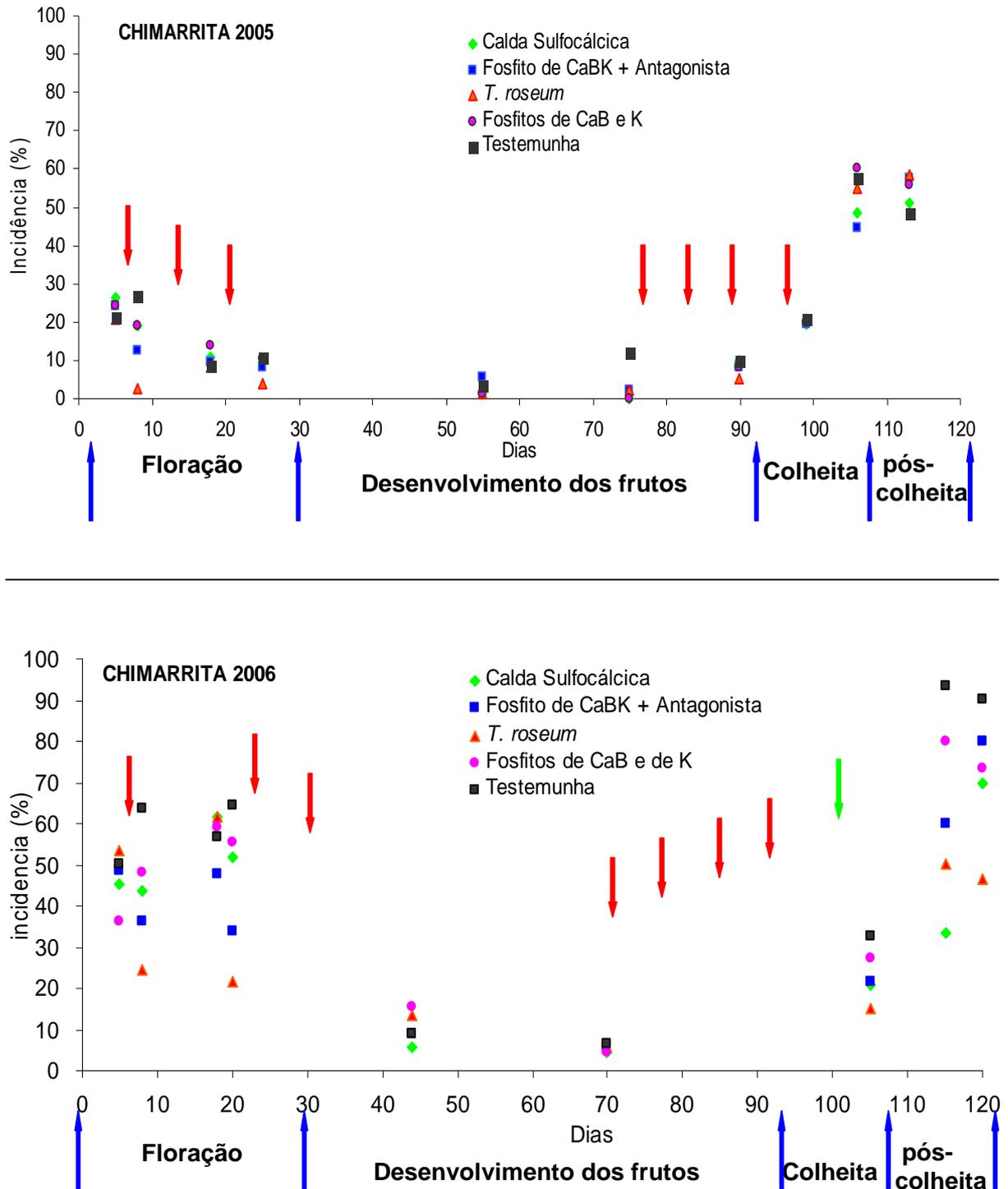


Figura. 4.1 – Incidência de podridão parda em pessegueiro, por tratamento, cv. Chimarrita, para as fases de floração, desenvolvimento dos frutos, colheita e pós-colheita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006. ↑ = Fases da cultura, ↓ = Pulverizações ↓ = Pulverização adicional com *Trichothecium roseum*.

Durante a fase de floração ocorreu elevada incidência da podridão parda antes das pulverizações nos dois anos do experimento apresentando em média 20 % de incidência em 2005 na cultivar Granada e de 44 % em 2006. Na cultivar Chimarrita, a incidência média foi de 17 % em 2005 e de 52 % em 2006. Após as pulverizações houve redução significativa na incidência para todos os tratamentos comparados com a testemunha (Tabela 4.2). Nesta fase, a calda sulfocálcica foi eficiente na cultivar Granada em 2005 e 2006 e na cultivar Chimarrita em 2006 com reduções de 25 a 80 %. Os fosfitos associados ao *T. roseum* foram eficientes nos dois anos e nas duas cultivares apresentando reduções de 45 a 90 % de incidência de podridão parda. O tratamento com o antagonista *T. roseum* foi eficiente tendo reduzido a doença em 59 a 95 % considerando os dois anos do experimento e as duas cultivares avaliadas. O tratamento com fosfitos sozinho foi eficiente em 2005 na cultivar Granada e em 2006 na Chimarrita reduzindo a doença em 60 e 18,7 % respectivamente em relação à testemunha.

Tabela 4.2 – Proporção média de incidência de podridão parda em flores de pessegueiro cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.

Tratamentos	Cultivar Granada				Cultivar Chimarrita			
	2005		2006		2005		2006	
	AAP 24/8	APP 10/09	AAP 29/07	APP 09/08	AAP 20/08	APP 10/09	AAP 26/07	APP 09/08
Calda Sulfocálcica	0,12 ns	0,04 bc	0,40 ns	0,24 bc	0,18 ns	0,14 ab	0,54 ns	0,48 b
Fosfitos CaB e K + <i>T.r</i>	0,18	0,02 c	0,43	0,19 bc	0,17	0,10 b	0,48	0,35 c
<i>T. roseum</i>	0,21	0,01 c	0,46	0,16 c	0,15	0,03 c	0,58	0,23 d
Fosfitos CaB e K	0,23	0,08 b	0,52	0,30 ab	0,19	0,15 ab	0,48	0,52 b
Testemunha	0,25	0,20 a	0,39	0,39 a	0,15	0,19 a	0,53	0,64 a
Médias	0,20 A		0,44 A		0,17 A		0,52 A	
Coef. Variação (%)	3,42	45,41	3,46	3,51	3,12	2,50	18,38	14,65

AAP = Avaliação antes da pulverização; APP = Avaliação após a pulverização. *T.r* = *Trichothecium roseum*. CaB = Fosfitos de Cálcio e Boro (equivalente a 10,7 % P₂O₅ + 3,89 % Ca + 0,51 % B). K = Fosfito de Potássio (equivalente a 40 % P₂O₅ + 20 % K₂O). Dados originais. As médias seguidas verticalmente pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade de erro. Letras em maiúsculo indicam diferenças pelo teste (t) a 5 % e comparam a susceptibilidade entre as cultivares para os dois anos de avaliação antes da aplicação dos tratamentos. Dados transformados em Ln x.

As avaliações durante a pré-colheita, colheita e pós-colheita, referem-se somente ao cultivar Chimarrita, uma vez que a cultivar Granada não produziu frutos suficientes para as análises. As avaliações da infecção latente durante a fase de desenvolvimento dos frutos, no ano de 2005 demonstraram eficiência da calda sulfocálcica com 50 % de redução da doença, do antagonista *T. roseum* e dos fosfitos de CaB e de K ambos com reduções de 62,5 % de controle da doença em relação à testemunha. Para esta fase em 2006, nenhum tratamento apresentou resultados significativos para o controle da doença (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 - Proporção média de incidência de podridão parda em frutos verdes, colheita e pós-colheita, frutos colhidos e área abaixo da curva de progresso da doença, cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.

Tratamentos	2005					2006				
	Frutos verdes	Colheita*	Pós-colheita	Frutos colhidos	AACPD	Frutos Verdes	Colheita*	Pós-colheita	Frutos colhidos	AACPD
Calda Sulfocálcica	0,04 b	0,20 ns	0,50 ns	197 ns	10,87 b	0,05 ns	0,21 bc	0,52 c	204 a	21,12 bc
Fosfitos CaB, K e <i>T. roseum</i>	0,05 ab	0,20	0,51	164	19,98 ab	0,07	0,22 bc	0,70 b	288 a	18,08 cd
<i>T. roseum</i>	0,03 b	0,21	0,57	175	6,74 c	0,09	0,15 c	0,48 c	149 b	14,65 d
Fosfitos CaB e K	0,03 b	0,20	0,58	150	11,09 ab	0,10	0,27 ab	0,77 b	225 a	26,21 ab
Testemunha	0,08 a	0,21	0,53	146	21,42 a	0,08	0,33 a	0,92 a	232 a	29,12 a
CV (%)	1,48	2,99	27,22	8,97	16,00	3,03	2,95	2,93	6,30	6,86

CaB, K = Fosfitos de Cálcio, Boro e Potássio (equivalente a CaB= 10,7 % P₂O₅ + 3,89 % Ca + 0,51 % B, e K = a 40 % P₂O₅ + 20 % K₂O). Dados originais. As médias seguidas verticalmente pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Duncan 5 % de probabilidade de erro. *Aplicação em pré-colheita, 7 dias antes do início da colheita em 2005 e um dia em 2006. AACPD = Área abaixo da curva de progresso da doença considerando os dados da floração até a pós-colheita dos frutos. Dados transformados em Ln x.

Na fase de colheita e pós-colheita, nenhum tratamento foi eficiente para o ano de 2005. Em 2006, os tratamentos com calda sulfocálcica, fosfitos associados ao *T. roseum* e o antagonista *T. roseum* sozinho foram eficientes, tendo reduzido a incidência da doença em 36,36, 33,33 e 54,54 %, respectivamente em relação a testemunha. Neste mesmo ano as avaliações em pós-colheita revelaram efeito significativo com reduções de 43 % para calda

sulfocálcica, 24 % para os fosfitos associados ao *T. roseum* e de 48 % para o tratamento com *T. roseum*, em relação à testemunha.

Observando-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), (Tabela 4.3) houve reduções significativas para o antagonista *T. roseum* e a calda sulfocálcica nos dois anos do experimento e o tratamento com fosfitos associados ao *T. roseum* somente em 2006 em relação à testemunha.

O número de frutos nas plantas tratadas com *T. roseum* foi significativamente inferior aos demais tratamentos apenas no ano de 2006.

4.4. DISCUSSÃO

As duas cultivares apresentaram uma alta proporção de incidência de *M. fructicola* durante a fase de floração, principalmente em 2006 (Tabela 4.2) indicando o alto potencial do inóculo na área. A incidência da doença nessa fase não diferiu entre as cultivares pelo teste “t”, embora haja informações da EMBRAPA Uva e Vinho de Bento Gonçalves de que a cultivar Granada é menos suscetível à podridão parda que a Chimarrita (HOFFMANN et al., 2003). No entanto, maior suscetibilidade foi observada na cultivar Granada para a fase de floração e menor na colheita em relação à Chimarrita em trabalho realizado no mesmo local do experimento em 2004 (NEGRI, Cap. I).

A elevada taxa de incidência de podridão parda durante a fase de floração também foi verificada por LUO et al. (2001) que obtiveram 40 % de incidência na plena floração contra 10 % na queda de sépalas. Incidência de 38 % de podridão parda em flores também foi observada em pomares comerciais no Estado do Paraná (MOREIRA, 2005). Estudos feitos por MAY DE MIO et al. (2004) confirmaram que esta fase e a pré-colheita são as de maior suscetibilidade. Desta forma, torna-se importante a adoção de métodos de controle da doença durante a fase de floração com a finalidade de reduzir abortamento de flores e a infecção latente, uma vez que estas têm início na flor quando o patógeno consegue penetrar no interior do fruto, indo manifestar-se somente durante a maturação.

O conhecimento das fases de maior susceptibilidade ao patógeno e sua influência sobre as demais fases permite a adoção de estratégias de controle antecipadas, as quais irão contribuir na minimização de prejuízos nas fases finais da cultura e na pós-colheita (NORTHOVER e CERKAUSKAS, 1994; MONDINO et al., 1997; LUO e MICHAILIDES, 2003). Pulverização para o controle da doença na floração, queda das pétalas e separação do cálice são recomendadas por vários autores (RASEIRA et al., 1990; ANDRADE, 1995; MONDIN e HICKEL, 1995; BLEICHER, 1997; FORTES e MARTINS, 1998).

A maior incidência de *M. fructicola* durante a floração nas duas cultivares no ciclo 2006 em relação ao ano anterior pode ser explicada pelo fato de que em 2006 o início da floração ocorreu 22 dias antes do previsto em relação ao ano anterior (Figura 4.2), em período mais chuvoso e ainda pela maior variação da temperatura (Tabela 4.4), fatores estes, que podem ter contribuído para uma maior pressão da doença em função da possibilidade de um inóculo inicial maior.

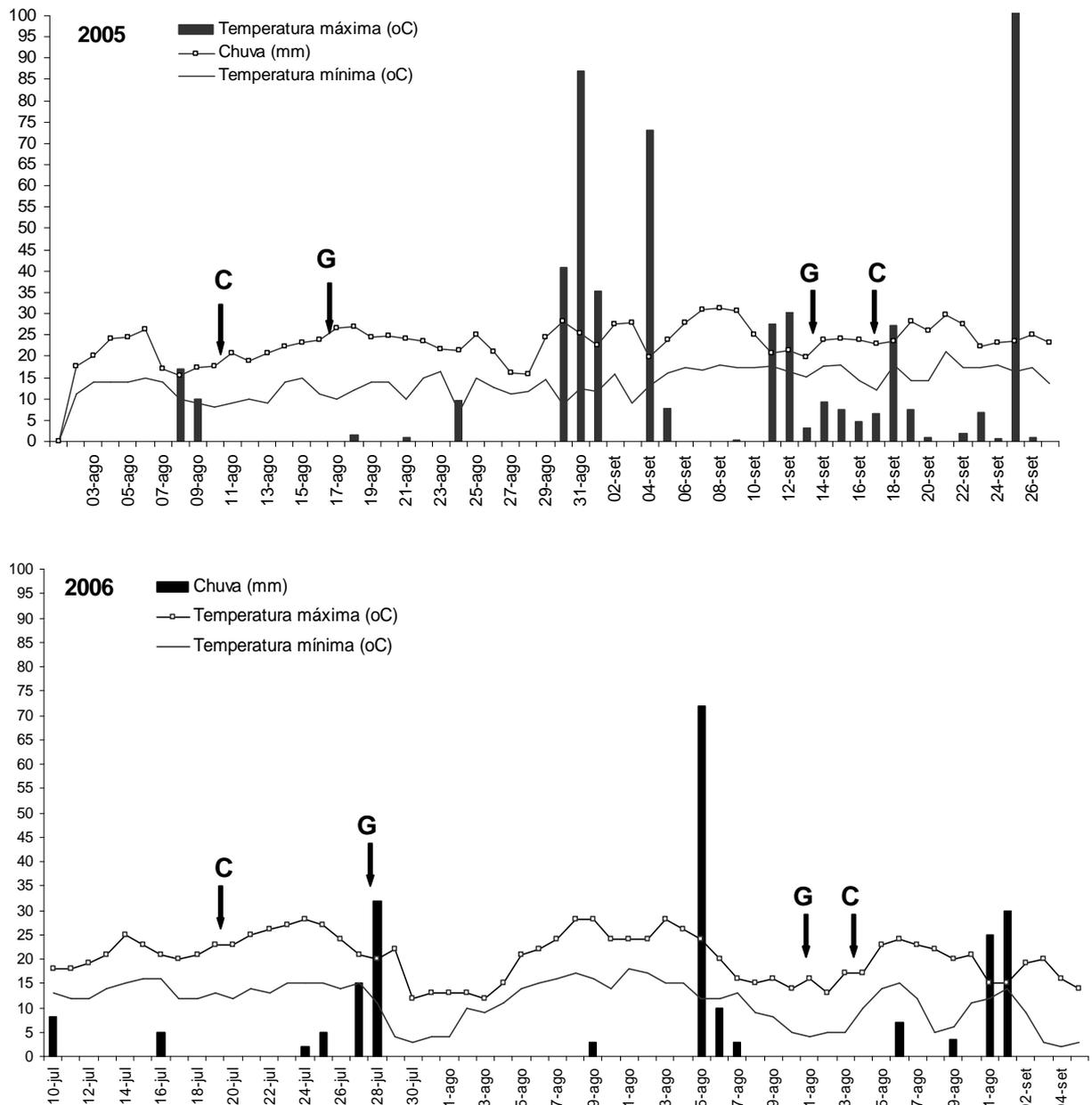


Figura 4.2 – Temperaturas máximas e mínimas e precipitação pluviométrica durante a floração do pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.

C = Início e final de floração, cv. Chimarrita. **G** = Início e final de floração, cv. Granada.

Tabela 4.4 – Médias de temperatura, umidade relativa do ar e chuva, dez dias antes das coletas de flores para análise de incidência de podridão parda em flores, infecção latente em frutos verdes e colheita, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2005 e 2006.

Cultivar	Fases	2005			2006		
		Temp. °C	UR %	Chuva (mm)	Temp. °C	UR %	Chuva (mm)
Granada	Flor 1 ^a coleta	24,70	81,13	0,23	24,30	60,60	13,50
Granada	Flor 2 ^a coleta	21,99	76,96	12,93	17,30	68,60	0,00
Chimarrita	Flor 1 ^a coleta	22,20	80,50	0,14	24,10	59,90	3,50
Chimarrita	Flor 2 ^a coleta	21,37	79,03	20,34	15,50	71,30	21,67
Chimarrita	Frutos 1 ^a coleta	19,24	85,73	11,55	23,90	82,60	7,67
Chimarrita	Frutos 2 ^a coleta	20,09	79,45	7,26	26,90	73,50	2,00
Chimarrita	Colheita	28,30	68,00	1,42	26,90	77,50	35,00

As diferenças de incidência de podridão parda na floração de um ano para outro nas duas cultivares indicam influência da temperatura a qual se manteve mais instável em 2005 ficando a média dos dez dias que antecederam a primeira coleta de flores em 24,7 °C e de 21,9 °C na segunda coleta para a cultivar Granada, e de 22,2 °C e 21,3 °C para a cultivar Chimarrita (Tabela 4.4). Em 2006, quando a incidência foi mais elevada houve variação brusca de temperatura entre as duas coletas de flores, com 24,3 °C na primeira coleta e 17,3 °C na segunda para a cultivar Granada, e de 24,1 °C e 15,5 °C para a cultivar Chimarrita (Tabela 4.4).

Temperaturas mais elevadas no início da floração podem ter contribuído para a colonização do patógeno, enquanto que a temperatura mais baixa ao final contribuiu para uma maior esporulação do mesmo. Neste sentido, LUO et al. (2001) verificaram que a incubação de flores por três dias a 25 °C e mais três dias a 4 °C, favoreceu a esporulação de *M. fructicola*. Outros trabalhos com *M. fructicola* e *M. laxa*, confirmaram que a umidade e temperatura são fatores fundamentais para o desenvolvimento desses patógenos (BYRDE e WILLETTS, 1977; BLEICHER, 1997; MOREIRA, 2005;). Em trabalho com frutos de pêssegos feridos e não feridos MOREIRA et al. (2002) verificaram 7,8 % de incidência de *M. fructicola* a menos em testemunhas úmidas em relação à testemunha seca, o que confirma, a influência da umidade no favorecimento da doença.

Os baixos níveis de incidência de podridão parda durante a fase de desenvolvimento dos frutos nos dois anos do experimento e para todos os tratamentos (Tabela 4.3), podem estar relacionados com os efeitos positivos das pulverizações feitas na fase de floração e ainda pelo fato de flores contaminadas abortarem e não produzirem frutos portadores destas infecções o que justifica também a baixa incidência na testemunha (RASEIRA e QUEZADA, 2003; MAY DE MIO et al., 2004). No entanto, a ocorrência de infecções latentes é possível durante a fase de desenvolvimento dos frutos, pela entrada direta do patógeno ou proveniente de flores contaminadas que mesmo assim produzem frutos (BLEICHER, 1997). Estudo histológico de infecções latentes detectadas em frutos de damasco infectados por *M. fructicola* sugeriu que houve penetração de micélio pelos estômatos dos frutos (ZEHR, 1982). Em trabalhos de avaliação de infecções latentes, MONDINO et al. (1997) verificaram 49,5 % de incidência em pêssegos de pomar sem controle da doença. MOREIRA (2005) avaliou a ocorrência de até 40 % dessas infecções em diversos cultivares de ameixas *Prunus salicina* Lindley, e pêssegos. EMERY et al. (2000) encontraram até 22 % de infecção latente em pêssegos provenientes de cinco pomares. Estes dados estão de acordo com os encontrados por NEGRI (Cap. I) que verificou de 19 a 30 % de incidência de *M. fructicola* em frutos verdes em duas cultivares de pessegueiro conduzido em sistema orgânico em 2004 no Estado de Santa Catarina.

O aumento da incidência de podridão parda na colheita e pós-colheita dos frutos observados pela curva de progresso da doença (Figura 4.1), confirmam observações de MOREIRA (1999) que verificou aumento de infecções na época próxima da maturação. Os fatores como a suspensão dos tratamentos uma semana antes da colheita no ano de 2005, a ativação da infecção latente em função da senescência e maturação dos frutos (CRUICKSHANK e WADE, 1992; OGAWA et al., 1995), os danos mecânicos causados pelo manuseio dos frutos nestas fases, injúrias provocadas por insetos (GUTIERREZ, 2005) e condições climáticas ideais ao desenvolvimento do patógeno (LUO e MICHAILIDES, 2003) são razões que justificam o crescimento da doença nestas fases, experimentos futuros com a intensificação de tratamentos uma semana antes da colheita com produtos não tóxicos, especialmente microorganismos biológicos, na tentativa de reduzir a doença na colheita e pós-colheita são recomendados.

Neste sentido e considerando os dados de incidência de podridão parda durante a colheita em 2005 neste trabalho, decidiu-se aplicar o antagonista *T. roseum* um dia antes da colheita em 2006. Neste ano, mesmo em condições climáticas de umidade relativa e chuvas mais favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, observado na testemunha (Tabela 4.4), o tratamento realizado com o antagonista reduziu a podridão parda em 54,5 % na colheita e 47,8 % na pós-colheita. A testemunha apresentou 33 % de incidência na colheita e 92 % na

pós-colheita (Tabela 4.3). Estes dados comprovam que o método de controle biológico pode ser eficiente mesmo na colheita desde que, os tratamentos sejam continuados durante esta fase. Espera-se que em situações menos favoráveis ao patógeno com a intensificação nas aplicações, o controle seja ainda melhor. O uso de alguns agentes antagonistas pode ser uma estratégia efetiva no controle de doenças em pós-colheita, uma vez que produtos químicos não devem ser recomendados para esta fase e pela possibilidade de aplicação diretamente sobre o alvo em função dos ambientes serem controlados durante o armazenamento dos frutos (WISNIEWSKI e WILSON, 1992; JANISIEWICZ et al., 1994; VALDEBENITO-SANHUEZA, 1998).

O uso de um antagonista na fase da colheita poderá além de contribuir para o controle da doença neste período, auxiliar na redução do inóculo na pós-colheita. A permanência do antagonista pós-colheita exercendo ação sobre múmias remanescentes nas plantas, frutos caídos sobre o solo e cancrios de ramos causados pelo patógeno poderá contribuir para redução do inóculo inicial do mesmo para os anos seguintes.

O bom desempenho dos fosfitos associados ao *T. roseum* revela a melhor eficiência do antagonista uma vez que os resultados deste aplicado isoladamente foram superiores aos fosfitos não associados ao fungo nos dois cultivares e nos dois anos do experimento. O menor desempenho dos fosfitos na fase de floração pode ser compreendido pelo fato dos mesmos em função da baixa concentração utilizada demandarem mais tempo para ação indireta sobre o patógeno, necessitando da ativação do metabolismo secundário da planta para a produção de substâncias de defesa como as fitoalexinas (JACKSON et al., 2000) e outros fenóis (NOJOSA et al., 2005). O uso de fosfitos para controle da *M. fructicola* em pessegueiro foi confirmado em trabalho desenvolvido por MOREIRA (2005) a qual obteve resultados significativos quando associou os fosfitos com o fungicida captan® e o antagonista *T. roseum* obtendo reduções da doença de até 88,2 % em frutos em desenvolvimento e de 80,2 % na colheita.

A falta de frutificação da cultivar Granada e o baixo número de frutos na cultivar Chimarrita nos dois anos do experimento pode ser explicada por condições climáticas adversas ocorridas no período da floração provocando abortamento das flores. A cultivar Chimarrita apresentou floração desuniforme nos dois anos de experimento e a cultivar Granada floração uniforme sendo que, em 2005 ocorreu um período com excesso de chuva em plena floração (Figura 4.2). Em 2006, no início e final da floração ocorreram temperaturas muito baixas com geadas na área do pomar (Figura 4.2). Estes fatores impediram uma avaliação mais consistente da resposta das plantas aos tratamentos na floração e pré-colheita em relação ao número de frutos produzidos na cultivar Granada. Os dados colhidos na cultivar Chimarrita demonstraram diferença significativa no número de

frutos das plantas tratadas com *T. roseum*, porém o mesmo não ocorreu em 2005, onde o número de frutos das plantas tratadas com o antagonista foi superior à testemunha e ao tratamento com fosfitos. Estes dados colocam em dúvida a possibilidade de ação abortiva de flores pelo antagonista *T. roseum* havendo necessidade de novos experimentos com avaliação específica.

O uso da calda sulfocálcica durante a floração e a pré-colheita foi uma tentativa de controle alternativo da doença, uma vez que sua ação antifúngica em diversas culturas é conhecida (RASEIRA e QUEZADA, 2003). Sua indicação para o controle da podridão parda em pessegueiro é basicamente como erradicante e aplicada em períodos de dormência vegetativa (ABREU JUNIOR, 1998; GARRIDO e SÔNEGO, 2003; RASEIRA e QUEZADA, 2003). Cabe salientar que para o período de repouso vegetativo utilizando a calda sulfocálcica na proporção de 10 %, enquanto que, neste experimento foi utilizado uma concentração de 0,3 % para os períodos de floração e de 0,4 % para a pré-colheita, não tendo sido observado nenhum sintoma de fitotoxidez. Os resultados positivos obtidos no presente trabalho indicaram que a calda sulfocálcica apresenta potencial para controle da podridão parda nestes períodos, como alternativa de baixo custo aos produtores de pêssego em sistema orgânico, sugerindo que novos trabalhos avaliando novas dosagens e épocas de aplicação inclusive na pós-colheita, sejam futuramente desenvolvidos.

A eficiência do controlador biológico *T. roseum* sobre a *M. fructicola* pode ser comparada com resultados feitos no Brasil com dois isolados de *Trichothecium sp*, os quais proporcionaram um controle superior a 85 % em infecções latentes em frutos de pêssego inoculados com o patógeno (MOREIRA, 1999). O isolado *Trichothecium roseum* e fosfitos de Cálcio, Boro e de Potássio demonstraram controle de até 88 % da podridão parda em relação à testemunha sobre frutos de pêssego em pós-colheita (MOREIRA et al., 2002). Novos testes em campo utilizando *T. roseum* sozinho demonstraram reduções na incidência de podridão parda em 83 % em flores e 95 % em frutos verdes (MOREIRA, 2005).

Um outro trabalho desenvolvido no ano de 2004 em pomar de pessegueiro conduzido em sistema orgânico utilizando o mesmo antagonista sozinho promoveu uma redução de *M. fructicola* de até 72,7 % em flores e de 76,6 em frutos verdes, enquanto que quando associado a fosfitos de CaB e de K, as reduções chegaram a 65,2 % em flores e a 78,9 % em frutos verdes comparados com a testemunha (NEGRI, Cap. I). Desta forma, evidencia-se uma possibilidade de controle eficiente da podridão parda, através do uso do antagonista *T. roseum* aplicado isoladamente e associado com fosfitos sendo que, a intensificação das pulverizações nas fases mais críticas da doença para os próximos experimentos poderá contribuir para uma avaliação mais efetiva dos resultados.

Durante os dois anos do experimento, não foram observados quaisquer sintomas de colonização do antagonista *T. roseum* em campo e na pós-colheita, confirmando o observado por MOREIRA (2005). Estas informações são contrárias ao observado por HOG e MICHAILIDES (1997) os quais observaram colonização em frutos de pêssego e nectarinas provenientes de pomares comerciais na Califórnia e inoculados com *T. roseum*. Entretanto, a sobrevivência do antagonista após o ciclo da cultura foi observada pela colonização de múmias remanescentes sobre as plantas e mais intensivamente naquelas caídas ao chão. Estas observações, também foram feitas por MOREIRA (2005) em seus experimentos com o mesmo antagonista em pomares de pessegueiro conduzidos em sistema convencional no Estado do Paraná. Estas ocorrências são importantes por demonstrar a capacidade de sobrevivência do antagonista em períodos de repouso vegetativo das plantas, atuando na eliminação de inóculo do patógeno e permanecendo no local para o ciclo seguinte.

4.5. CONCLUSÕES

Todos os tratamentos, exceto os fosfitos de CaB e de K reduziram significativamente a área abaixo da curva de progresso da doença para as fases de desenvolvimento dos frutos, colheita e pós-colheita em relação à testemunha nos dois anos avaliados na cultivar Chimarrita.

Todos os tratamentos reduziram significativamente a doença na floração em 2005 na cultivar Granada e em 2006 na Chimarrita.

A aplicação do antagonista *T. roseum* até o início da colheita contribuiu para a redução da podridão parda durante a colheita e na pós-colheita sendo recomendado sua utilização para estas fases da cultura do pessegueiro.

REFERÊNCIAS

ABREU JUNIOR, H. **Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura**: Coletânea de Receitas. Campinas. EMOPU, 1998. 115p.

ANDRADE, E.R. **Doenças do pessegueiro e da ameixeira e seu controle no Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 1995. 52p. (EPAGRI. Boletim Técnico, 71).

BERGER, R.D. The analysis of the effects of control measures on the development of epidemics. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (Ed.). **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer-Verlang, 1988, p.137-151

BLEICHER, J. Doenças de rosáceas de caroço. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN F.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. ed. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ª ed. São Paulo: Ceres, 1997. p.621-627

BYRDE, R.J.W.; WILLETTS, H.J. Infection. In: **___The brown rot of fruit: their biology and control**. Oxford, Pergamon Press, 1977. p.87-110

BURG, I.C.; MAYER, P.H. **Alternativa ecológicas para prevenção e controle de pragas e doenças**. 15ª ed. GRAFIT, Francisco Beltrão, 2001. 153p.

CHABOUSSOU, F. **Plantas doentes pelo uso de agrotóxicos**. (A teoria da trofobiose) 2ª ed. LePM, Porto Alegre, 1999. 272p.

CRUICKSHANK, R.H.; WADE, G.C. The activation of latent infections of *Monilinia fructicola* on apricots by volatiles from the ripening fruit. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v.136, p.107-112, 1992.

EMERY, K.M.; MICHAILIDES, T.J.; SCHERM, H. Incidence of latent infection of immature peach fruit by *Monilinia fructicola* and relationship to brown rot in Georgia. **Plant Disease**, St. Paul, v.84, n.8, p.853-857, 2000.

FORTES, J.F. **Doenças do pessegueiro e ameixeira**. Etiologia e controle. EMBRAPA, Pelotas: 1993. 14p. (EMBRAPA - CPACT. Documentos, 02).

FORTES, J.F.; MARTINS, O.M. Sintomatologia e controle das principais doenças. In: Medeiros, C.A.B.; RASEIRA, M. do C.B. ed. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1998. p.243-264

GARRIDO, L.; SÔNEGO, O.R. **Sistema de produção de pêssego de mesa na região da serra gaúcha**. Sistema de produção 3, ISSN 1678-8761, EMBRAPA uva e vinho, Bento Gonçalves, 2003, disponível em:

<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessegueo/PessegodeMesaRegiaoSerpraGaucha/doenca.htm>. Acessado em 05/06/2006.

GALLI, F. **Manual de Fitopatologia – Doenças das plantas cultivadas**. Vol I, CERES, São Paulo: 1980. 373p.

GUTIERREZ, A.S.D. **Danos mecânicos pós-colheita em pêssego fresco**. Piracicaba, ESALQ. USP, 123p, 2005. (Tese Doutorado).

HOFFMANN, A. **Sistema de Produção 3**. EMBRAPA uva e vinho, Bento Gonçalves: Versão eletrônica, Jul. 2003. disponível em <http://scarlet.Cnpuv.embrapa.br>.

HONG, C.X.; MICHAELIDES, T.J. Prune, plum, and nectarine as hosts of *Trichothecium roseum* in California orchards. **Plant Disease**, St. Paul. v.81, p.112. 1997. (note).

HUANG, H.C.; BREMER, E.; HYNES, R.K.; ERICKSON, R.S. Foliar application of fungal biocontrol agents for the control of white mold of dry bean caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, Orlando, v.18, p.270–276, 2000.

IPPOLITO, A.; NIGRO, F. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Crop Protection**, Oxford, v.19. p.715-723, 2000.

JACKSON, T.J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; FORTE, G.E. St.J. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, St. Paul. v.49, p.147-154, 2000.

JANISIEWICZ, W.J.; PETERSON, D.L. e BORS, R. Control of storage decay of apples with *Sporobolomyces roseus*. **Plant Disease**, St. Paul. v.78, p.466-670, 1994.

LARENA, I.; TORRES, R.; De CAL, A.; LIÑÁN, M.; MELGAREJO, P.; DOMENICHINI P.; BELLINI, A.; MANDRIN, J.F.; LOCHOU, J.; de ERIBE, X. O.; USALL, J. Biological control of postharvest Brown rot (*Monilinia spp.*) of peaches by field applications of *Epicoccum nigrum*. **Biological Control**, Orlando, v.32, p.305-310, 2005.

LUO e MICHAELIDES, T.J. Threshold conditions that lead latent infection to prune fruit rot caused by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul. v.93, p.102-111, 2003.

LUO, Y.; MORGAN, D.P.; MICHAELIDES, T.J. Risk analysis of rot blossom blight of prune caused by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul, v.91, n.8, p.759-768, 2001.

MAY DE MIO, L.L.; GARRIDO, L.; UENO, B. Doenças de fruteiras de caroço. In: MONTEIRO, L.B.; MAY DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; MOTTA, A.C.; CUQUEL, F.L. ed. **Fruteiras de Caroço: uma visão ecológica**, UFPR, Curitiba: 2004. p.169-221

MONDINO, P.; PÉREZ, E.; GEPP, V.; GARCIA, S. Detección de infecciones latentes de *Monilinia sp.* sobre frutos verdes de duraznero. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.22, supl., p.287, 1997.

MONDIN, V.P.; HICKEL, E.R. Empresa de Pesquisa Agropecuária e de Extensão Rural de Santa Catarina. **Normas técnicas para o cultivo de pessegueiro em Santa Catarina**. Florianópolis, 1995. 38p. (EPAGRI. Sistemas de Produção, 23).

MOREIRA, L.M. **Alternativas de controle integrado da podridão parda do pessegueiro**. Tese de Doutorado. Curitiba, PR. Universidade Federal do Paraná, 2005.

MOREIRA, L.M. **Controle químico e biológico de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey e monitoramento de infecções latentes em frutos**. Dissertação de Mestrado. Curitiba, PR. Universidade Federal do Paraná, 1999.

MOREIRA, L.M.; MAY DE MIO, L.L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; LIMA, M.L.R.Z.C.; POSSAMAI, J.C. Controle em pós-Colheita de *Monilinia fructicola* em pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, p.395-398, 2002.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**: Piracicaba: FEALQ, 2005. p.139-153

NORTHOVER J. e CERKAUSKAS R.F. Detection and significance of symptomless latent infections of *Monilinia fructicola* in prums. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ottawa, v.16, p.30-36, 1994.

OGAWA, J.M.; ZEHR, E.I.; BIRD, G.W.; RITCHIE, D.F.; URIU, K; UYEMOTO, J.K. **Compendium of stone fruit diseases**, St. Paul: APS Press, 98p, 1995.

OOIJKAAS, L.P., TRAMPER, J., BUITELAAR, R.M., Biomass estimation of *Coniothyrium minitans* in solid-state fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**, Atlanta, v.22, p.480-486, 1998.

PASCUAL, S.; MELGAREJO, P.; NARESH, M. Accumulation of compatible solutes in *Penicillium frequentans* grown at reduced water activity and biocontrol of *Monilinia laxa*. **Biocontrol Science and Technology**, Lethbridge, v.10, n.1, p.71-80, 2000. (Resumo).

LLARIA [PERTOT, I.](#); [GUALANDRI, V.](#); DE LUCA, F.; [LONGA, C.](#); [PELLEGRINI, E.](#) Decayed *Armillaria mellea* fruiting bodies as source for potential biological control agents against root rot disease. [Bulletin-OILB/SROP](#), Dijon, France, v.29,n.2, p.27-130, 2006.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S.B. "MB-4" **Agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes**. Fundação Juquira Candiru, Canoas, RS. MIBASA. LA SALLE, 1996. 257p.

RASEIRA M.C.B.; QUEZADA A.C. Pêssego Produção. Embrapa Clima Temperado, Brasília, EMBRAPA, 2003. (Informações Tecnológicas, frutas do Brasil n.49). 162p.

RASEIRA, M.C.B.; NAKASU, B.H.; FORTES, J.F. Cartilha do produtor de pêssego. Pelotas: **EMBRAPA**, 1990. 30p. (EMBRAPA-CNPFT. Documentos, 36).

SANGIT, K.; JHA, D.K. *Trichothecium roseum*: a potential agent for the biological control of soybean rust. [Indian-Phytopathology](#), New Delhi, v.55, n.2, p.232-234, 2002.

SCHENA, L.; NIGRO, F.; PENTIMONE, I.; LIGORIO, A.; IPPOLITO, A. Control of postharvest rots of sweet cherries and table grapes with endophytic isolates of *Aureobasidium pullulans*. **Postharvest Biology and Technology**, Oxford, v.30, p.209-220, 2003.

[SESAN, T.E.](#); [STEFAN, A.L.](#); [CONSTANTINESCU, F.](#); [PETRESCU, A.](#) Grapevine rots - diseases coming back into actuality in viticulture. II. Biological control. Putregaiurile strugurilor - boli revenite in actualitate in viticultura. II. Combatere biologica. [Analele-Institutului-de-Cercetare-Dezvoltare-pentru-Protectia-Plantelor](#). France, v.32, p.167-174, 2003.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Controle biológico de doenças de frutos em pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23. p.201-202, 1998.

WISNIEWSKI, M.E. e WILSON, C.L. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables. recent advances, **HortScience**, Alexandria, v.27, p.94-98, 1992.

WITTIG, H.P.P.; JOHNSON, K.B.; PSCHIEDT, J.W. Effect of epiphytic fungi on brown rot blossom blight and latent infections in sweet cherry. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, n.4, p.383-387, 1997.

ZEHR, E.I. Control of brown rot in peach orchards. **Plant Disease**, St. Paul, v.66, n.12, p.1101-1105. 1982.

5- CAPÍTULO III- METABOLISMO EM FLORES DE PESSEGUEIRO, APÓS TRATAMENTO PARA CONTROLE DE PODRIDÃO PARDA

RESUMO

A utilização de agentes biológicos e elicitores no controle de doenças fúngicas de plantas é uma das estratégias estudadas para a viabilização da produção integrada e orgânica. Neste sentido, e considerando a dificuldade na produção de pêssego cultivado em sistema orgânico devido à ocorrência de *M. fructicola* causadora da podridão parda, avaliou-se o metabolismo em flores de pessegueiro conduzidos neste sistema, nas cultivares cvs. Granada e Chimarrita após tratamentos com calda sulfocálcica, fosfitos de Cálcio, Boro e de Potássio e o antagonista *Trichothecium roseum*. As amostras foram coletadas em 2006 em todas as plantas tratadas, sendo cinco repetições na cv. Granada e seis na Chimarrita para cada tratamento. Foram coletadas doze flores por planta em todas as repetições e formadas três amostras de quatro flores por repetição para as análises bioquímicas. A concentração de proteínas totais, açúcares totais e redutores, aminoácidos, fenóis, flavonóides, peroxidases e antocianinas nos tecidos florais foram determinados e correlacionadas com a incidência de *M. fructicola* em campo. O tratamento com calda sulfocálcica elevou significativamente a produção de aminoácidos na cv. Granada, proteínas e peroxidases na Chimarrita e reduziu a produção de açúcares totais, açúcares redutores e antocianinas na cv. Granada, açúcares totais e fenóis na Chimarrita. Os fosfitos associados com *T. roseum* elevaram a produção de proteínas e peroxidases na cv. Chimarrita tendo reduzido a produção de antocianinas na cv. Granada e fenóis na Chimarrita. O tratamento com fosfito de CaB elevou a produção de proteínas e peroxidases na cv. Chimarrita tendo reduzido açúcares totais e fenóis na cv. Granada, açúcares totais, açúcares redutores e fenóis na Chimarrita. Quantidades mais elevadas de aminoácidos na cv. Granada e menores de açúcares totais e redutores na mesma cultivar e menor produção de açúcares totais, açúcares redutores e flavonóides na cv. Chimarrita foram verificadas em plantas tratadas com o antagonista *T. roseum*, todos em relação à testemunha. Estes resultados indicam que a calda sulfocálcica, fosfito de CaB e o *T. roseum*, podem contribuir para alterações no metabolismo vegetal induzindo a resistência na fase de floração podendo auxiliar no controle de doenças fúngicas como a podridão parda.

Palavras-chave: peroxidases, fenóis, proteínas, fosfito, calda sulfocálcica, *Trichothecium roseum*

METABOLISM IN PEACH ORGANIC FLOWERS AFTER TREATMENT FOR BROWN ROT CONTROL

ABSTRACT

The use of biological agents and elicitors in the control of fungal diseases in plants is one strategy that has been studied for the viability of organic and integrated fruit production free of toxic residues harmful to man and the environment. Thus, considering the difficulties in the production of organic peach due to the occurrence of *M. Fructicola* causing brown rot, an evaluation the metabolism in peach flower conducted in organic system to cultivars Granada and Chimarrita after treatments to lime sulfur, calcium, boron and potassium phosphites and the antagonist *Trichothecium roseum*. The samples were collected in 2006, in all plants treated, with five repetitions in Granada cv. and six in Chimarrita cv. for treatment. They were collected twelve flowers per plant from all repetitions and formed three samples with four flowers to treatment for biochemic analysis. The concentration of total proteins, total and reducing sugars, aminoacids, phenols, flavonoids, peroxidases and anthocyanins in flower tissues were determined and correlated with the incidence of *M. fructicola* in the field. The lime sulfur treatment raised significantly the production of aminoacids in Granada cv., proteins and peroxidases in Chimarrita and reduced the production of total and reductors sugars, anthocyanins in Granada cv., total sugars and phenols in Chimarrita. The phosphites associated with *T. Roseum* raised the production of proteins and peroxidases in Chimarrita cv. taking reduced the production of anthocyanins in Granada cv. and phenols in Chimarrita. The treatment with phosphite of CaB raised the production to proteins and peroxidases in Chimarrita cv. taking reduced total sugars and phenols in Granada cv., total and reductors sugars and phenols in Chimarrita cv. Higher quantities of aminoacids in Granada cv. and minors of total and reductors sugars in the same cultivar and minor production of total and reductors sugars and flavonoids in Chimarrita cv. were cheked in plants treated with *T. roseum* antagonist, all in relation to chek. These results indicate that lime sulfur, phosphite and *T. roseum* may contribute to alterations in the plant metabolism contributing to the induction of resistance in organic peach flowering phase, helping in fungal diseases like brown rot control.

Key words: Peroxidases, phenols, proteins, phosphite, lime sulfur, *Trichothecium roseum*

5.1. INTRODUÇÃO

Para o controle da podridão parda do pessegueiro, *Prunus persicae* (L.) Batsch causada por *Monilinia fructicola* (G. winter) Honey, doença importante pelos danos que causa à produção são recomendados tratamentos desde o início da abertura de sépalas, até o final da floração, normalmente com uso de produtos químicos comerciais (BLEICHER, 1997; FORTES e MARTINS, 1998). No entanto, com as exigências crescentes dos consumidores por produtos livres de agrotóxicos, a menor agressão ambiental e a crescente resistência de alguns patógenos a diversos fungicidas sintéticos, estudos vêm sendo realizados na busca de novas estratégias de controle da doença, através do uso de produtos alternativos como os indutores de resistência e agentes de controle biológico (STADNIK e MARASCHIN, 2004).

A avaliação de alterações metabólicas das plantas após tratamentos com agentes bióticos e abióticos de indução, específicos para o controle de doenças tem sido utilizada como estratégia usual para elucidação dos mecanismos envolvidos. A exemplo disto, estudos demonstraram a ação da calda sulfocálcica e fosfitos no controle de doenças em função da sua eficiência na indução do metabolismo secundário de plantas, como já relatado em outros patossistemas (GUEST e GRANT, 1991; JACKSON et al., 2000; STADNIK e TALAMINI, 2004; CAVALCANTI et al., 2005).

A indução do metabolismo secundário nos vegetais ocorre com a presença de fatores adversos às condições ótimas presentes no meio, os quais elicitam respostas complexas de defesa como a ativação de receptores de membrana (proteínas de membrana) que percebam rapidamente as mudanças no exterior das células ou por, promover alterações fisiológicas e morfológicas pela ativação de vários genes resultando na síntese e acumulação de metabólitos de defesa (BONALDO, 2005; BAREA et al., 2005). Estes processos de mudança metabólica podem interferir na produção de compostos do responsáveis pelo metabolismo primário devido ao particionamento de carbono para a produção de proteínas específicas como as peroxidases (TAIZ e ZEIGER, 2004; STADNIK e MARASCHIN, 2004). Parte destas proteínas atuam na hidrólise de polímeros β - 1, 3 glucana e quitina, componentes da parede celular de fungos e na extremidade de hifas provocando a morte de uma grande variedade de fungos patogênicos por enfraquecimento da parede celular (GUZZO, 2003).

A ação de um patógeno ou elicitor abiótico pode promover a formação de estruturas de resistência pós-formadas envolvendo fatores físicos e bioquímicos (PASCHOLATI e LEITE, 1994). Os mecanismos de defesa da planta induzidas por fatores bióticos ou abióticos ou infecções por patógenos conferem uma ampla proteção contra

microorganismos patogênicos pelo processo da resistência sistêmica adquirida, (RSA), a qual é caracterizada pelo incremento de um grande número de genes relacionados à patogenicidade (DURRANT e DONG, 2004).

As alterações metabólicas promovidas pela RSA envolvem alterações estruturais como o fortalecimento da parede celular pela maior lignificação, deposição de calose e formação de papilas (STICHER et al., 1997); aumento de proteínas relacionadas à patogenicidade como a fenilalanina amônia-liase (PAL) e as peroxidases, produção de compostos do metabolismo secundário, como fenilpropanóides, fitoalexinas, flavonóides e outros compostos fenólicos (LEE et al., 1995; CAVALCANTI et al., 2005; BONALDO et al., 2005).

As peroxidases auxiliam na formação de lignina na parede celular e muito embora não tendo relação direta com a RSA, são importantes na atuação sobre as Espécies Ativas de Oxigênio (EAOs). A alteração de sua atividade em alguns casos promove alteração do metabolismo da planta para a formação de compostos de defesa (LABANCA, 2002). Os compostos fenólicos atuam sobre a formação de lignina, o mesmo ocorrendo com a ação das peroxidases embora atuando de forma diferente. Diferentes mecanismos também estão envolvidos na ação de flavonóides sobre fungos patogênicos como é o caso das fitoalexinas que atuam sobre os fungos promovendo granulações citoplasmáticas, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas, refletindo na inibição da germinação de patógenos (TAIZ e ZEIGER, 2004; CAVALCANTI et al., 2005).

Considerando que as mudanças no metabolismo vegetal e a conseqüente produção de compostos de defesa são produzidos pela planta quando esta for elicitada por agentes de origem biótica ou abiótica e a importância dos processos de indução de resistência como estratégia para o controle de doenças em sistemas orgânicos, interessa conhecer os mecanismos de ação de alguns produtos utilizados neste sistema de produção, uma vez que a ação destes produtos não é totalmente esclarecida pela literatura (NOJOSA et al., 2005).

Desta forma, o presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a ação da calda sulfocálcica, fosfito de cálcio e boro (CaB) e o antagonista *Trichothecium roseum* (isolado UFPR F4) no metabolismo de pessegueiro cultivado em sistema orgânico, cultivares Granada e Chimarrita tratadas na fase de floração, correlacionando as alterações na produção de alguns compostos relacionadas à defesa vegetal com a incidência de podridão parda causada por *M. fructicola*.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Experimento em campo para controle da podridão parda nas flores

O experimento foi realizado no ano de 2006, em pomar de pessegueiro cultivado em sistema orgânico, localizado em Rio do Sul, SC, Brasil, coordenadas geográficas com Latitude: 27° 11' 07" S e Longitude: 49° 39' 39" W. Foram avaliadas as cultivares Granada e Chimarrita com oito anos de idade, espaçadas em 6,5 metros entre linhas e 5 metros entre plantas, distribuídas em linhas individualizadas por cultivar e separadas entre elas e nas laterais por outras cultivares.

Os tratamentos utilizados foram: **T1** = calda sulfocálcica (300 mL.100 L⁻¹); **T2** = o produto comercial, fosfito de cálcio e boro (CaB), equivalente a 10,7 % P₂O₅ + 3,89 % Ca + 0,51 % B, (300 mL.100 L⁻¹) combinados com *T. roseum* (10⁶ conídios/mL); **T3** = o antagonista *T. roseum* (10⁶ conídios/mL); **T4** = fosfito de CaB (300 mL.100 L⁻¹) e o **T5** = testemunha, não tratada. As pulverizações foram realizadas no início da abertura dos botões florais, em plena floração e no final da floração utilizando-se pulverizador costal (jacto, bico leque) com capacidade para 20 L tendo sido usado em média 3 L de solução por planta. O antagonista *T. roseum* foi aplicado em suspensão de 10⁶ conídios por mL.

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizado formados por uma planta para cada tratamento com cinco repetições para a cultivar Granada e seis na Chimarrita.

5.2.2. Coleta das amostras de flores para avaliação bioquímica

As amostras de material vegetal foram formadas coletando-se ao final da floração, doze flores por planta de cada parcela. As flores foram coletadas aleatoriamente retirando-se aquelas totalmente abertas e sem queda de pétalas. Após a coleta, as flores foram acondicionadas em pacotes de papel alumínio e congeladas em nitrogênio líquido, sendo posteriormente armazenadas em freezer a -20 °C até as avaliações. Para a avaliação dos dados bioquímicos, foram retiradas três amostras em delineamento inteiramente casualizado, com quatro flores por repetição. Foram feitas três análises para todas as determinações utilizando-se 0,5 a uma grama de material de cada uma das amostras retiradas.

5.2.3. Análises bioquímicas

As análises bioquímicas dos tecidos florais para determinação de proteínas totais, fenóis totais, açúcares totais, açúcares redutores, peroxidases, flavonóides, antocianinas e aminoácidos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos.

Para dosagem de proteínas totais, as amostras com uma grama de tecido vegetal foram maceradas em almofariz com 10 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5). Em seguida, o material foi centrifugado (12.000 *g* /10 min a 4 °C) e o sobrenadante coletado. Para quantificação do conteúdo total de proteínas nas amostras foi empregado o teste de BRADFORD (1976). A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro, modelo UV-1601-Shimadzu à 630 nm, com soro albumina bovina como padrão.

A determinação de aminoácidos seguiu o método adaptado de COCKING e YEMM (1954). As amostras foram maceradas em almofariz contendo 10 mL de ácido sulfosalicílico, seguindo centrifugação por 15 minutos a 3600 *g*. Utilizaram-se 2 mL do extrato e adicionaram-se 2 mL de ácido acético + 2 mL de ninidrina ácida, deixou-se em banho-maria por 1 hora a 100 °C. Em seguida, as amostras foram resfriadas em gelo. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro, modelo UV-1601-Shimadzu à 520 nm. Para os cálculos das concentrações de aminoácidos foi utilizado uma curva padrão de prolina.

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada em duas etapas, seguindo o método adaptado de BIELESKI e TURNER (1966). A primeira compreendeu a extração dos fenóis totais, realizada a partir da adição de 4 mL da solução metanol, clorofórmio e água (MCA), na relação 6: 2,5: 1,5 v/v, em uma grama de material vegetal, com trituração em almofariz à temperatura ambiente, seguida de uma centrifugação a 6000 *g* por 20 min, sendo coletado o sobrenadante. Posteriormente, foi realizada nova extração do resíduo remanescente, adicionando-se 4 mL de MCA, centrifugando novamente a 6000 *g* por 20 min e o sobrenadante sendo adicionado ao primeiro, obtendo-se assim o extrato MCA. A esse extrato foi adicionado 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água destilada, procedendo-se nova centrifugação a 6000 *g* por 15 min para separação das fases. A segunda etapa compreendeu a determinação de fenóis totais realizada pelo método adaptado de JENNINGS (1991). A quantificação de fenóis foi feita através de uma curva padrão utilizando tirosina. As amostras foram preparadas a partir da retirada de uma alíquota de 0,5 mL da parte superior do tubo de extração dos fenóis (extrato MCA), a seguir adicionado 0,5 mL de água destilada, mais 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 15 min, foram adicionados 5 mL do reagente alcalino “A” (preparado com carbonato de sódio a 2 % em uma solução de hidróxido de sódio 0,1 N), permanecendo durante 50 minutos até a leitura da absorbância em

760 nm, em espectrofotômetro, modelo UV-1601-Shimadzu. No controle negativo, foi usada água destilada no mesmo volume do extrato vegetal. O resultado foi expresso em mg.g^{-1} de tecido fresco.

As concentrações de açúcares solúveis totais foram determinadas pelo método fenol-sulfúrico descrito por DUBOIS et al. (1956). As amostras com uma grama de material vegetal foram maceradas em almofariz contendo 10 mL de tampão fosfato 0,2 M – pH 7,5, centrifugadas por 10 minutos a 12.000 g a 4 °C. Os tubos para avaliação da concentração foram preparados utilizando-se 2 μL do extrato e adicionando-se 0,5 mL de fenol a 5,0 % + 2,5 mL ácido sulfúrico concentrado. A leitura das amostras foi realizada a 490 nm. A concentração de açúcares totais foi determinada através de curva padrão de glicose.

A quantificação de açúcares redutores foi determinada pelo método do dinitrosalicilato (DNS) (MILLER, 1959). As amostras com uma grama de material vegetal foram maceradas em almofariz contendo 10 mL de tampão fosfato 0,2 M – pH 7,5, centrifugadas por 10 minutos a 12.000 g a 4 °C, utilizando-se 0,5 μL do extrato e adicionando-se 1,0 mL de água destilada + 1,0 mL reagente DNS. A leitura das amostras foi realizada a 540 nm. A concentração de açúcares redutores foi calculada em função de curva padrão de glicose.

A quantificação da atividade das peroxidases foi determinada de acordo com a técnica descrita por MATSUNO e URITANI (1972). As amostras com 0,5 g de tecidos vegetal foram maceradas em gelo, e então, adicionaram-se 5 mL de solução extratora – tampão fosfato 0,05 M, pH 7. Adicionaram-se 2 mg de polivinilpirrolidona (PVP 100, marca Sigma); o extrato foi centrifugado por 20 min a 4.000 g em temperatura de 4 °C. O sobrenadante foi transferido para outro recipiente e utilizado como extrato enzimático. A análise de atividade enzimática para peroxidases propriamente dita foi realizada seguindo os seguintes passos: em um tubo de ensaio adicionaram-se 5 mL de solução tampão de citrato (pH 5,0), 0,5 mL de água oxigenada a 3 %, 0,5 mL de guaiacol 0,5 % e 3,0 mL da amostra extraída do tampão pH 7. Esta mistura foi levada para incubação em banho maria, por 15 minutos, a 30 °C. Após incubação, os tubos voltaram para gelo onde permaneceram por mais 5 minutos. Em seguida, adicionou-se à amostra, 0,5 mL de bissulfito de sódio, o qual foi usado para paralisar a reação. As leituras foram realizadas após 10 minutos de repouso, em espectrofotômetro, modelo NT – 805 NOVATECNICA, em comprimento de onda de 450 nm. Para o cálculo da atividade enzimática considerou-se como uma unidade de enzima correspondente a um aumento na absorvância de 0,001 unidade ótica/minuto⁻¹.

A determinação de antocianinas totais e flavonóides foi realizada conforme metodologia adaptada de LEES e FRANCIS, (1972) pesando-se 0,5 g de flores de cada

tratamento e maceradas em almofariz com 10 mL da solução extratora (85 % de etanol concentrado em 95 % + 15 % de HCl 1,5 N). A solução foi colocada em tubos de ensaio, os quais foram revestidos com papel alumínio para proteger da luz e deixados em geladeira por 12 horas. O extrato foi filtrado com 5 mL da solução extratora e deixado descansar por duas horas e em seguida retirado 2 mL da amostra adicionando-se mais 10 mL da solução extratora e agitado em vortex. A leitura dos dados foi feita em espectrofotômetro a 374 nm para obtenção de absorvância de flavonóides e a 535 nm para antocianinas. Na seqüência calculou-se o fator de diluição pelo volume da quantidade da solução extratora utilizada na maceração e na filtração sobre a quantidade de extrato vegetal utilizado para compor a amostra e, multiplicado pela quantidade de solução extratora adicionada à amostra final. O dado final foi obtido pelo produto entre o valor de absorvância e o fator de diluição, dividido pela constante 76,6 para flavonóides e por 98,2 para antocianinas, ajustando-se o valor para 100 g de material vegetal.

5.2.4. Incidência de podridão parda em flores

Para avaliação da incidência de *M. fructicola* foram realizadas duas coletas de 40 flores (10 por pernada), totalmente abertas em todas as plantas após as pulverizações. As flores foram acomodadas em caixas plásticas (11x11x3,5 cm) tipo gerbox[®] com vinte flores por caixa, forradas com papel filtro esterilizado e umedecido em água estéril, que permaneceram incubadas a 25 °C, no escuro por três dias e após, a 4 °C por mais três dias (adaptado de LUO et al., 2001). As avaliações foram feitas com auxílio de microscópio estereoscópico observando-se a presença de sintomas e sinais do patógeno nas estruturas florais e expressas em porcentagem.

5.2.5. Análise estatística

Após teste de normalidade, os dados de incidência de podridão parda foram transformados em $\sqrt{x} + 1$ e analisados através do programa estatístico SAS[®] utilizando-se ANOVA e em caso de significância aplicou-se o teste de Duncan a 5 %. Os dados das análises bioquímicas não sofreram transformações e foram analisados através do programa SASM-Agri[®] versão 8.0 (CANTERI et al., 2001).

5.2.6. Informações climatológicas

Os dados de precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e temperaturas ocorridas no local do experimento em campo para a fase de floração do pessegueiro estão

representados no capítulo II (Figura 4.2), os quais foram utilizados para a comparação com os dados bioquímicos verificados neste experimento.

5.3. RESULTADOS

As concentrações de proteínas solúveis totais foram significativamente superiores em flores tratadas com calda sulfocálcica, fosfito com e sem o antagonista *T. roseum* na cultivar Chimarrita, com valores mais elevados em relação à testemunha. Na cultivar Granada, não houve diferença estatística entre os tratamentos (Tabelas 5.1 e 5.2).

Para açúcares totais na cultivar Granada, somente o fosfito associado ao *T. roseum* não foi significativo em relação à testemunha. Os demais tratamentos apresentaram diferenças significativas com uma menor produção de açúcares. Na cultivar Chimarrita, valores significativos com menor produção de açúcares foi verificado para os tratamentos com calda sulfocálcica e o fosfito. Os açúcares redutores expressaram menor concentração para os tratamentos com fosfito de CaB e o antagonista *T. roseum* na cultivar Chimarrita, enquanto que na cultivar Granada, os dados não diferiram estatisticamente, embora a menor produção tenha ocorrido também com o tratamento do antagonista (Tabelas 5.1 e 5.2).

Todos os tratamentos, exceto para o *T. roseum* foram significativamente superiores quanto à atividade de peroxidases na cultivar Chimarrita, cujo maior valor foi representado pelo tratamento com fosfito e *T. roseum* apresentando 29,7 unid.enzimática.min⁻¹. Não houve diferença estatística na cultivar Granada para a avaliação desta atividade. As menores concentrações ocorreram nas plantas não tratadas com 12,73 unid.enzimática.min⁻¹ na cultivar Granada e de 16,58 unid.enzimática.min⁻¹ na cultivar Chimarrita (Tabelas 5.1 e 5.2).

Diferenças significativas nas taxas de fenóis totais foram encontradas na cultivar Granada para o fosfito associado ou não ao *T. roseum*, em relação aos demais tratamentos (Tabela 5.1). Na cultivar Chimarrita, a testemunha foi significativamente superior aos demais tratamentos e o fosfito com menor valor (Tabelas 5.2).

Quanto à avaliação de aminoácidos, a calda sulfocálcica e o antagonista *T. roseum* mantiveram valores mais elevados nas duas cultivares com diferenças significativas somente na “Granada” (Tabelas 5.1 e 5.2).

Tabela 5.1 – Concentração de proteínas totais, açúcares totais e redutores, fenóis, aminoácidos, peroxidases, antocianinas e flavonóides em flores de pessegueiro, após diferentes tratamentos para controle da podridão parda, cv. Granada. Rio do Sul, SC, 2006.

TRATAMENTOS	Proteínas totais (mg/g)	Açúcares totais (mg/g)	Açúcares redutores (mg/g)	Fenóis (mg/g)	Amino-ácidos (mg/g)	Flavonóides (mg/g)	Antocianinas (mg/g)	Peroxidases UE/ min/g
Calda Sulfocálcica	5,30 ns	9,51 b	0,74 b	5,91 a	1,36 a	1,52 ns	0,06 b	18,50 ns
Fosfito de CaB + <i>T. roseum</i>	6,44	10,72 ab	1,18 a	4,97 ab	1,07 b	1,37	0,06 b	17,33
<i>Trichothecium roseum</i>	5,26	8,62 b	0,67 b	5,89 a	1,27 a	1,61	0,11 a	19,95
Fosfito de CaB	6,47	9,27 b	0,84 a	4,70 b	1,05 b	1,58	0,11 a	16,20
Testemunha	6,57	13,43 a	0,98 a	5,92 a	1,07 b	1,41	0,11 a	12,73
CV (%)	11,57	16,96	21,75	8,79	8,63	33,59	14,94	37,44

CaB = Fosfito de Cálcio e Boro (equivalente a 10,7 % P₂O₅ + 3,89 % Ca + 0,51 % B). Dados originais em (mg.g matéria vegetal⁻¹). As médias seguidas verticalmente pala mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade.

Tabela 5.2 - Concentração de proteínas totais, açúcares totais e redutores, fenóis, aminoácidos, peroxidases, antocianinas e flavonóides em flores de pessegueiro, após diferentes tratamentos para controle da podridão parda, cv. Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2006.

TRATAMENTOS	Proteínas totais (mg/g)	Açúcares totais (mg/g)	Açúcares redutores (mg/g)	Fenóis (mg/g)	Amino-ácidos (mg/g)	Antocianinas (mg/g)	Flavonóides (mg/g)	Peroxidases UE/ min/g
Calda Sulfocálcica	6,14 a	11,03 bc	1,61 a	5,13 bc	1,65 a	0,21 ns	1,38 ab	28,92 a
Fosfito de CaB + <i>T. roseum</i>	4,81 ab	13,33 ab	1,32 a	5,38 bc	1,26 b	0,17	1,54 a	29,70 a
<i>Trichothecium roseum</i>	4,4 bc	11,54 bc	0,83 b	5,95 ab	1,62 a	0,21	1,08 c	19,72 bc
Fosfito CaB	5,58 ab	9,61 c	0,44 c	4,92 c	1,47 ab	0,14	1,24 bc	26,88 ab
Testemunha	3,41 c	14,19 a	1,51 a	6,75 a	1,44 ab	0,22	1,50 ab	16,58 c
CV (%)	15,16	12,16	14,80	8,68	10,80	29,27	10,49	18,38

CaB = Fosfito de Cálcio e Boro (equivalente a 10,7 % P₂O₅ + 3,89 % Ca + 0,51 % B). Dados originais em g de matéria vegetal fresca. As médias seguidas verticalmente pala mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade de erro.

Considerando os valores absolutos verificou-se concentrações mais elevadas de flavonóides na cultivar Granada para os tratamentos com calda sulfocálcica, *T. roseum* e fosfitos de CaB (Tabela 5.1). Na cultivar Chimarrita, o *T. roseum* apresentou a menor quantidade do composto em relação à testemunha (Tabela 5.2).

Valores significativamente mais elevados de antocianinas foram verificados na cultivar Granada para os tratamentos com *T. roseum*, fosfito de CaB e testemunha (Tabela 5.1). Na cultivar Chimarrita não houve diferença estatística entre os tratamentos, porém, as maiores expressões na produção ocorreu para os tratamentos com calda sulfocálcica, *T. roseum* e testemunha (Tabela 5.2).

Quanto à incidência da podridão parda durante o período de floração, os resultados demonstraram que todos os tratamentos foram eficientes no controle da doença para a cultivar Chimarrita com reduções de 19 a 64 % em relação à testemunha. Na cultivar Granada, os fosfitos e o antagonista foram eficientes reduzindo a doença de 45 a 64 % em relação à testemunha (Figura 5.1).

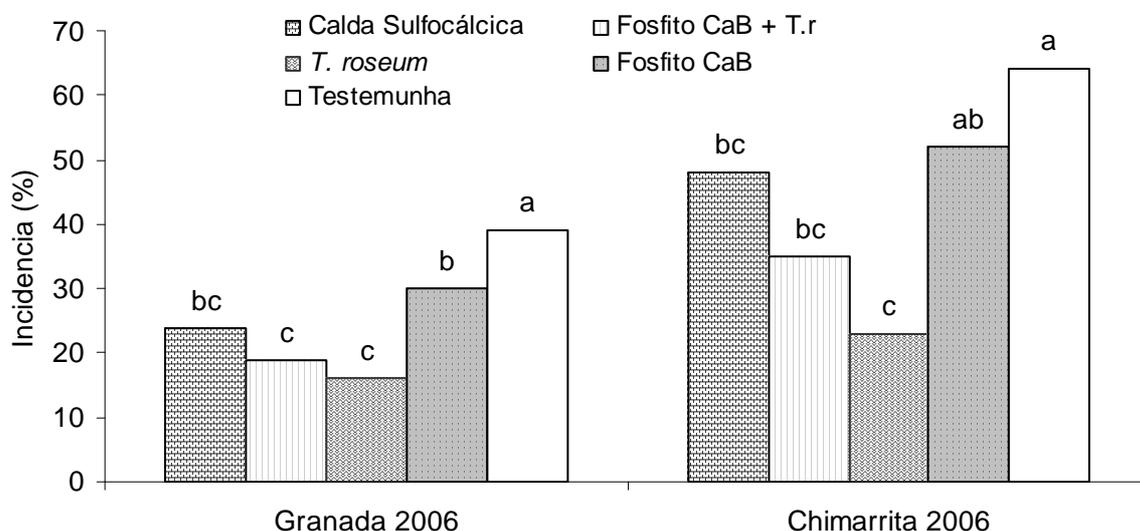


Figura. 5.1 – Médias de incidência (%) de podridão parda em flores de pessegueiro, após tratamentos, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2006.

CaB = cálcio e boro, T.r = *Trichothecium roseum*. Dados originais. Colunas seguidas da mesma letra dentro do mesmo ano e cultivar, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade.

As regressões que melhor explicam a relação entre os valores dos compostos analisados e a incidência da doença foram os fenóis e peroxidases na cultivar Granada,

fenóis e proteínas na “Chimarrita”. O aumento de fenóis e peroxidases na cultivar Granada e fenóis para a cultivar Chimarrita apresentou relação positiva com a redução na incidência de podridão parda em flores de pessegueiro enquanto que o aumento de proteínas na cultivar Chimarrita teve relação positiva com o crescimento da doença (Figura 5.2).

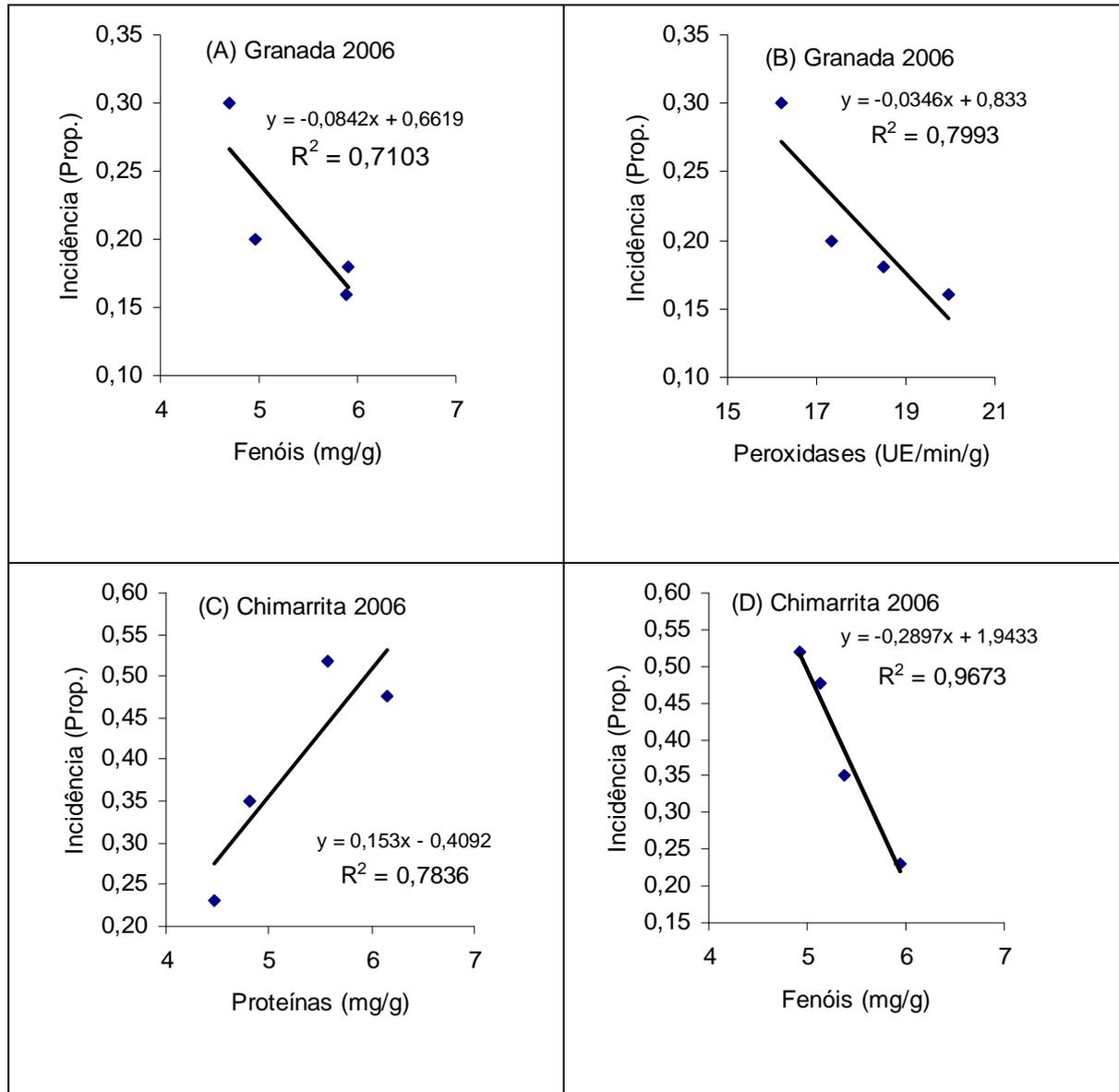


Figura. 5.2 – Regressão linear entre incidência de podridão parda e concentrações de fenóis, proteínas e peroxidases em flores de pessegueiro, cvs. Granada e Chimarrita. Rio do Sul, SC, 2006.

5.4. DISCUSSÃO

As proteínas totais apresentaram diferenças estatísticas na cultivar Chimarrita com valores superiores à testemunha para os tratamentos com calda sulfocálcica, fosfito de CaB + *T. roseum* e fosfito de CaB. Esta elevação dos valores de proteínas podem estar relacionadas ao efeito destes produtos no processo de indução de resistência, estimulando a planta a produzir proteínas relacionadas a patogêncidade (proteínas-RPs). Uma única proteínas-RP, na cultura do fumo, pode constituir aproximadamente 1 % das proteínas solúveis de uma folha infectada, cujo total de proteínas-RPs pode ficar acima de 10 % do total. Isso deve ser considerado, principalmente em relação ao desvio metabólico de órgão de crescimento e/ou reprodução da planta necessitando de mais tempo para a formação estrutural da planta havendo limitações para a síntese de enzimas relacionadas à patogenicidade, especialmente quando as condições climáticas e nutricionais não são ideais (HEIL e BOSTOCK, 2002). Entre as proteínas-RPs mais pesquisadas estão as β -1,3-glucanases e as quitinases, que possuem atividade hidrolítica, quebrando polímeros estruturais presentes nas paredes dos patógenos, com atividade aumentada quando as plantas são tratadas com indutores de resistência (LABANCA, 2002). A evidência da ocorrência de ligações de elicitores à proteínas de membrana (receptores) tem sido relatada por KELLER et al. (1996), bem como o acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PRP), quando do ataque de patógenos, ou via estímulo por agentes estressores abióticos.

As diferentes expressões de proteínas entre as duas cultivares indica que o metabolismo entre as cultivares é diferente podendo haver uma maior ativação enzimática com maior eficiência sobre o substrato (> Kn) ou a cultivar possuir geneticamente um maior pool enzimático ou ainda uma maior regulação enzimática a nível de tradução com maior expressão de algumas enzimas como a fostase e quitinase entre uma cultivar e outra.

Os resultados na cultivar Granada indicaram que os tratamentos com *T. roseum* e a calda sulfocálcica alteraram o metabolismo de aminoácidos havendo relação entre a produção deste composto e proteínas com a produção de flavonóides e antocianinas. Este composto é importante para a formação de compostos secundários ou proteínas, como aminoácidos alifáticos provenientes do ciclo do ácido tricarbóxico que são necessários para a formação de produtos secundários nitrogenados, ou então, aminoácidos aromáticos provenientes da rota do ácido chiquímico, necessários para a formação de compostos fenólicos e nitrogenados. De forma mais simples, os aminoácidos servem de substrato para a formação de proteínas-RPs ou compostos fenólicos (CAVALCANTI et al., 2005).

A regressão linear entre a atividade de peroxidases e a incidência da doença com coeficiente de regressão (R^2) de 0,70, indica que uma das possíveis formas de ação desses

produtos avaliados esteja relacionada à ativação dessas enzimas para formação de lignina ou outro composto dependente das mesmas (Figura 5.2). As peroxidases são glicoproteínas capazes de catalizar a produção de H_2O_2 , a formação de lignina, incorporação de glicoproteínas à parede celular, destruição peroxidativa do ácido indolilacético e de outros reguladores de crescimento. As peroxidases, bem como outras enzimas como a superóxido dismutase e a catalase, atuam sobre as EAOs de modo a livrar a célula de seu efeito. As peroxidases não têm relação direta com a RSA, no entanto, a alteração de sua atividade é um indício de alteração do metabolismo da planta, como na formação da lignina pela polimerização de fenóis (LABANCA, 2002). A lignina é formada pela polimerização de precursores produzidos na rota dos fenilpropanóides, sendo iniciada pela deaminação da fenilalanina para ácido cinâmico e catalizada pela enzima fenilalanina amônia-liase. Outras enzimas na rota dos fenilpropanóides, a álcool-cinamil-desidrogenase, 4-cumarato e peroxidases também estão envolvidas na produção de compostos de defesa como a lignina (STICHER et al., 1997). Vesículas armazenadoras de fenóis migram em direção à parede celular, onde ocorre a descompartimentalização dos fenóis das porções glicosídicas. Os fenóis livres sofrem oxidação, ligação à parede celular ou são polimerizados, sendo que a ação do H_2O_2 catalisada por uma peroxidases sobre os alcoóis 4-coumaril, coniferil e sinapil leva à geração de radicais livres e à formação de lignina (LABANCA, 2002). A lignina pode atuar em diferentes mecanismos, como na modificação da parede celular e no estabelecimento de barreiras mecânicas ao avanço e crescimento do patógeno tornando a parede celular mais resistente ao ataque de enzimas hidrolíticas, no aumento da resistência das paredes à difusão de toxinas produzidas por patógenos e impedindo que nutrientes do tecido hospedeiro sejam utilizados pelo invasor (PASCHOLATI e LEITE, 1994). A correlação entre o aumento de fenóis e a redução da doença (Figura 5.2) são um indicativo de que a maior produção destes compostos promovida pelos tratamentos interferiram positivamente na redução da incidência de *M. fructicola*.

Os menores valores de fenóis observados com o uso de fosfito de CaB para as duas cultivares, pode ser um indicativo de que a forma de atuação na indução de resistência, não seja preferencialmente a ativação da rota para produção de fenóis totais, mas outras rotas que merecem ser melhor estudadas como a ativação de compostos nitrogenados, terpenos, ou até mesmo a ativação de proteínas-RPs. No entanto, há de se considerar a possibilidade de envolvimento das peroxidases no metabolismo dos fenóis em função da fase de desenvolvimento da cultura cujo aumento significativo ocorreu na cultivar Chimarrita (Tabela 5.2) com coeficiente de regressão (R^2) de 0,96 nessa cultivar e de 0,71 na Granada, indicando que o aumento desse composto está diretamente relacionado com a redução da doença (Figura 5.2). Essa alternância entre fenóis e peroxidases em determinada fase da

cultura pode ser explicada em função da reação enzimática que ocorre entre esses dois compostos, uma vez que as peroxidases podem utilizar os fenóis, principalmente aqueles de baixo peso molecular, como substrato para sua síntese, apresentando sempre um balanço inversamente proporcional (FRY, 1986). Desse modo, sugere-se que tais compostos por estarem interrelacionados sejam analisados em conjunto uma vez que o aumento de um poderá causar redução no outro não prejudicando o processo de indução de resistência das plantas.

A concentração de açúcares totais e redutores, não permitiram de forma coerente relacionar estes compostos com os tratamentos aplicados ou com a indução de resistência. Os resultados, no entanto, demonstraram nas duas cultivares que a atividade metabólica nas plantas tratadas exigiu maior gasto energético. Evidenciou-se nas duas cultivares a necessidade de maior consumo de açúcares para aumento da atividade de peroxidases uma vez que os tratamentos que apresentaram menores concentrações de açúcares apresentaram maior atividade de peroxidases e vice-versa (Tabelas 5.1 e 5.2).

Embora os ciclos metabólicos estejam integrados e um processo metabólico de indução poder afetar o metabolismo primário do carbono, como a glicólise, pentose fosfato ou ciclo do ácido cítrico, a utilização de açúcares para a produção de compostos de defesa e a manutenção do metabolismo primário faz com que sua concentração nos tecidos vegetais fique reduzido. Além disso, a concentração de açúcares pode depender ainda de condições ambientais, nutricionais ou fisiológicas. Segundo PASCHOLATI e LEITE, (1995), a contribuição dos mecanismos bioquímicos para a resistência das plantas, não é necessariamente uniforme, de modo que em dada circunstância, o hospedeiro mostra-se resistente, principalmente devido a componentes estruturais, sendo a contribuição de entidades bioquímicas menos relevante. Em outras situações, contudo, o inverso poderá ser observado. Desta forma, quando se busca elucidar os mecanismos envolvidos na expressão de resistência de uma população de plantas a um patógeno a abordagem deve levar em consideração além das características individuais das espécies, as condições climáticas presentes.

Em relação a antocianinas e flavonóides houve alteração em seus teores, ocorrendo diferenças para antocianinas em dois tratamentos na cultivar Granada e para flavonóides com um tratamento na cultivar Chimarrita. Estes dados demonstram que os tratamentos propostos alteram a rota dos fenilpropanóides para formação destes compostos, possivelmente na formação de fitoalexinas. As fitoalexinas possuem grande diversidade sendo que mais de 300 tipos já foram caracterizados entre diferentes classes de compostos químicos, como cumarinas, diterpenos, flavonóides, luteolinidina, apigenidina e apigeninidina (CAVALCANTI et al., 2005). Uma menor ou maior produção de antocianinas e

flavonóides pode ter relação com o desvio de rota metabólica para a produção de fitoalexinas as quais são ativadoras dos mecanismos de defesa no controle de fitopatógenos, sendo que os fosfitos possuem ação direta na produção desses compostos (GUEST e GRANT, 1991; JACKSON, 2000; NOJOSA et al., 2005). Não houve relação entre a produção de antocianinas e flavonóides com a concentração de açúcares indicando que a produção destes compostos dependem mais diretamente do uso de proteínas como substrato uma vez que houve relação entre a quantidade destas e de aminoácidos com a produção de antocianinas e flavonóides (Tabelas 5.1 e 5.2).

Dois aspectos que podem justificar a variabilidade dos dados neste trabalho merecem serem considerados. O primeiro referente ao curto espaço de tempo entre a pulverização e a coleta das flores para a manifestação de modificações metabólicas com expressão na produção de substâncias de proteção. Mesmo não sendo este fator comum para todas as planta podendo em certos casos a expressão ser confirmada poucas horas após a aplicação de um indutor, para algumas plantas e dependendo do tipo de amostra a ser utilizada há necessidade de um intervalo de tempo entre exposição da planta ao indutor e a expressão da resistência (STADNIK e MARASCHIN, 2004; TAIZ e ZEIGER, 2004). O segundo aspecto refere-se às variações climáticas ocorridas durante a fase de floração com alguns períodos de muita chuva e outros seco e oscilações bruscas de temperatura, as quais variaram entre 4 até 25 °C (Figura 4.2 do Cap. II). Foram observadas diferenças na produção de compostos bioquímicos segundo a cultivar e ano do experimento com os produtos utilizados, podendo com isso, em um determinado momento haver resposta da planta a um tipo específico de elicitor com a produção de uma substância específica para aquele momento, hora outros compostos são produzidos de acordo com os produtos utilizados e as circunstâncias ambientais decorridas. A alta pressão da doença pode ter contribuído para uma maior elicitação na produção de compostos de defesa.

Neste sentido, trabalhos realizados em 1988 por MOLE e WATERMAN, confirmaram que fatores abióticos naturais como irradiação solar, luz UV, seca, nutrientes e estações do ano influenciam no metabolismo e na produção de compostos fenólicos. Vários fatores ambientais influenciam a produção de flavonóides nas plantas, como, por exemplo, infecção, temperatura, nutrição, injúria, metabolismo do açúcar e do nitrogênio e qualidade de radiação (BLANK, 1947). A radiação solar é um dos fatores que, via de regra, está relacionada à variação quantitativa. Muitos trabalhos demonstraram que há um aumento quantitativo de flavonóides em órgãos expostos à luz, em comparação com aqueles que estão à sombra (HOLST, 1977).

Os resultados positivos obtidos com calda sulfocálcica e o fosfito na produção de compostos de proteção e no controle de *M. fructicola* podem estar relacionados também

com as baixas concentrações destes produtos utilizados neste trabalho. Segundo JACKSON et al. (2000) a ação direta ou indireta dos fosfitos sobre os patógenos, tem estreita relação com sua concentração na planta que, em baixas concentrações, menos de 2 mM, os fosfitos normalmente atuam sobre os tecidos da planta estimulando a produção de substâncias de defesa como fenóis e fitoalexinas, enquanto que, se utilizado em altas concentrações poderá atuar diretamente sobre o patógeno, sem a necessidade de alterar seus mecanismos de defesa. O uso destes produtos em várias concentrações durante a fase de floração do pessegueiro para análise bioquímica são indicados para trabalhos futuros.

Quanto aos nutrientes envolvidos nos tratamentos com calda sulfocálcica e fosfito, o fósforo, cálcio, enxofre e boro são todos elementos fundamentais na formação de compostos bio-orgânicos e processos metabólicos, indispensáveis para o desenvolvimento das plantas. A ação desses elementos sobre o controle de doenças fúngicas tem relação estreita com suas deficiências ou excessos nas plantas bem como sua associação, tendo efeito significativo sobre várias doenças (ZAMBOLIM e VENTURA, 1993; MARSCHNER, 1995; MALAVOLTA et al., 1997).

O controle da podridão parda pelo antagonista *T. roseum* (Figura 5.1), pode estar relacionada com sua ação direta sobre o patógeno ou pela produção de substâncias tóxicas ao patógeno. Sobre esta questão, trabalhos feitos por MOREIRA (1999), confirmaram ação de hiperparasitismo e antibiose sobre *M. fructicola*. No Japão, KONISHI et al. (2003) extraíram do micélio de *T. roseum* algumas micotoxinas que segundo estes autores são as responsáveis pela ação de antibiose na inibição do desenvolvimento de alguns fitopatógenos.

Embora a fase de floração do pessegueiro ocorra em período curto de tempo, os valores dos compostos encontrados bem como algumas correlações entre seus valores e a incidência da podridão parda demonstram que os tratamentos realizados produziram efeitos bioquímicos favoráveis para a ativação dos mecanismos de defesa da planta contra a doença.

5.5. CONCLUSÕES

Os compostos de proteínas totais, açúcares totais e redutores, aminoácidos, fenóis, flavonóides, peroxidases e antocianinas foram alterados pelas mudanças no metabolismo vegetal, das plantas tratadas com calda sulfocálcica, fosfitos de CaB e o antagonista *Trichothecium roseum* durante a fase de floração do pessegueiro.

Valores mais elevados de proteínas e açúcares na fase de floração favoreceram o desenvolvimento da *M. fructicola* enquanto que para os fenóis e peroxidases o efeito foi contrário.

Houve diferenças no metabolismo vegetal entre as cultivares Granada e Chimarrita indicando que a resposta de defesa de uma cultivar é diferente da outra.

REFERÊNCIAS

BAREA, J.M.; POZO, M.J.; AZCÓN-AGUILAR, C. Microbial co-operation in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.56, p.1761-1778, 2005.

BIELESKI, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.17, p.278-293, 1966.

BLANK, F. The anthocyanin pigments of plants. **Bot. Rev.** Cambridge, v.13, p.241-317, 1947.

BLEICHER, J. Doenças de rosáceas de caroço. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. ed. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3ª ed. São Paulo: Ceres, 1997. p.621-627

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**, Piracicaba: FEALQ, 2005. p.11-28.

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

CANTERI, M.G.; ALTHAUS, R.A.; VIRGENS FILHO, J.S.; FIFLIOTI, 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**, Ponta Grossa, n.2, p.18-24, 2001.

CAVALCANTI, L.S.; BRUNELLI, K.R.; STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.;

PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.da S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**: Piracicaba: FEALQ, 2005. p.81-113

CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R. da S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba, FEALQ, 2005. 215p.

COCKING, E.C.; YEMM, E.W. Estimation of amino acids by ninhidrin. **The Biochemical journal**, London, v.58, p.12-13, 1954.

DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.28, p.350-356, 1956.

DURANT, W.E.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, p.185-209, 2004.

FORTES, J.F.; MARTINS, O.M. Sintomatologia e controle das principais doenças. In: Medeiros, C.A.B.; Raseira, M. do C.B. ed. **A cultura do pessegueiro**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1998, p.243-264

FRY, S.C. Polymer-bound phenols as natural substrates of peroxidases. In: GREPPIN, H., PENEL, C., GASPAR, TH., eds). **Molecular and physiological aspects of plant, peroxidases**. Switzerland: Univ. Genève, 1986. p.169-182

GUEST, D.I.; GRANT, B.R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Review**, Cambridge, v.66, p.159-187, 1991.

GUZZO, S.D. Proteínas relacionadas à patogênese. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.11, p.283-332, 2003.

HEIL, M.; BOSTOCK, M.R. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annals of Botany**, London, v.89, p.503-512, 2002.

HOLST, R.W. Anthocyanins of *Azolla*. **American Fern Journal**. Washington, v.67, n.4, p. 99-100, 1977.

JACKSON, T.J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; FORTE, G.E. StJ. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, San Diego, v.49, p.147-154, 2000.

JENNINGS, A.C. The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.118, p.396-398, 1991.

KELLER, H.; BLEIN, J.P.; BONNET, P. e RICCI, P. Physiological and molecular characteristics of leucitin-induced systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Physiology**, San Diego, v.110, p.365-376, 1996.

KONISHI, K.; IIDA, A.; KANEKO, M.; TOMIOKA, K.; TOKUDA, H.; HOYOKU NISHINO, H.; KUMEDA, Y. Cancer Preventive Potential of Trichothecenes from *Trichothecium roseum*. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**, San Diego, v.11, p.2511–2518, 2003.

LABANCA, E.R.G. Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*). Dissertação de mestrado. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, 2002. 107p.

LEE, H.I.; LEON, J.; RASKIN, I. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. **Proceedings of National Academy of Sciences of the USA**, v.92, p.4076-4079, 1995.

LEES, D.H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, Alexandria, v.7, n.1, p.83-84, 1972.

LUO, Y.; MORGAN, D.P.; MICHAILIDES, T.J. Risk analysis of rot blossom blight of prune caused by *Monilinia fructicola*. **Phytopathology**, St. Paul, v.91, n.8, p.759-768, 2001.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. Piracicaba, POTAFOS, 2ed. 1997. 390p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2ed. San Diego: Academic Press. 1995. 889p.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidases isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant e Cell Physiology**, Tokyo, v.23, p.1091-1101, 1972.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic and reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, Orlando, v.31, p.426-428, 1959.

MOLE, S. e WATERMAN, P.G. Light-induced variation in phenolic levels in foliage of Rain-Forests plants. II. Potential significance to herbivores. **J. Chem. Ecol.** New York, v.14, p.23-34, 1988.

MOREIRA, L.M. Controle químico e biológico de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey e monitoramento de infecções latentes em frutos. Dissertação de Mestrado. Curitiba PR. Universidade Federal do Paraná. 1999.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos**: Piracicaba: FEALQ, 2005. p.139-153

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. **RAPP**, Passo Fundo, v.2, p.1-51, 1994.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed) **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, v.1, 1995. p.193-217.

STADNIK, J.M. e MARASCHIN, M. Indução de resistência de plantas a fitopatógenos. p. 221-244. In: STADNICK, J. M., TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. CCA/UFSC. Florianópolis, 2004. 293p.

STADNICK, J.M., TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. CCA/UFSC. Florianópolis, 2004. 293p.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.35, p.235-270, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E., **Fisiologia Vegetal**, 3. ed., Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p

ZAMBOLIN, L.; VENTURA, J.A. Resistência a doenças induzida pela nutrição mineral das plantas. **RAPP**, Passo Fundo, v.1, p.275-319, 1993.

6- CAPÍTULO IV- METODOLOGIA PARA PRODUÇÃO E ARMAZENAMENTO DE *Trichothecium roseum*

RESUMO

O presente experimento buscou desenvolver uma metodologia para produção do antagonista *Trichothecium roseum* em diferentes substratos e testar sua viabilidade quando mantido armazenado em ambientes com temperaturas variadas. Os substratos utilizados foram o arroz integral, casca de arroz, sorgo granífero e trigo em grão fervidos em água de torneira por 5, 10 e 20 min. e sem ferver. Em seguida foram adicionados aos mesmos BD (batata e dextrose), água destilada ou a associação dos dois produtos e autoclavados por duas vezes durante 25 min. Na seqüência os substratos foram inoculados com o antagonista e incubados a 25 °C por 7 dias. A avaliação de viabilidade do inóculo armazenado foi testada nas temperaturas: -4, 4, 15, 25 e 35 °C e a temperatura ambiente, por um período de 90 dias. Os resultados obtidos indicaram que os melhores substratos para a produção do antagonista foram o arroz, sorgo e trigo sendo que as melhores esporulações para os substratos de arroz e sorgo ocorreram quando fervidos durante 10 e 20 min e para o trigo 5 e 10 min antes da inoculação do fungo. O substrato de casca de arroz não apresentou boa esporulação, não sendo indicado para a produção do antagonista. Os substratos de arroz e trigo sem adição de BD foram eficientes na produção do antagonista demonstrando que o mesmo consegue se multiplicar sem a adição de nutrientes aos substratos. O inóculo apresentou acentuada perda de viabilidade dos conídios após 30 dias de armazenagem principalmente nas temperaturas superiores a -4 °C. O ambiente que melhor manteve a viabilidade dos conídios foi na temperatura de -4 °C onde as reduções de viabilidade foram de 17,08 % aos 30 dias, 51,14 % aos 60 dias e 64,14 % aos 90 dias, sendo que, esta temperatura pode ser facilmente conseguida em freezer de geladeira, dispensando grandes investimentos em equipamentos para conservação do antagonista por parte de seus futuros usuários.

Palavras-chave: Controle biológico, produção de inóculo, substratos, viabilidade

METHOD FOR *Trichothecium roseum* PRODUCTION AND STORAGE

ABSTRACT

The current experiment aimed at developing a methodology for production of the antagonist *Trichothecium roseum* in different substrates and also test its viability when stored in different temperatures. The substrates used were brown rice, rice hulls, grain sorghum and wheat grain boiled to tap water for 5, 10 and 20 min and not boiled. After that, the following were added: PD (potato and dextrose), distilled water or the association of the two products, and autoclaved twice for 25 min. In the sequence, the substrates were inoculated with the antagonist and incubated at 25 °C for 7 days. The evaluation of the stored inoculum viability was tested at six temperatures: -4, 4, 15, 25, 35 °C and ambient temperature, for 90 days. The results obtained showed that the best substrates for the production of the antagonist were rice, sorghum and wheat, so that the best sporulation for the rice and sorghum substrates occurred when boiled for 10 and 20 min. and for wheat, 5 and 10 min. before the fungus inoculation. The rice hulls substrate did not present enough sporulation; therefore it is not recommended this purpose. The rice and wheat substrates without PD addition were efficient in the production of the antagonist, demonstrating that it can multiply without the addition of nutrients to the substrates. The inoculum presented significant loss of conidia viability after 30 days of storage, mainly at temperatures higher than -4 °C. The best storage condition to maintain the viability of the inoculum was at temperature -4 °C, where the reductions in viability of the conidia were 17.08 % at 30 days, 51.14 % at 60 days and 64.14 % at 90 days; this temperature can easily be obtained in domestic freezers; therefore, future users do not need to make high investments in equipment for the conservation of the antagonist.

Key words: Biological control, Production of inoculum, Substrates, Viability.

6.1. INTRODUÇÃO

O crescimento da agricultura orgânica em todo o mundo é um fato concreto em busca de um sistema que atenda as exigências do consumidor por produtos isentos de resíduos tóxicos e menos poluentes ao meio ambiente. A restrição ao uso de produtos químicos para o controle de doenças das plantas na produção orgânica força os meios científicos a buscarem novas alternativas ao controle de fitopatógenos a fim de atender às necessidades dos produtores e garantir o não comprometimento deste sistema de produção. Neste sentido, o controle biológico baseado no uso de microorganismos antagonistas para o controle de doença das plantas vem sendo exaustivamente pesquisado em todo o mundo (OGAWA, 1995; OOIJKAAS et al., 1998; STADNIK e TALAMINI, 2004).

Atualmente diversos antagonistas vem sendo utilizados no controle de doença das plantas como é o caso de *Trichoderma spp.* para controle de patógenos do solo, *Hansfordia pulvinata* (Berk. e M.A. Curtis) S. Hughes, para controle do mal-das-folhas da seringueira, *Acremonium sp.* para controle da lixa-do-coqueiro e *Gliocadium roseum* Bainier, para o controle de *Botrytis spp.* em morangueiro, entre outros (BETTIOL, 1991; BETTIOL e GHINI, 2004).

Na escolha de um antagonista, algumas características importantes devem ser observadas como: a sua rapidez em se instalar e crescer no meio a que foi inoculado, estabilidade e esporulação rápidas, capacidade de sobrevivência no meio onde se encontram os patógenos a serem controlados, não devem ser fitopatogênicos, devem ter propriedades que facilitem sua aplicação na superfície das plantas ou solo e ainda ser facilmente cultivado em meios disponíveis de modo que grandes quantidades de inóculo possam ser produzidas a baixo custo (BETTIOL, 1991).

Após a seleção o antagonista deve ser submetido a testes *in vitro* e *in vivo*, para sua validação (BETTIOL, 1991). Vencidas estas etapas torna-se necessário o desenvolvimento de uma metodologia de produção do inóculo em alta escala a fim de facilitar sua utilização efetiva em campo. Algumas metodologias para produção de antagonistas específicos já foram desenvolvidas e são conhecidas como é o caso do *Trichoderma sp.* produzido em semente de sorgo sacarino e arroz, *Epicoccum nigrum* Link, em substratos de vermiculita, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., em substrato de sorgo, *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan, em sementes de trigo e outros (LEONI e GUINI, 2003; LARENA et al., 2004; COSTA e COSTA, 2004; BETTIOL e GUINI, 2004).

O fungo *Trichothecium roseum* (Pers.) Link é um fungo residente em pomares de pessegueiro, capaz de desenvolver-se saprofiticamente o que lhe garante a sobrevivência em restos de cultura, restos de animais em decomposição e sobre frutos em decomposição

ou mumificados. Este fungo foi observado nos Estados Unidos, sobre frutos mumificados de pêssegos e nectarinas *Prunus persica* (L.) Batsch var. *nucipersica* provenientes de pomares comerciais (HONG e MICHALIDES, 1997).

No Brasil, o fungo *T. roseum* (isolado UFPR-F4) foi obtido de frutos de pêssegos e ameixas *Prunus salicina* Lindley, provenientes de pomares convencionais em trabalho de pesquisa realizado em 1997 na Universidade Federal do Paraná e submetido a testes *in vitro* de antibiose, hiper-parasitismo e influência da temperatura os quais demonstraram eficiência do antagonista no controle da *Monilinia fucticola* (G. winter) Honey, (MOREIRA, 1999; MOREIRA, 2005). A mesma autora testou *in vivo*, dois isolados de *Trichothecium* os quais proporcionaram um controle superior a 85 % de lesões latentes em frutos de pêssogo (MOREIRA et al., 2002). Novos testes feitos em campo utilizando fungicidas comerciais alternados ou não com o antagonista *T. roseum* e fosfitos de CaB e K, demonstraram controle da podridão parda de 44,7 a 88 % em relação a testemunha quando aplicados durante a floração e desenvolvimento dos frutos (MOREIRA e MAY DE MIO, 2006).

Em trabalho mais recente, em pomar de pessegueiro em cultivo orgânico no Estado de Santa Catarina foi testado o antagonista *T. roseum* para controle da podridão parda nas cultivares Granada e Chimarrita nos anos de 2004 e 2005, cujos resultados apresentaram redução da doença de até 95 % em flores e de 76.6 % em frutos verdes comparadas à testemunha (NEGRI et al., 2005).

O cultivo do fungo *T. roseum* para uso nos trabalhos desenvolvidos nestes últimos anos foi basicamente em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e posteriormente inoculados em substrato de grãos de trigo conforme metodologia adotada por MOREIRA (2005) cujo inóculo tinha como objetivo a aplicação imediata.

Na tentativa de encontrar formas simples de produção e armazenagem do antagonista *T. roseum* visando atender às necessidades dos produtores de pêssogo em utilizar o controle biológico como uma estratégia de manejo da podridão parda, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento de uma metodologia de produção desse antagonista avaliando condições de armazenamento e viabilidade em diferentes substratos, facilmente encontrados e de baixo custo.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1. Obtenção do antagonista *Trichothecium roseum*

O fungo *T. roseum* (isolado UFPR F4) foi isolado em trabalho de pesquisa com controle biológico realizado em 1997 junto ao Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças da Universidade Federal do Paraná onde passou por testes de antibiose e hiperparasitismo para avaliar sua atividade antagônica (MOREIRA et al., 2002). A multiplicação do isolado foi feita em placas de Petri contendo meio de cultura BDA e incubados a 25 °C durante sete dias. Algumas placas de Petri colonizadas pelo antagonista foram transferidas para o Laboratório de Fitopatologia da Epagri em Santa Catarina, onde o trabalho de produção do inóculo foi desenvolvido.

6.2.2. Produção do inóculo de *Trichothecium roseum*

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da estação experimental da Epagri no município de Ituporanga – SC. A multiplicação do fungo foi feita *in vitro* retirando-se discos de 0,5 cm de diâmetro de BDA contendo o fungo *T. roseum* em pleno desenvolvimento e transferidos para o centro de placas Petri e em seguida incubadas por 10 dias a uma temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas. Para o preparo do inóculo, foram utilizados os substratos de arroz integral descascado, casca de arroz, sorgo granífero e trigo em grão. Todos os substratos foram submetidos a fervuras em água de torneira nos tempos de: 5, 10 e 20 min e sem ferver, antes de serem autoclavados e em seguida distribuídos em vidros de conserva com 200 g de substrato em cada vidro. Cada um dos substratos foi sub-dividido em quatro tratamentos (T1, T2, T3 e T4) com quatro repetições por tratamento, ou seja, quatro vidros com 200 g de substrato, num total de 16 tratamentos (54 vidros). Estes tratamentos receberam 10 mL de BD (batata + dextrose) ou de água de torneira antes de serem autoclavados e mais 10 mL junto com o fungo no momento da inoculação, da seguinte forma: T1, (BD + BD); T2, (BD + água); T3, (água + BD) e T4, (água + água).

Todos os tratamentos foram tinalizados em autoclave por 25 min e em seguida em câmara de fluxo laminar foi adicionado o conteúdo de uma placa de Petri com meio totalmente colonizado pelo fungo para cada vidro (repetição). Após a inoculação, os vidros foram agitados manualmente para homogeneizar o substrato com o fungo e incubados a 25 °C por sete dias com 12 horas de luz e 12 horas no escuro.

Para avaliar o efeito dos tratamentos, a concentração foi determinada em câmara de Neubauer diluindo-se 50 g do inóculo por repetição de cada tratamento em 1 litro de água. A viabilidade dos esporos foi avaliada adicionando-se 0,3 mL da solução sendo feito 4 placas de Petri (40 x 10 mm) com AA (Ágar+água) e em seguida incubadas a 25 °C no escuro por 12 horas. Na sequência foram contados os primeiros 25 esporos de cada placa, totalizando

100 esporos por repetição de cada tratamento e, considerado viáveis aqueles em que o pró-micélio era maior que o maior diâmetro do esporo.

6.2.3. Armazenamento e conservação

Para os testes de armazenamento o inóculo foi produzido em substrato de sorgo e trigo, considerando que estes foram os melhores nos testes de concentração e germinação feitos anteriormente. Estes substratos foram fervidos por 10 minutos adicionando-se somente água ao substrato (tratamentos 4). Em seguida selecionou-se o substrato de sorgo por ter apresentado maior concentração de conídios, o qual após ser homogeneizado foi distribuído em vidros de conserva com 100 g em cada vidro e separados em seis amostras com quatro repetições. Posteriormente, as amostras foram armazenadas nas condições de temperatura ambiente (prateleira), freezer de geladeira (-4 °C), geladeira (4 °C), BOD a 15, 25 e 35 °C sendo colocada uma amostra com quatro repetições em cada local. Foram avaliadas as concentrações e viabilidade do inóculo no primeiro dia antes do início do armazenamento e após aos 30, 60 e 90 dias. Para avaliar a concentração diluiu-se 5 g de inóculo de cada vidro em 100 mL de água e observada em câmara de Neubauer. A viabilidade dos esporos foi determinada adicionando-se 0,3 mL de cada solução em quatro placas Petri (40 x 10 mm) contendo AA (Ágar-água) e incubadas a 25 °C por 12 horas no escuro. Eram contados 25 esporos de cada placa (100 esporos por repetição) com auxílio de microscópio óptico considerando-se viáveis aqueles em que o pró-micélio era maior que o maior diâmetro do esporo. A porcentagem de esporos viáveis foi obtida pelo somatório das quatro placas avaliadas de cada repetição.

6.2.4. Análise estatística

Os dados de concentração foram apresentados em conídios $\times 10^5/\text{mL}$ e a viabilidade dada em porcentagem. Estes dados foram transformados em índices pelo produto entre conídios $\times 10^5/\text{mL} \times \%$ de germinação, o qual foi utilizado para análise estatística para a determinação do melhor tratamento na produção do inóculo. A melhor condição de armazenagem do inóculo foi determinada pelas melhores taxas de concentração e viabilidade de conídios presentes no inóculo ao longo do tempo. Após teste de normalidade, houve necessidade de transformação dos dados de concentração e os índices em $\sqrt{x} + 1$ e os dados de viabilidade não transformados. A análise estatística foi realizada utilizando-se análise fatorial pelo programa Estatística[®] 6.0 e as análises paramétricas com ANOVA e em caso de significância aplicou-se o teste de Duncan e Scott-Knott a 5 % de significância, através do programa SASM-Agri[®] versão 8.0 (CANTERI et al., 2001).

6.3. RESULTADOS

A análise fatorial dos dados demonstrou que houve significância a 1 % entre os substratos, entre os tratamentos e a interação entre substratos e tratamentos. Para as interações dos tempos de fervura entre os substratos e os tratamentos ocorreu significância a 5 %. Não houve significância para os tempos de fervura dos substratos bem como a interação destes tempos com os substratos e tratamentos (Tabela 6.1).

Tabela 6.1 – Análise fatorial entre os substratos, tratamentos e tempos de fervura para produção de inóculo de *Trichothecium roseum*.

CAUSAS	G.L.	Q.M.	F
Substratos (A)	3	15117,31	11,4134 **
Tratamentos (B)	3	21317,38	16,0944 **
Tempo Fervura (C)	3	1086,676	0,8204 ns
Interação AXB	9	10189,41	7,6929 **
Interação AXC	9	2948,576	2,2261 *
Interação BXC	9	2814,752	2,1251 *
Interação AXBXC	27	2033,667	1,5354 ns
Tratamentos	63	4937,265	3,7276 **
Blocos	3	860,4923	0,6497 ns
Total	120		

(A) = Arroz integral, casca de arroz, Sorgo e Trigo em grão. (B) = Tratamentos com adição de 10 mL de BD ou água antes ou após autoclavar os substratos, sendo: T1 (BD+BD); T2 (BD +água); T3 (água+BD); T4 (água+água). (C) = Tempos de fervura dos substratos antes de autoclavar (zero, 5, 10, e 20 min). * Significativo (5 %), ** Significativo (1 %)

De um modo geral, os tratamentos não submetidos a fervuras antes da inoculação do fungo comparados aos fervidos apresentaram concentração mais baixas de conídios ficando estas entre $0,2$ e $3,6 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹, com exceção para os substratos de sorgo, tratamento 3 e arroz, tratamentos 4 que, apresentaram respectivamente concentrações de $6,1$ e $8,1 \times 10^5$ conídios.mL⁻¹ (Tabela 6.2).

As concentrações do fungo aumentaram nos substratos fervidos por 5 minutos, menos no arroz. Neste caso, os substratos de trigo apresentaram de $6,9$ a $13,6 \times 10^5$

conídios.mL⁻¹ sendo que os tratamentos 3 e 4 foram estatisticamente significativos em relação aos demais, tendo apresentado 9,9 e 13,6 x 10⁵ conídios.mL⁻¹ respectivamente (Tabela 6.2).

Os substratos fervidos por 10 minutos apresentaram no conjunto os melhores resultados em relação aos demais tempos de fervura, exceto para casca de arroz. As maiores concentrações pela ordem foram obtidas para o trigo (tratamento 4) com 14,6, arroz 4 com 12,7, sorgo 1 com 11,1, arroz 1 com 10,8, sorgo 2 com 8,9, sorgo 3 com 8,0 e sorgo 4 com 6,9 x 10⁵ conídios.mL⁻¹. Para o tempo de 20 minutos de fervura, o tratamento 2 com substrato de arroz e os tratamentos 2 e 3 com sorgo foram estatisticamente superiores aos demais, tendo apresentado 13,5, 6,1 e 8,3 x 10⁵ conídios.mL⁻¹ respectivamente (Tabela 6.2).

Na avaliação da germinação dos conídios, observou-se que nos substratos não fervidos, o tratamento 2 com arroz diferiu sobre os demais apresentando taxa de 69,5 %. Os melhores resultados foram obtidos com os tratamentos em sorgo os quais apresentaram de 94 a 96,5 % de germinação embora não tendo diferindo estatisticamente dos demais.

Para o tempo de 5 minutos de fervura dos substratos, todos os tratamentos com sorgo e trigo e o tratamento 4 com arroz diferiram dos demais com 76,50 a 97,25 % de germinação (Tabela 6.2).

Para os substratos fervidos por 10 min, todos os tratamentos com sorgo e trigo apresentaram resultados positivos sobre os demais com 96 a 98,75 % de germinação sendo os melhores o tratamento 4 com trigo (98,75 %) e o 2 com sorgo (98,25 %). Os tratamentos 1 e 2 com arroz, também foram eficientes embora com valores inferiores ao sorgo e trigo tendo apresentado respectivamente 85 e 85,75 % de germinação (Tabela 6.2).

Para os substratos fervidos durante 20 minutos, somente os tratamentos com sorgo e o tratamento 1 com arroz foram eficientes apresentando 83,5 a 92 % de germinação. Os tratamentos feitos com casca de arroz e os tratamentos 3 e 4 com arroz quando fervidos por 10 e 20 minutos apresentaram uma acentuada redução de germinação de conídios em relação aos demais substratos e tratamentos (Tabela 6.2).

Tabela 6.2 – Concentração e germinação de conídios de *Trichothecium roseum* produzidos em diferentes substratos e submetidos a tratamentos com BD (batata + dextrose) ou água e fervidos em tempos diferentes. Ituporanga, SC, 2006.

Substratos e tratamentos *	Concentração (conídios X 10 ⁵)				Germinação (média %)			
	Tempo de fervura dos substratos (min)				Tempo de fervura dos substratos (min)			
	ZERO	5	10	20	ZERO	5	10	20
Arroz Integral 1	2,1 b	0,2 c	10,8 a	3,2 b	95,00 a	22,00 b	85,00 b	83,50 a
Arroz Integral 2	2,4 b	0,3 c	3,1 b	13,5 a	69,50 b	20,75 b	85,75 b	70,25 b
Arroz Integral 3	0,2 b	0,5 c	4,8 b	3,9 b	81,25 b	28,50 b	62,75 c	64,50 b
Arroz Integral 4	8,1 a	1,5 c	12,7 a	2,6 b	93,75 a	87,00 a	54,00 d	57,25 b
Casca de arroz 1	2,0 b	1,3 c	0,6 b	0,2 b	89,00 a	50,00 b	62,25 c	14,50 d
Casca de arroz 2	0,5 b	0,9 c	0,6 b	0,1 b	84,00 b	23,00 b	50,25d	21,75 d
Casca de arroz 3	1,1 b	0,5 c	0,6 b	0,5b	79,50 b	33,50 b	47,25 d	11,75d
Casca de arroz 4	0,9 b	1,2 c	0,5 b	0,8 b	84,25 b	40,75 b	54,00 d	30,75 c
Sorgo 1	3,6 b	4,1 c	11,1 a	1,8 b	96,00 a	97,25 a	96,75 a	92,00 a
Sorgo 2	1,0b	4,3 c	8,9 a	6,1 a	94,00 a	89,25 a	98,25 a	86,00 a
Sorgo 3	6,1 a	1,0 c	8,0 a	8,3 a	95,75 a	76,50 a	97,25 a	89,25 a
Sorgo 4	2,0 b	1,3 c	6,9 a	3,0 b	96,50 a	91,25 a	97,50 a	83,75 a
Trigo 1	0,6 b	6,9 b	5,4 b	0,3 b	85,50 b	93,50 a	96,00 a	53,75 b
Trigo 2	0,3 b	7,1 b	3,0 b	0,4 b	80,5,0 b	88,25 a	96,50 a	58,00 b
Trigo 3	1,0 b	9,9 b	4,6 b	0,7 b	85,75 b	87,00 a	96,50 a	44,00 c
Trigo 4	0,4 b	13,6 a	14,6 a	1,2 b	80,25 b	80,25 a	98,75 a	39,50 c
Médias	2,0	3,4	6,0	2,9	86,91	61,67	79,92	56,28
CV (%)	8,16	9,21	16,99	13,6	11,78	30,21	9,59	17,16

Os dados seguidos verticalmente pela mesma letra, não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5 % de probabilidade de erro. * Tratamentos: 1= (BD+BD), 2= (BD+ÁGUA), 3= (ÁGUA+BD), 4= (ÁGUA+ÁGUA).

Os índices obtidos pelo produto entre conídios $\times 10^5/\text{mL}$ e % germinação do fungo permitem uma avaliação mais completa do desempenho dos tratamentos. Avaliando os substratos separadamente, verificou-se significância nos resultados segundo os tratamentos e tempos de fervura, sendo: para o arroz, T4 (não fervido), T1 e T4 (10 min), T2 (20 min) com valores entre 685,8 a 946,6; para o sorgo, T3 (não fervido), T1, T2, T3 e T4 (10 min), T2 e T3 (20 min) cujos valores foram de 513,6 a 1069,1 e para o trigo, T3 e T4 (5 min), T1, T3 e T4 (10 min), com valores entre 439,1 a 1444,2. A casca de arroz não apresentou nenhum índice significativo comparado aos demais substratos (Tabela 6.3).

Tabela 6.3 – Índices (conídios $\times 10^5/\text{mL}$ \times % germinação) obtidos na produção de *Trichothecium roseum* nos diferentes substratos, tempos de fervura e tratamentos utilizados.

Tratamentos*	Tempos de fervura dos substratos (min)				Médias
	ZERO	5 min	10 min	20 min	
Arroz Integral 1	194,8 b	4,40 c	920,1 a	265,1 b	345,0 a
Arroz Integral 2	166,8 b	6,7 c	268,0 b	946,6 a	347,0 a
Arroz Integral 3	14,2 b	15,0 c	298,1 b	248,3 a	143,9 b
Arroz Integral 4	759,4 a	130,5 c	685,8 a	148,9 b	431,1 a
Casca de arroz 1	173,6 b	65,0 c	35,8 b	2,5 b	69,2 b
Casca de arroz 2	42,0 b	21,3 c	28,9 b	2,7 b	23,7 b
Casca de arroz 3	83,5 b	15,9 c	26,0 b	5,9 b	32,8 b
Casca de arroz 4	73,7 b	48,9 c	28,4 b	23,1 b	43,5 b
Sorgo 1	348,0 a	396,3 b	1069,1 a	161,0 b	493,6 a
Sorgo 2	89,3 b	381,5 b	869,5 a	524,6 a	466,2 a
Sorgo 3	581,7 a	74,6 c	775,6 a	738,5 a	542,6 a
Sorgo 4	193,0 b	120,9 c	672,8 a	253,3 a	310,0 a
Trigo 1	51,3 b	645,2 b	513,6 a	13,4 b	305,9 a
Trigo 2	22,1 b	624,4 b	289,5 b	21,8 b	239,4 a
Trigo 3	85,8 b	861,3 a	439,1 a	29,7 b	354,0 a
Trigo 4	30,09 b	1091,4 a	1444,2 a	47,4 b	653,3 a
CV (%)	47,78	39,88	46,20	62,51	30,02

Os dados seguidos verticalmente pela mesma letra, não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-knott a 5 % de probabilidade. * Tratamentos com adição de BD (batata+dextrose) ou água aos substratos antes e após a autoclavagem, sendo: 1 (BD+BD); 2 (BD+água); 3 (água+BD) e 4 (água+água).

As médias dos índices por tratamento indicaram valores de 143,9 a 431,1 para o arroz, 23,7 a 69,2 para a casca de arroz, 310 a 542,6 para o sorgo e de 239,4 a 653,3 para o trigo (Tabela 6.3).

As médias dos índices por substrato e tempo de fervura, considerando os quatro tratamentos, demonstraram que os melhores resultados foram obtidos para o trigo fervido por 5 e dez min, o arroz e sorgo fervidos por dez e 20 min (Figura 6.1).

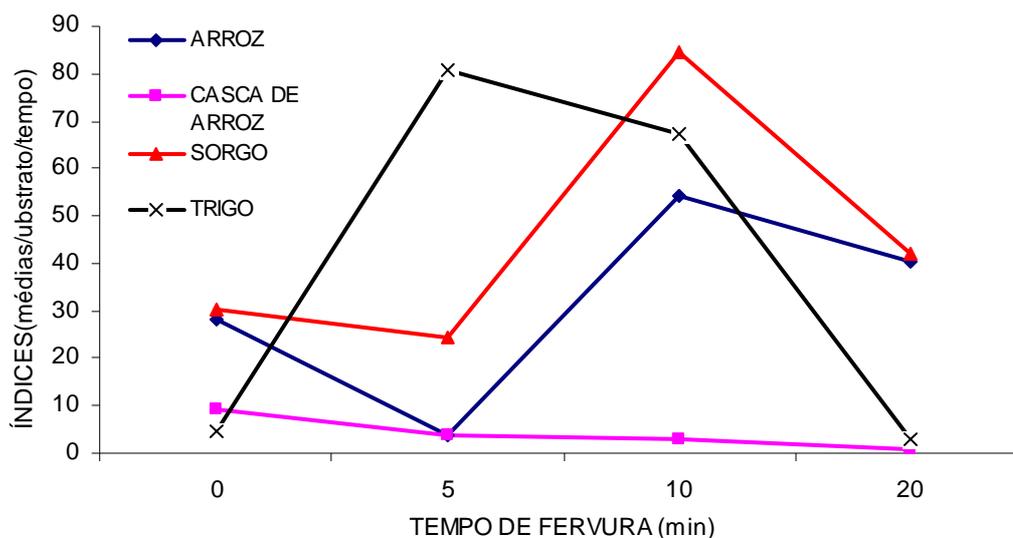


Figura 6.1 - Média dos índices (conídios $\times 10^5/\text{mL}$ e % germinação)/10 por substrato e tempo de fervura na produção de inóculo de *Trichothecium roseum*. Rio do sul, SC, 2006.

Os testes de armazenamento do fungo demonstraram que aos 60 dias houve diferença estatística na concentração de inóculo armazenado nas temperaturas de 25 e 35 °C. Para estes ambientes a concentração foi reduzida de 16,8 % e 28,4 % respectivamente aos 60 dias e de 20 e 34 % aos 90 dias em relação à concentração existente no início do armazenamento (Tabela 6.4). Considerando o período de armazenamento houve diferença estatística com redução na concentração para o inóculo armazenado a 35 °C com reduções de 10,8, 28,4 e 34 % para 30, 60 e 90 dias respectivamente (Tabela 6.4).

A germinação dos conídios submetidos ao armazenamento nas diferentes temperaturas apresentou reduções significativas a partir dos 30 dias para todos os locais. Diferenças significativas também foram observadas para todos os locais de armazenamento entre o período de 30 e 60 dias (Tabela 6.4). As melhores taxas de germinação dos conídios aos 30 dias de armazenamento foram para os locais com temperaturas de -4 e 4 °C com 74 e 29 % de viabilidade. A partir dos 60 dias, o inóculo armazenado a -4 °C apresentou o melhor resultado de viabilidade em relação aos demais, com 43,6 % aos 60 dias e 32 % aos

90 dias. A viabilidade do inóculo para as demais temperaturas a partir dos 60 dias de armazenamento foi praticamente nula (Tabela 6.4).

Tabela 6.4 – Concentração e germinação do fungo *T. roseum* produzido em substrato de sorgo e armazenado durante 90 dias em seis locais com temperaturas diferentes.

Locais	Concentração (conídios x 10 ⁶)				Germinação (%)			
	Inicial	30 dias	60 dias	90 dias	Inicial	30 dias	60 dias	90 dias
-4 °C	2,5 ns NS	2,5 ab	2,52 a	2,78 a	89,25 nsA	74,00 aB	43,60 aC	32,00 aD
Ambiente	2,50 NS	2,69 a	2,65 a	2,55 ab	89,25 A	15,00 bB	0,00 cC	0,00 cC
4 °C	2,50 NS	2,34 b	2,61 a	2,73 ab	89,25 A	29,00 abB	12,00 bC	5,00 bD
15 °C	2,50 NS	2,29 b	2,44 a	2,28 bc	89,25 A	7,31 dB	0,75 cC	0,00 cC
25 °C	2,50 NS	2,20 b	2,08 b	2,00 cd	89,25 A	2,33 eB	0,00 cC	0,00 cC
35 °C	2,50 A	2,23 bB	1,79 bC	1,65 cC	89,25 A	1,66 eB	0,00 cC	0,00 cC
CV (%)	-	7,86	8,85	12,38	-	12,43	18,7	30,96

Os dados seguidos pela mesma letra verticalmente com letras em minúsculo e horizontalmente com letras em maiúsculo, não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5 % de probabilidade.

6.4. DISCUSSÃO

Com este trabalho buscou-se uma alternativa de produção e armazenamento do fungo *T. roseum* de forma simples e econômica visando sua utilização em campo para controle biológico de fitopatógenos especialmente da podridão parda do pessegueiro, causada por *M. fructicola* em que sua atividade antagônica foi comprovada (MOREIRA, 1999; MOREIRA, 2005; NEGRI et al., 2005). Neste sentido, uma das preocupações foi com a escolha de substratos facilmente encontrados na região e de baixo custo, daí, a escolha pelos substratos de arroz, casca de arroz, sorgo e trigo.

O uso de substratos como trigo e sorgo na produção de inóculos de fungos já foram testados (HARTMAN et al., 1997; GÁSPERI et al., 2003; LEONI e GUINI, 2003; COSTA e COSTA, 2004). Como exemplo, podemos citar a produção de *Trichoderma sp.* em grãos de arroz para controle de *Pythium*, *Sclerotinia* e *Rhizoctonia* no tombamento de mudas de fumo e de *Crinipellis pernicios* (stahel) Singer, para controle da vassoura-de-bruxa do cacauero, em grãos de sorgo sacarino para controlar *Phytophthora cactorum* (Lambert e Cohn) J. Schröt, causadora da podridão da raiz da macieira e em grãos de milho para controle de

Fusarium, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* e *Sclerotium* nas culturas de feijão, algodão, soja e milho (BETTIOL e GUINI, 2004).

Quanto às temperaturas para o armazenamento do inóculo, optou-se por algumas facilmente encontradas nas propriedades como é o caso de freezer de geladeira (-4 °C), geladeira (4 °C) e temperatura ambiente, nas quais verificou-se bons níveis de viabilidade do fungo quando mantido armazenado por até 30 dias. Trabalho semelhante, com bons resultados nas temperaturas ambiente, 4 °C e 22 °C foi realizado na produção de *Penicillium frequentans* Westling, em diferentes formulações e armazenado durante um ano (GUIJARRO, et al., 2007). A conservação de inóculo nestas temperaturas requer baixo custo de equipamento e conseqüentemente baixo capital de investimento. De acordo com CASTILHO et al. (2000) estes fatores são importantes para a produção em alta escala de um antagonista.

Observando-se os tempos de fervura dos substratos e as concentrações do inóculo, observou-se que os substratos mais resistentes como o arroz integral e o sorgo, quando submetidos a um tempo maior de fervura, antes da inoculação resultam em maior concentração de conídios. Da mesma forma, aqueles que se desintegram mais facilmente como é o caso do trigo, não podem ser fervidos por muito tempo, pois resultam num substrato compactado e com baixa concentração de conídios. A provável causa destas ocorrências pode estar relacionada ao grau de firmeza do substrato o qual dificulta a fixação e retirada de nutrientes pelo fungo e conseqüentemente à redução na oxigenação uma vez que a presença de oxigênio é um fator importante para a sobrevivência do fungo (AGRIOS, 1997; RAVEN et al., 2001; CHEIDA, 2002).. Os melhores resultados com trigo foram obtidos quando fervidos por 5 e 10 min e para o sorgo, quando fervidos por 10 e 20 min. Resultados semelhantes podem ser comparados aos de GÁSPERI et al. (2003) os quais conseguiram bons resultados na produção de *Fusarium solani* f. sp. *glycine* Roy, em substrato de sorgo após permanecer por uma noite imerso em água. Diante destes fatos, verifica-se que o tempo de fervura inicial de um substrato depende de sua maior ou menor resistência, assim sendo, vários testes são necessários para se encontrar o ponto ótimo de fervura ou não de um substrato a fim de que o mesmo torne-se mais eficiente ao desenvolvimento de um tipo específico de antagonista.

Os tratamentos com BD (batata + dextrose) e água no substrato tiveram a finalidade de avaliar a necessidade ou não de se adicionar nutrientes ao substrato para favorecer a esporulação do patógeno. Constatou-se que os melhores resultados obtidos com o substrato de arroz e trigo foram para os tratamentos 4 aos quais não foi adicionado BD, o que demonstra a capacidade do fungo em esporular em meio pobre possivelmente como fator de preservação da espécie na natureza. Este fator é importante para a redução no

custo de produção e a continuidade do fungo no ambiente natural. Resultados semelhantes foram obtidos por COSTA e COSTA (2004) que conseguiram produzir inóculo de *F. solani* em substrato de sorgo autoclavado com 60 mL de água para cada 100 g de sorgo. Da mesma forma, LEONI e GUINI, (2003) obtiveram boa produção de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan, em sementes de trigo autoclavadas somente com água estéril. O fungo *Clonostachys rosea* reclassificado de *Gliocladium roseum* (Link:Fr) Schroers, Samuels, Seifert e W. Grams, antagônico a *Botrytis cinerea* Pers., em morango foi produzido somente em grãos de arroz branco, com obtenção de concentrações de $1,1 \times 10^8$ com 15 dias de incubação a 24 °C e de até $3,4 \times 10^9$ quando produzido em frascos de vidro por 60 dias com 46 % de umidade (VICCINI et al., 2007).

No entanto, o uso de substratos com adição de nutrientes foi utilizado com sucesso na produção de fungos, a exemplo do *Epicoccum nigrum* Link, e também de *P. frequentans*, (LARENA et al., 2004; GUIJARRO et al., 2006). A adição de nutrientes também foi benéfica na produção de *P. frequentans* e *Penicillium oxalicum* Currie e Thom (DE CAL et al., 2001). Estes resultados, embora utilizando gêneros diferentes foram contrários aos obtidos no presente trabalho para a produção de *T. roseum*. Para os demais substratos testados, não foi possível uma conclusão sobre este fator em função da variabilidade das concentrações obtidas nos diferentes tratamentos havendo a necessidade de outros testes mais específicos.

O substrato casca de arroz, não foi eficiente para produção do fungo em nenhum dos tratamentos realizados não sendo indicado para produção de inóculo de *T. roseum*. Uma explicação para este fato pode estar relacionada à excessiva falta de nutrientes deste, não havendo condições para o desenvolvimento do fungo. A necessidade de nutrientes como elemento chave nos processos de multiplicação de alguns fungos é relatada por diversos autores (WISNIEWSKI et al., 1991; JIJAKLI e LEPOIVRE, 1998; WAN e TIAN, 2002). Outro fato interessante sobre este substrato foi a observação de grande quantidade de leveduras presentes e o desaparecimento quase que total dos conídios inoculados quando o substrato foi submetido a um tempo maior de fervura.

Considere-se a concentração de inóculo por substrato a quantidade necessária para o preparo da suspensão para pulverizações em campo. Segundo MOREIRA (2005) e NEGRI et al. (2005) a concentração deve ser de 10^6 conídios/mL, sendo assim e considerando as concentrações obtidas neste experimento, seria necessário 370 g de inóculo com arroz, 450 g com sorgo e 342 g com trigo para o preparo de 100 L de suspensão, o que significa a possibilidade do preparo de grande quantidade de solução com pequenas quantidades de inóculo, o que é importante sob o aspecto prático e econômico.

A redução da produção de conídios em temperaturas mais elevadas durante a armazenagem, pode estar associada à perda de umidade durante o armazenamento nestas temperaturas e/ou a continuidade do metabolismo do fungo limitando a disponibilidade de nutrientes por competição. O aumento na concentração em alguns casos pode estar associado a possíveis diferenças casuais em função do método utilizado no preparo das soluções para as avaliações. A temperatura e umidade são fatores importantes no desenvolvimento de fungos (PELCZAR, 1996; RAVEN et al., 2001; BYRDE e WILLETTS, 1977; BLEICHER, 1997). Um trabalho para avaliar a influência da temperatura no crescimento micelial de *T. roseum* demonstrou que as temperaturas ótima, máxima e mínima para o crescimento de fungo foi de 20 a 25 °C, de 36 °C e de 4,9 °C respectivamente (MOREIRA, 2005). Estes resultados confirmam a continuidade metabólica do fungo nas temperaturas entre 4,9 e 36 °C, justificando a menor competição por nutrientes nas temperaturas de 4 e -4 °C utilizadas neste trabalho.

O problema mais grave observado durante os 90 dias de armazenamento do inóculo foi a rápida perda de viabilidade do fungo, mesmo para aqueles substratos que mantiveram a concentração inicial. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por ZAMBENEDETTI (2007) que avaliaram a germinação de urediniosporos de *Phakopsora pachyrhizi* Syd, e *P. Syd.*, em diferentes métodos de armazenamento onde foi observada reduções significativas na germinação para ambientes com temperaturas mais elevadas. Verificou-se que as temperaturas mais baixas foram mais favoráveis para a viabilidade dos conídios por mais tempo, confirmando resultados obtidos por RYAN e ELLISON (2003) com testes na conservação de *Puccinia spegazzinii* De Toni. Efeitos da temperatura e umidade como fatores básicos para a viabilidade de fungos foram reforçados por SHEIN e ROTEM (1965).

6.5. CONCLUSÕES

O arroz, sorgo e trigo, podem ser recomendados como substratos para produção de *T. roseum*.

O tempo recomendado para se ferver os substratos é de 5 a 10 min para o trigo e de 10 a 20 min para o arroz e sorgo.

A adição de BD (batata/dextrose) aos substratos não foi significativa para a produção do inóculo de *T. roseum*.

O melhor ambiente para a conservação do inóculo é na temperatura de -4 °C.

O inóculo de *T. roseum* armazenado por 90 dias a -4 °C mantêm-se com viabilidade superior a 30 %, não sendo recomendado sua armazenagem por mais tempo.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. Plant diseases caused by fungi. In: ____ **Plant Pathology**, San Diego, 4^a ed. Academic Press, p.245-406, 1997.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3^a ed. São Paulo, Ceres, 1995. 919p.
- BETTIOL, W.; GUINI, R. Métodos alternativos usados com sucesso no Brasil para o controle de doenças de plantas. P. 143-157. In: STADNICK, J. M., TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. CCA/UFSC. Florianópolis, 2004. 293p.
- BETTIOL, W. Seleção de microorganismos antagônicos a fitopatógenos. In: BETTIOL, W. (ed.) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna, CNPMA/EMBRAPA, 1991. p.223-236.
- BLEICHER, J. Doenças de rosáceas de caroço. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. ed. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3^a ed. São Paulo: Ceres, 1997. p.621-627
- BYRDE, R.J.W.; WILLETTS, H.J. Infection. In: ____ **The brown rot of fruit: their biology and control**. Oxford, Pergamon Press, 1977. p.87-110
- CANTERI, M.G.; ALTHAUS, R.A.; VIRGENS FILHO, J.S.; FIFLIOTI, 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**, Ponta Grossa, n.2, p.18-24, 2001.
- CASTILHO, I.R., POLATO, C.M.S., BARUQUE, E.A., SANT' ANNA JR., J.L., FREIRE, D.M.G., Economic analysis of lipase production by *Penicillium restrictum* in solid-state and submerged fermentations. **Biochemical Engineering Journal**, China, v.4, p.239-247, 2000.
- CHEIDA, L.E. **Biologia Integrada**. v.2. FTD Editora, ISBN: 8532249779, 2002. 352p.
- COSTA, G.R.; COSTA, J.L. da S. Influência da densidade de inóculo de *Fusarium solani f. sp. Phasioli* na severidade da podridão radicular seca do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.34, n.2, p.89-92, 2004.
- DE CAL, A., LARENA, I., MELGAREJO, P. (Inventors), Spain, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agrária y alimentaria (assignee). Procedimiento para la

producción de conidias de um fungo filamentoso em fermentación sólida. Patent number 2001100758, 2001.

GÁSPERI, A.C.; PRESTES, A.M.; COTAMILAN, L.M. Reação de cultivares de soja à podridão vermelha da raiz causada por *Fusarium solani* f. sp. *glycines* **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28 n.5 , 2003.

GUIJARRO, B.; MELGAREJO, P.; DE CLA, A. Effect of stabilizers on the shelf-life of *Penicillium frequentans* conidia and their efficacy as a biological agent against peach brown rot. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v.113, p.117-124, 2006.

GUIJARRO, B.; MELGAREJO, P.; TORRES, R.; LAMARCA, N.; USALL, J.; DE CAL, A. Effects of different biological formulations of *Penicillium frequentans* on brown rot of peaches. **Biological Control**, Orlando, v.42, p.86–96, 2007.

HARTMAN, G.L., HUANG, Y.H., NELSON, R.L. e NOEL, G.R. Germoplasm evaluation of *Glycine max* for resistance to *Fusarium solani*, the causal organism of sudden death syndrome. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, p.515-518, 1997.

HONG, C.X.; MICHAILIDES, T.J. Prune, plum, and nectarine as hosts of *Trichothecium roseum* in California orchards. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, n.1, p.112, 1997.

JIJAKLI, M.W.; LEPOIVRE, P. Characterization of an exo-beta- 1,3-glucanase produced by *Pichia anomala* Strain K, antagonist of *Botrytis cinerea* on apples. **Phytopathology**, St. Paul, v.88, p.335-343, 1998.

LARENA I.; DE CAL, A.; MELGAREJO, P. Solid substrate production of *Epicoccum nigrum* conidia for biological control of Brown rot on stone fruits. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v.94, p.161-167, 2004.

LEONI, C. e GHINI, R. Efeito do lodo de esgoto na indução de supressividade *in vitro* a *Phytophthora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, 2003.

MOREIRA, L.M. **Alternativas de controle integrado da podridão parda do pessegueiro**. 113p, 2005. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, UFPR, Curitiba.

MOREIRA, L.M. **Controle químico e biológico de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey e monitoramento de infecções latentes em frutos**. 1999, 76p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, UFPR, Curitiba.

MOREIRA, L.M.; MAY DE MIO, L.L.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; LIMA, M.L.R.Z.C.; POSSAMAI, J.C. Controle em Pós-Colheita de *Monilinia fructicola* em Pêssegos. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.27, n.4, p.395-398, 2002.

MOREIRA, L.M.; MAY DE MIO, L.L.; Efeito de fungos antagonistas e produtos químicos no controle da podridão parda em pomares de pessegueiro. **Revista Floresta**, Curitiba, UFPR, v.36, p.289-293, 2006.

NEGRI, G.; MAY DE MIO, L.L. ; WORDELL FILHO, J.A. Uso de antagonista no controle da podridão parda em pré-colheita na cultura do pessegueiro em sistema orgânico. Anais do III Congresso brasileiro de agroecologia, Florianópolis – SC. 2005. (Resumo expandido em CD-ROM).

OGAWA, J. M.; ZEHR, E. I.; BIRD, G. W.; RITCHIE, D. F.; URIU, K; UYEMOTO, J. K. ed. **Compendium of stone fruit diseases**, St. Paul: APS Press, 1995. 98p.

OIJKAAS, L.P., TRAMPER, J., BUITELAAR, R.M., Biomass estimation of *Coniothyrium minitans* in solid-state fermentation. **Enzyme and Microbial Technology**, Atlanta, v.22, p.480-486, 1998.

PELCZAR, M.J., CHANG, E.C.S., KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**, Volume II, 2ª ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 552p.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A, 2001. 906p.

RYAN, M.J.; ELLISON, C.A. Development of a cryopreservation protocol for the microcyclic rust-fungus *Puccinia spegazzinii*. **CryoLetters**, London, v.24, n.1, p.43-48, 2003.

SHEIN, R.D.; ROTEM, J. Temperature and humidity effects on uredospore viability. **Mycologia**, St. Paul, v.57, n.3, p.397-403, 1965.

STADNICK, J.M., TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. CCA/UFSC. Florianópolis, 2004. 293p.

VICINI, G.; MANNICH, M.; CAPALBO, D.M.F.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.; MITCHELL, D.A. Spore production in solid-state fermentation of rice by *Clonostachys rosea*, a biopesticide for gray mold of strawberries. **Process Biochemistry**, New York, v.42, p.275–278, 2007.

WAN, Y.K.; TIAN, S.P. Antagonistical mode of *Pichia membranefaciens* to *Rhizopus stolonifer* in wounds of peach fruit by scanning electron microscope. **Acta Bot. Sin.**, China, v.44. p.1384-1386, 2002.

WISNIEWSKI, M.; BILES, C.; DROBY, S.; MELAUGHLIN, R.; WILSON, C.; CHALUTZ, E. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast *Pichia guilliermondii*: characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. *Physiol. Mol. Plant Pathology*, San Diego, v.39, p.245-258, 1991.

ZAMBENEDETTI, E.B; ALVES, E; POZZA, E.A; VIEIRA, D. de ARAÚJO. Germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* em diferentes métodos de Armazenamento. **Summa Phytopathol**, Botucatu, v.33, n.1, 2007.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após o desenvolvimento deste trabalho algumas considerações são cabíveis em relação aos resultados obtidos no controle da podridão parda causada por *M. fructicola* na cultura do pessegueiro em sistema orgânico.

Um fato importante que merece ser destacado é o de que os tratamentos alternativos utilizados, dentre eles o controle biológico, tem eficiência diferenciada no controle do patógeno dependendo da fase da cultura, a pressão da doença e as condições climáticas existentes. Neste sentido, cabe por parte de quem utilizar estes produtos observar a evolução da epidemia em cada fase da cultura, bem como o comportamento climático a fim de que medidas de controle como a intensificação ou redução dos tratamentos sejam feitas de acordo com a situação verificada em cada fase da cultura.

O antagonista *T. roseum* apresentou resultados positivos principalmente na fase de floração tendo controlado eficazmente a doença, no entanto, a paralisação das aplicações uma semana antes da colheita em 2004, revelou problemas de podridão na colheita e pós-colheita. Com a intensificação das aplicações até um dia antes da colheita em 2006, os resultados melhoraram significativamente o que indica que por se tratar de micorganismo não patogênico e não tóxico, pode ser utilizado durante a colheita e na pós-colheita visando a melhoria de sua eficiência. Por se tratar de um fungo residente na microflora e ainda as observações obtidas em trabalhos anteriores, os quais revelaram que o *T. roseum* em mesmas condições de temperatura, tem melhor desempenho de crescimento micelial que a *M. fructicola* desenvolvendo-se nas mesmas faixas de temperatura, e que não sobrevive na temperatura do corpo humano, nos garante larga margem de segurança na sua utilização em campo antes e após a colheita.

Os resultados obtidos com os tratamentos a base de fosfitos associados ao *T. roseum* comparados como os fosfitos sem o antagonista, demonstraram que a presença do antagonista melhorou a eficiência do tratamento, indicando que o fungo tem mais capacidade de controle do patógeno que os fosfitos de CaB e de K utilizados.

A calda sulfocálcica demonstrou dar bons resultados no controle da doença podendo vir a ser mais uma alternativa de controle nas fases de floração e desenvolvimento dos frutos podendo contribuir também para a redução da doença nas fases de colheita e pós-colheita. Estudos adicionais sobre as formas do seu melhor emprego em termos de dosagens diferenciadas para cada fase da cultura e ainda seu emprego a exemplo do controle biológico nas fases de colheita e pós-colheita são indicados uma vez que, no presente trabalho foram utilizadas dosagens iguais para todas as fases e os tratamentos

suspensos uma semana antes da colheita, mesmo assim, resultados positivos na pós-colheita foram verificados em frutos provenientes de plantas tratadas com este produto.

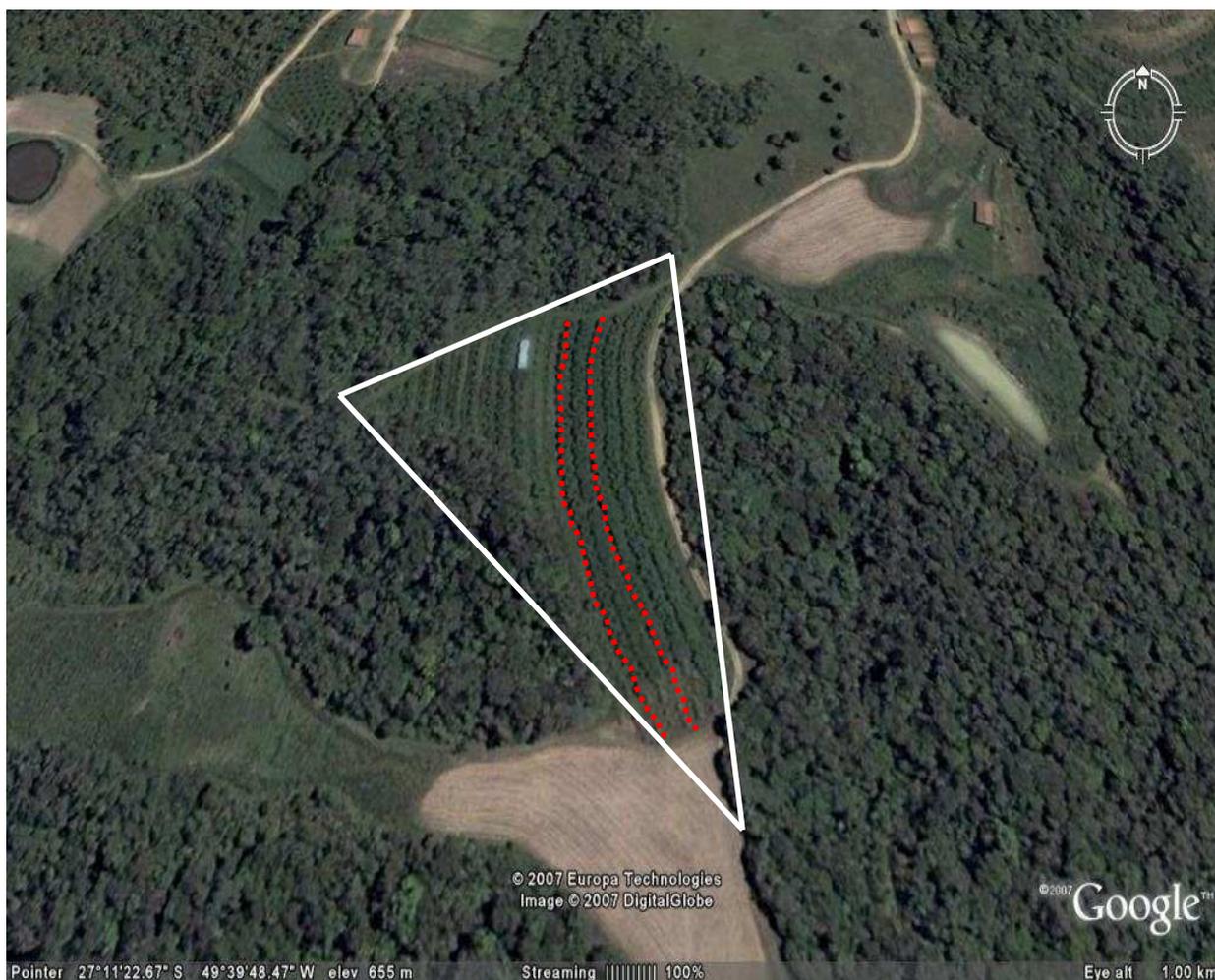
As análises bioquímicas indicaram a possibilidade de ação de indução de resistência ao patógeno na fase de floração, pela produção de proteínas ligadas à patogenicidade, e a produção de peroxidases e compostos fenólicos, sendo que a ação direta sobre o patógeno não pode ser descartada, especialmente para o antagonista uma vez que, modificações mais acentuadas na produção destes compostos foram observada em flores tratadas com calda sulfocálcica e fosfitos.

Quanto à metodologia utilizada na produção de *T. roseum*, altas concentrações foram obtidas com o uso de substratos de trigo, arroz e sorgo, submetidos a fervuras entre 5 e 20 min. para quebra de resistência dos grãos, não havendo a necessidade de adição de nutrientes aos mesmos, embora a presença destes também tenha contribuído para a produção do fungo. O melhor ambiente para a conservação do antagonista foi à temperatura de -4 °C sendo que, a partir de 30 dias até 90 dias ocorre rápida perda de viabilidade, indicando que o mesmo deve ser armazenado a esta temperatura por período não superior a 30 dias.

Novas pesquisas em área total envolvendo diferentes cultivares, fases de aplicação e dosagens dos produtos utilizados e do antagonista *T. roseum* são necessárias, inclusive com a intensificação de estudos bioquímicos para cada fase da cultura a fim de se efetivar uma estratégia eficiente de controle da podridão parda que atenda as necessidades dos produtores de pêssego em sistema orgânico.

8. ANEXOS

ANEXO 1. Localização do experimento em pomar de pessegueiro cultivado em sistema orgânico, implantado em 1998 em área da Escola Agrotécnica Federal de Rio do Sul, SC.



ANEXO 2. (A) inóculo do antagonista *Trichothecium roseum* produzido em grãos de trigo; (B) flores coletada e distribuídas em caixas plásticas (11x11x3,5 cm) tipo gerbox[®] para avaliação de *Monilinia fructicola*; (C e D) infecção latente em frutos verdes; (E) frutos pós-colheita e (F) múmias colonizadas por *T. roseum*.

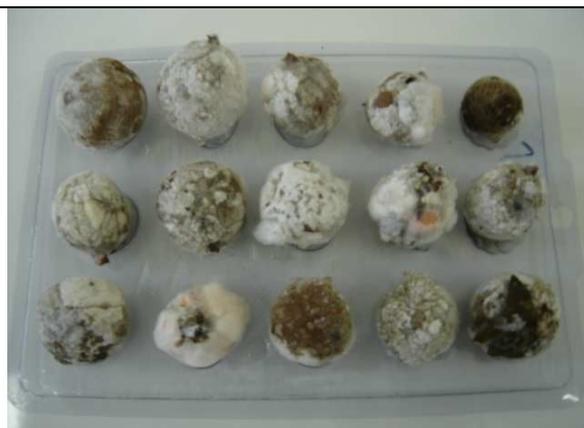
A



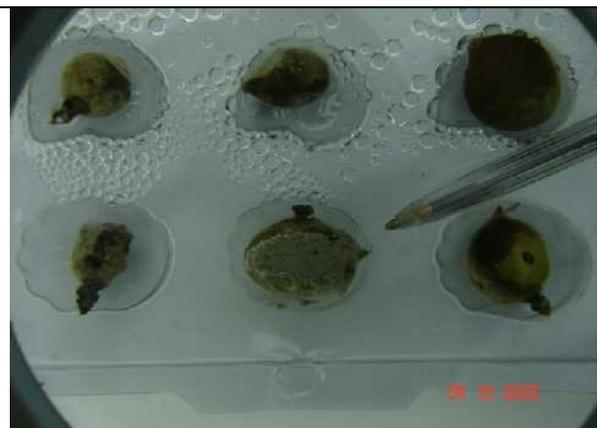
B



C



D



E



F



ANEXO 3. (A) Cultivar Granada, (B) Chimarrita na floração, (C) múmia infestada com *Monilinia fructicola*, (D) múmia sendo colonizada por *Trichothecium roseum*, (E) atividade de pulverização, (F) atividade metodológica para quebra de resistência em frutos verdes para avaliação de infecção latente.



ANEXO 4. (A e B) Atividade de análise bioquímica em flores de pessegueiro no laboratório da UFTPR- Dois Vizinhos, PR; (C) flores de pêsegueiro antes de serem incubadas, (D, E e F) Sintomas de *Monilinia fructicola* em flores de pêsego após incubação.



ANEXO 5. Produção de inóculo de *Trichothecium roseum*. (A) meio BDA, (B) trigo em grão, (C) sorgo granífero, (D) casca de arroz, (E) arroz integral, (F) Germinação de conídio de *T. roseum*.

