

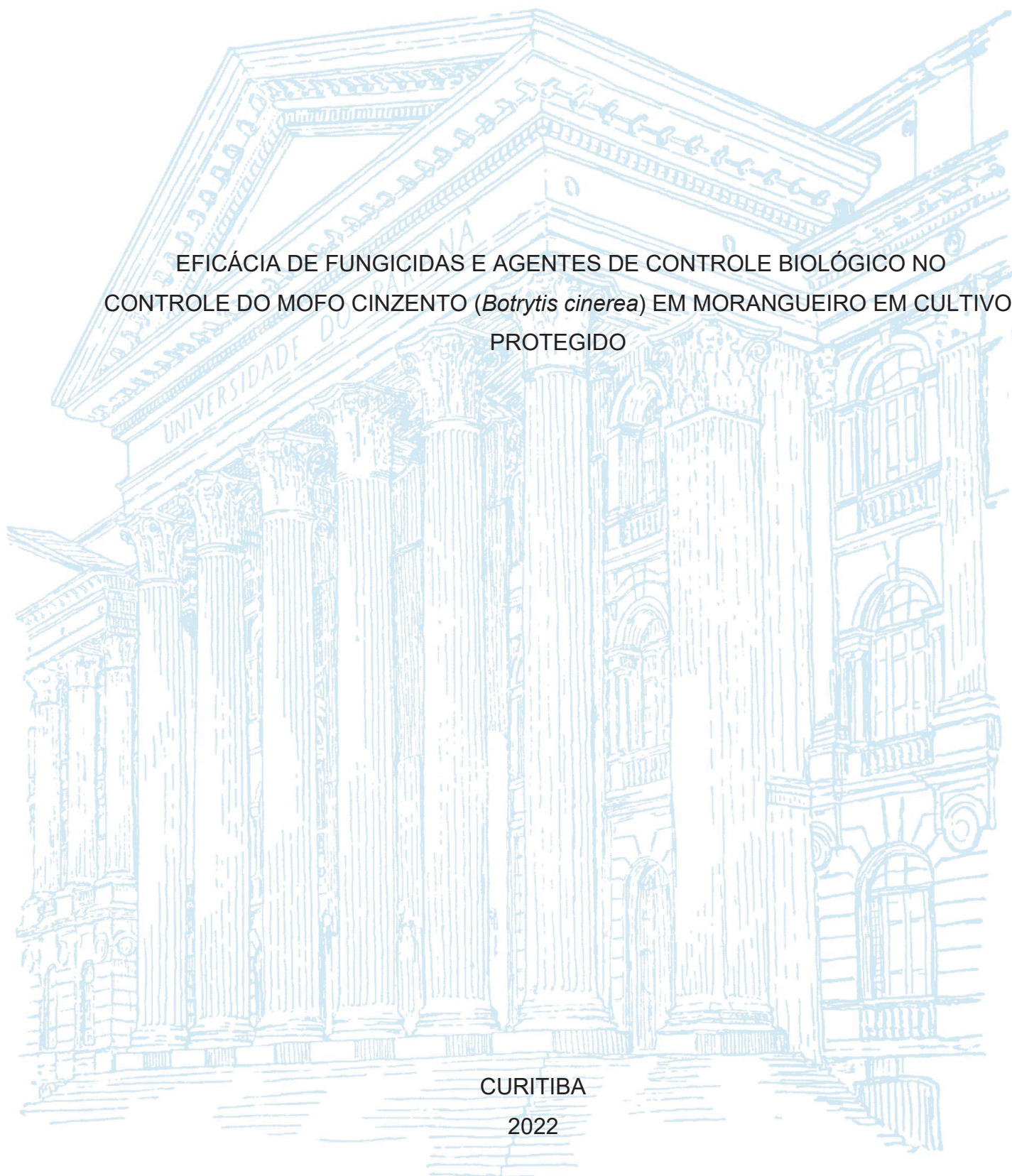
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GIOVANA BEGER

EFICÁCIA DE FUNGICIDAS E AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO NO
CONTROLE DO MOFO CINZENTO (*Botrytis cinerea*) EM MORANGUEIRO EM CULTIVO
PROTEGIDO

CURITIBA

2022



GIOVANA BEGER

EFICÁCIA DE FUNGICIDAS E AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO NO CONTROLE
DO MOFO CINZENTO (*Botrytis cinerea*) EM MORANGUEIRO EM CULTIVO
PROTEGIDO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte

Coorientadoras:

Prof^a. Dr^a. Louise Larissa May De Mio

Prof^a. Dr^a. Natalia Aparecida Peres

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Beger, Giovana

Eficácia de fungicidas e agentes de controle biológico no controle do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em morangueiro em cultivo protegido / Giovana Beger. – Curitiba, 2022.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal).

Orientador: Prof. Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte

Coorientadora: Prof^a Dr^a Louise Larissa May De Mio

Coorientadora: Prof^a Dr^a Natalia Aparecida Peres

1. Morango. 2. Bactérias. 3. Fungos. 4. Fungicidas. I. Duarte, Henrique da Silva Silveira. II. May De Mio, Louise Larissa. III. Peres, Natalia Aparecida. IV. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal). V. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **GIOVANA BEGER** intitulada: **EFICÁCIA DE FUNGICIDAS E AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO NO CONTROLE DO MOFO CINZENTO (*Botrytis cinerea*) EM MORANGUEIRO EM CULTIVO PROTEGIDO**, sob orientação do Prof. Dr. HENRIQUE DA SILVA SILVEIRA DUARTE, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 25 de Julho de 2022.

Assinatura Eletrônica

25/07/2022 12:13:14.0

HENRIQUE DA SILVA SILVEIRA DUARTE

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

29/07/2022 15:52:25.0

LOUISE LARISSA MAY-DE-MIO

Coorientador(a)

Assinatura Eletrônica

25/07/2022 11:48:41.0

NATALIA APARECIDA RODRIGUES PERES

Avaliador Externo (UNIVERSITY OF FLORIDA)

A todos que, de alguma forma, me auxiliaram para chegar até aqui,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pelos ensinamentos, por ter feito a vida tão bela.

Agradeço aos meus pais, Guino e Isabel, por entenderem quando não pude estar presente, por me apoiarem nas minhas decisões, por cederem um espaço do cultivo para que eu pudesse conduzir meu experimento. Também ao meu irmão Matheus.

Agradeço ao meu namorado, André, por me apoiar e me incentivar a continuar quando eu desanimei.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Henrique da Silva Silveira Duarte, e coorientadoras Louise Larissa May de Mio e Natália Aparecida Peres, pela orientação e ensinamentos, e os profissionais que me espelho. Aos demais professores que passaram seus conhecimentos, obrigada.

Agradeço aos amigos do laboratório que, embora tenham sido anos que passamos socialmente mais distantes, foram importantes nesta caminhada. Em especial a Juliana, que me ensinou muito desde o tempo de Iniciação Científica até o mestrado, onde na falta de estagiários, nos tornamos estagiárias uma da outra. Também, às nossas estagiárias Juliana, Isadora e Denise, por toda a ajuda na execução dos experimentos e atividades.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, por ter me dado a oportunidade desta formação.

A todos que torceram por mim, obrigada.

“Só temos certezas enquanto sabemos pouco; com o conhecimento, as
dúvidas aumentam.”

Sócrates

RESUMO

A cultura do morangueiro é bastante difundida em todo o mundo. Uma das principais dificuldades da produção é a ocorrência de doenças, dentre elas se destaca o mofo cinzento, causado pelo fungo *Botrytis cinerea*. O controle é feito principalmente por fungicidas químicos. O uso contínuo de fungicidas têm selecionado isolados resistentes, que podem ou não apresentar penalidades adaptativas, e muitos produtores têm buscado alternativas para incluir no manejo da doença. Na tentativa de contornar este problema, o controle biológico vem se difundindo em todo o mundo em diversas culturas. O presente trabalho objetivou testar em laboratório e validar em campo o uso de fungicidas e produtos biológicos para controle do mofo cinzento em morangueiro. Primeiramente, no Capítulo 1, objetivou-se avaliar a eficácia de bactérias como agentes de controle biológico do mofo cinzento *ex vivo* em condições de laboratório, comparado ao fungicida fluazinam, testando isolado do patógeno sensível a fungicidas. Foram realizados dois experimentos com o isolado sensível aos fungicidas procimidona, boscalida, fluazinam e azoxistrobina. Os produtos testados foram fluazinam como padrão químico, e outros sete produtos (Serenade, Bio-Baci, No-Nema, Bio-Imune, Bombardeiro, BTP 11-19 e BTP 135-19) com diferentes formulações com base em bactérias do gênero *Bacillus*. Para a realização dos ensaios, frutos de morango foram desinfestados, imersos em calda contendo os produtos a serem testados, posteriormente inoculados com suspensão de esporos. Foram incubados em condições favoráveis ao patógeno e avaliados durante 5 dias por incidência. Analisando a incidência final e os riscos relativos dos tratamentos, foi observado que o fungicida apresentou o melhor resultado, seguido por No-Nema e Bio-Imune, com riscos relativos de desenvolvimento da doença de 0,14, 0,51 e 0,55, respectivamente. Estes resultados mostram o potencial de uso dos produtos como agentes de controle biológico do mofo cinzento. Na sequência, no Capítulo 2, avaliou-se a eficácia de fungicidas e agentes de controle biológico no manejo de mofo cinzento em morangueiro em cultivo protegido. As avaliações foram na colheita e em pós-colheita. Plantas da cultivar Monterrey foram pulverizadas semanalmente com os produtos biológicos Serenade, *Clonostachys*, No-Nema, Bio-Imune, Bombardeiro e BTP 11-19, e quinzenalmente com os produtos químicos cujos ingredientes ativos eram procimidona, boscalida, fluazinam, ciprodinil+fludioxonil e pirimetanil. Os frutos foram colhidos, contados e pesados, a fim de calcular a incidência de mofo cinzento na colheita e estimar a produtividade. A cada 15 dias, foram levados frutos ao laboratório a fim de avaliar a incidência na pós-colheita. Frutos foram acondicionados em potes plásticos e incubados a 22°C por 5 dias e avaliados diariamente para verificar o aparecimento da doença. Os produtos foram testados em condições de infecção natural, no entanto não houve diferença entre os tratamentos na colheita. Nas avaliações de pós-colheita, o melhor tratamento foi a mistura ciprodinil+fludioxonil, seguido por pirimetanil e procimidona. Os produtos biológicos não diferiram da testemunha. Esses resultados são importantes para fornecer diretrizes aos produtores da região para o manejo de mofo cinzento do morangueiro, em especial sob cultivo protegido no sistema semi-hidropônico em slabs.

Palavras-chave: Mofo cinzento. Bactérias. Controle químico. Cultivo protegido. Pós-colheita.

ABSTRACT

The strawberry culture is widespread throughout the world. One of the main production difficulties is the occurrence of diseases, among them the gray mold, caused by *Botrytis cinerea*. The control is based mainly by chemical fungicides. The repeated use of fungicides has selected resistant isolates, and many producers have sought alternatives to include in the disease management. Aiming to bypass this problem, biological control has been spreading worldwide in several cultures. The present study aimed to test in laboratory and validate in the field the use of fungicides and biological products for the control of grey mold in strawberry. First, in Chapter 1, it was aimed to evaluate the efficacy of bacteria as biological control agents of gray mold *ex vivo* in lab conditions, compared to the fungicide fluazinam, testing an isolate of the pathogen sensitive to several fungicides. Two experiments were conducted with the sensitive isolate to the fungicides procymidone, boscalid, fluazinam, and azoxystrobin. The products tested were fluazinam as a chemical standard, and seven other products (Serenade, Bio-Baci, No-Nema, Bio-Imune, Bomber, BTP 11-19 and BTP 135-19) with different formulations based on bacteria of the *Bacillus* genus. To perform the tests, strawberry fruits were disinfected, immersed in solution containing the products to be tested, then inoculated with spore suspension and evaluated for 5 days by incidence. Analyzing the final incidence relative risk of the treatments, it was observed that the fungicide presented the best result, followed by No-Nema and Bio-Imune, with relative risks to disease development of 0.14, 0.51 and 0.55, respectively. These results show the potential of using the products as biological control agents for gray mold. Next, in Chapter 2, the efficacy of fungicides and biological control agents in the management of gray mold in strawberry in protected cultivation, at harvest and postharvest was evaluated. Plants of the cultivar Monterrey were sprayed weekly with the biological products Serenade, *Clonostachys*, No-Nema, Bio-Imune, Bombardeiro and BTP 11-19, and biweekly with the chemical products whose active ingredients were procymidone, boscalid, fluazinam, the mixture cyprodinil+fludioxonil and pyrimethanil. Fruits were harvested, counted, and weighed in order to calculate the incidence of gray mold at harvest and estimate yield. Every 15 days, fruits were taken to the laboratory in order to evaluate the incidence at post-harvest, where the fruits were packed in plastic jars and incubated at 22°C for 5 days and evaluated daily to verify the appearance of the disease. The products were tested under natural inoculum conditions, however, there was no difference between treatments at harvest. In postharvest evaluations, the best treatment was the cyprodinil+fludioxonil mixture, followed by pyrimethanil and procymidone. The biological products in general did not differ from the control. These results are important to provide guidelines to growers in the region for the management of gray mold of strawberry, especially under protected cultivation in the semi-hydroponic system in slabs.

Keywords: Gray mold. Bacteria. Chemical control. Greenhouse. Postharvest.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1– CURVAS DE PROGRESSO DA INCIDÊNCIA DO MOFO CINZENTO (<i>B. CINEREA</i>) DOS TRATAMENTOS EM FRUTOS DE MORANGUEIRO, ATÉ 5 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DOS FRUTOS COM ISOLADO SENSÍVEL A FUNGICIDAS, DOS EXPERIMENTOS 1 (A) E 2 (B). ...	39
FIGURA 2 – ESTIMATIVAS DAS CURVAS DE KAPLAN-MEIER PARA AS FUNÇÕES DE SOBREVIVÊNCIA DESCREVENDO O TEMPO PARA EXPRESSAR SINAIS DE <i>B. CINEREA</i> EM FRUTOS DE MORANGUEIRO INOCULADOS ARTIFICIALMENTE.	40
FIGURA 3 - TEMPERATURA MÉDIA SEMANAL (°C) E UMIDADE RELATIVA MÉDIA SEMANAL (%) OBTIDA DESDE O PLANTIO ATÉ O FINAL DO EXPERIMENTO.....	54
FIGURA 4 –INCIDÊNCIA ACUMULADA DE MOFO CINZENTO E EVOLUÇÃO DO NÚMERO MÉDIO DE FRUTOS COLHIDOS, DOS EXPERIMENTOS 1 (A E B) E 2 (C E D), COMPARANDO OS TRATAMENTOS QUÍMICOS (A E C) E BIOLÓGICOS (B E D).....	55
FIGURA 5 – MÉDIA DO NÚMERO DE FRUTOS DOENTES (A, B) E SADIOS (C,D) ACUMULADO POR TRATAMENTO, AO LONGO DO TEMPO, NOS EXPERIMENTOS 1 (A, C) E 2 (B, D).....	56
FIGURA 6 - INCIDÊNCIA FINAL DE MOFO CINZENTO EM FRUTOS DE MORANGUEIRO, AOS 5 DIAS APÓS CADA DATA DE COLHEITA, NOS EXPERIMENTOS 1 (A) E 2 (B).	59
FIGURA 7 – INCIDÊNCIAS GERAIS DE MOFO CINZENTO AO LONGO DO TEMPO EM MORANGOS NA PÓS-COLHEITA, DOS EXPERIMENTOS 1 (A, B, C) E 2 (D, E, F), COMPARANDO A MÉDIA NO PRIMEIRO PICO DE PRODUÇÃO (A, D), DO SEGUNDO PICO DE PRODUÇÃO (B, E) E A MÉDIA DE TODAS AS OBSERVAÇÕES (C, F).	60
FIGURA 8 - INCIDÊNCIA PONTUAL DE MOFO CINZENTO NA COLHEITA A CADA 15 DIAS, DOS EXPERIMENTOS 1 (A E B) E 2 (C E D), COMPARANDO OS TRATAMENTOS QUÍMICOS (A E C) E BIOLÓGICOS (B E D).....	80

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - NOME, INGREDIENTES ATIVOS E DOSES DE APLICAÇÃO DOS PRODUTOS TESTADOS PARA O CONTROLE DE MOFO CINZENTO EM FRUTOS DE MORANGO.....	37
TABELA 2 - RISCO ESTIMADO PARA O APARECIMENTO DE SINAIS DE B. CINEREA EM FRUTOS DE MORANGUEIRO, 5 DIAS APÓS INOCULAÇÃO ARTIFICIAL, ESTIMADOS PELO MODELO SEMIPARAMÉTRICO DE COX, SEGUIDO PELOS INTERVALOS DE CONFIANÇA DE 95%.....	40
TABELA 3 – NOME COMERCIAL, INGREDIENTES ATIVOS E DOSES DE APLICAÇÃO DOS PRODUTOS TESTADOS PARA O MANEJO DE MOFO CINZENTO EM MORANGUEIRO.	51
TABELA 4 – INCIDÊNCIA DE MOFO CINZENTO, NO PRIMEIRO E SEGUNDO PICOS DE FRUTIFICAÇÃO E INCIDÊNCIA FINAL	57
TABELA 5 - AACPD DA INCIDÊNCIA ACUMULADA DE MOFO CINZENTO E PRODUTIVIDADE DE MORANGUEIRO EM CULTIVO PROTEGIDO, AO FINAL DO EXPERIMENTO, NOS EXPERIMENTOS 1 E 2.	58
TABELA 6 - VALORES DE AACPD DA INCIDÊNCIA FINAL DE MOFO CINZENTO EM FRUTOS DE MORANGUEIRO EM PÓS-COLHEITA.....	59
TABELA 7 – VALORES DE AACPD DE TODO O EXPERIMENTO, EM PRIMEIRO PICO E SEGUNDO PICO DE PRODUÇÃO, DE MOFO CINZENTO EM MORANGOS NA PÓS-COLHEITA, NOS EXPERIMENTOS 1 E 2.	62
TABELA 8 - AACPD PONTUAL DE MOFO CINZENTO E PRODUTIVIDADE DE MORANGUEIRO A CAMPO, NOS EXPERIMENTOS 1 E 2.....	80

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	14
REFERÊNCIAS.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 O MORANGUEIRO	18
2.2 DOENÇAS DO MORANGUEIRO	19
2.2.1 Mofo Cinzento	20
2.3 CONTROLE.....	21
2.3.1 Controle Químico.....	22
2.3.2 Controle biológico.....	26
REFERÊNCIAS.....	28
3 CAPÍTULO I – EFICÁCIA DE BACTÉRIAS COMO AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO CONTRA O MOFO CINZENTO DO MORANGUEIRO POR METODOLOGIA <i>EX VIVO</i>	34
RESUMO.....	34
ABSTRACT.....	35
3.1 INTRODUÇÃO.....	36
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.3 RESULTADOS	39
3.4 DISCUSSÃO	41
3.5 CONCLUSÕES.....	43
REFERÊNCIAS.....	43
4 CAPÍTULO II – EFICÁCIA DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO E FUNGICIDAS EM CULTIVO PROTEGIDO CONTRA MOFO CINZENTO EM MORANGUEIRO.....	47
RESUMO.....	47
ABSTRACT.....	48
4.1 INTRODUÇÃO.....	49
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	51
4.3 RESULTADOS	54
4.3.1 Incidência de mofo cinzento em morangos no momento da colheita	54
4.3.2 Incidência de mofo cinzento em morangos em pós-colheita	59

4.4	DISCUSSÃO	63
4.5	CONCLUSÕES.....	66
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
	REFERÊNCIAS.....	68
	REFERÊNCIAS GERAIS	72
	ANEXOS	80

1 INTRODUÇÃO GERAL

O mofo cinzento é causado por *Botrytis cinerea* Pers. Fr., e o fungo se encontra em segundo lugar na lista dos 10 fungos mais importantes do mundo nos quesitos econômicos e científicos, devido a sua ampla gama de hospedeiros, causando injúrias tanto em colheita como pós-colheita (DEAN et al., 2012). O patógeno é o principal causador de danos em pós-colheita no mundo, incluindo a cultura do morangueiro (ROMANAZZI; FELIZIANI, 2014). Diversas partes da planta podem ser alvo da doença, como flores (XU; HARRIS; BERRIE, 2000), frutos, folhas e coroa (SUTTON, 1990). As principais fontes de inóculo são os restos culturais, frutos mumificados, escleródios, que germinam no início da primavera em regiões temperadas (WILLIAMSON et al., 2007) e, ainda, infecções quiescentes vindas com propágulos de viveiros (OLIVEIRA et al., 2017). As perdas podem ocorrer tanto no campo como nos locais de comercialização, onde o patógeno permanece quiescente nos tecidos (WILLIAMSON et al., 2007).

Alguns manejos culturais podem ser empregados a fim de reduzir a pressão da doença, como espaçamentos maiores a fim de criar um microclima menos favorável, cultivares mais resistentes a doença (LEGARD et al., 2000) ou remoção de folhas velhas e frutos doentes, com o objetivo de reduzir o inóculo no campo (MERTELY et al., 2000). Porém, estas práticas apresentam eficácia limitada. Sendo assim, o controle químico continua sendo a forma mais frequentemente empregada no controle da doença (DEAN et al., 2012).

O controle químico com a utilização de fungicidas é a principal forma de controle de mofo cinzento no mundo. Programas de aplicação de fungicidas visando o controle de *B. cinerea* no campo são feitos desde o florescimento até a colheita, sendo recomendada a aplicação de fungicidas logo na abertura das flores ou poucos dias após, para que o controle seja efetivo (MERTELY; MACKENZIE; LEGARD, 2002). Em trabalho realizado no estado do Paraná para avaliar a sensibilidade *in vitro* de *B. cinerea* aos principais fungicidas, mostrou que a porcentagem de isolados resistentes a azoxistrobina, iprodiona, procimidona, boscalida, fluazinam e difenoconazol foram de 91,0; 44; 43; 45; 32,7 e 33,3%, respectivamente, e 94,6 % dos isolados foram classificados como altamente resistentes ao tiofanato metílico. Cerca de 94% dos isolados foram considerados resistentes a pelo menos dois dos fungicidas mais utilizados, com mutações que conferem resistência completa ao

fungicida. Em ensaios com tratamento pós-colheita, com e sem inoculação do patógeno, os fungicidas fluazinam, procimidona e boscalida se mostraram eficazes no controle da doença quando se utilizou isolado do patógeno sensível aos fungicidas em relação a testemunha; sendo o primeiro, o mais eficaz dentre os demais fungicidas (MAIA et al., 2021). Com o crescente aumento da seleção de isolados resistentes aos fungicidas tradicionalmente usados, foram registrados novos fungicidas com diferentes modos de ação para reduzir a pressão de seleção. Em 2019, a mistura de fludioxonil + ciprodinil foi registrada para a cultura do morangueiro no Brasil (AGROFIT, 2022). Essa mistura contém dois ingredientes ativos de dois grupos diferentes de fungicidas, o fludioxonil (fenilpirrol) e a ciprodinil (anilinopirimidina). O fungicida pirimetanil (anilinopirimidinas) está registrado e pode ser uma estratégia para auxiliar no manejo da doença. Sendo assim, experimentos a campo são necessários para verificar a eficácia dos melhores fungicidas observados em laboratório (MAIA et al., 2021), bem como a avaliação da mistura de fludioxonil + ciprodinil e do fungicida pirimetanil.

Com o crescimento de casos de resistência de fungos a fungicidas em todo o mundo, cada vez mais torna-se necessária a procura por novos métodos de controle de doenças, como, por exemplo, o controle biológico para serem usados separadamente ou em conjunto com os fungicidas. Os agentes de controle biológico se mostraram eficazes contra o mofo cinzento em diversas culturas. Algumas espécies de *Bacillus* spp. tiveram efeito em uvas (TROTEL-AZIZ et al., 2008), peras em pós-colheita (MARI; GUIZZARDI; PRATELLA, 1996), tomates (MARI et al., 1996) e morangos, sendo promissores na pós-colheita dos frutos (ESSGHAIER et al., 2009). Outro agente de controle é o fungo *Clonostachys rosea*, mostrando eficácia em rosas, tomates e eucaliptus, (NOBRE et al., 2005), ciclâmen (KÖHL et al., 1998) e morangos, em frutos, flores e folhas, com eficácia comparável com tratamentos químicos (PENG; SUTTON, 1991; PENG; SUTTON; KEVAN, 1992; SUTTON; PENG, 1993). Sua eficácia já é comprovada a campo na cultura do morangueiro contra mofo cinzento no Brasil (COTA et al., 2008).

O controle de *Botrytis cinerea* no campo deve ser monitorado e avaliado, visto que casos de resistência do fungo aos fungicidas utilizados já é encontrada em várias regiões do Brasil. Diante disso, o presente trabalho foi dividido em dois capítulos, tendo por objetivos no Capítulo I avaliar a eficácia de bactérias como agentes de controle biológico contra o mofo cinzento do morangueiro em laboratório

por meio de metodologia *ex vivo* utilizando isolados com diferentes fenótipos de resistência a fungicidas; e no Capítulo II, avaliar a eficácia de fungicidas e agentes de controle biológico no controle do mofo cinzento do morangueiro em cultivo protegido, no sistema semi-hidroponico.

REFERÊNCIAS

AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 18/04/2022.

COTA, L. V. et al. Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. **Biological Control**, v. 46, n. 3, p. 515–522, 2008.

DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

ESSGHAIER, B. et al. Biological control of grey mould in strawberry fruits by halophilic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 3, p. 833–846, 2009.

KÖHL, J. et al. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. **Phytopathology**, v. 88, n. 6, p. 568–575, 1998.

LEGARD, D. E. et al. Effects of plant spacing and cultivar on incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 5, p. 531–538, 2000.

MAIA, J. N. et al. Gray mold in strawberries in the Paraná state of Brazil is caused by *Botrytis cinerea* and its isolates exhibit multiple-fungicide resistance. **Crop Protection**, v. 140, n. February, 2021.

MARI, M.; GUIZZARDI, M.; PRATELLA, G. C. Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. **Biological Control**, v. 7, n. 1, p. 30–37, 1996.

MARI, M. et al. Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 15, n. 8, p. 699–705, 1996.

MERTELY, J. C. et al. Comparison of sanitation and fungicides for management of *Botrytis* fruit rot of strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 11, p. 1197–1202, 2000.

MERTELY, J. C.; MACKENZIE, S. J.; LEGARD, D. E. Timing of fungicide applications for *Botrytis cinerea* based on development stage of strawberry flowers and fruit. **Plant Disease**, v. 86, n. 9, p. 1019–1024, 2002.

NOBRE, S. A. M. et al. Selection of *Clonostachys rosea* isolates from Brazilian ecosystems effective in controlling *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 34, n. 2, p. 132–143, 2005.

OLIVEIRA, M. S. et al. Sources of Primary Inoculum of *Botrytis cinerea* and Their Impact on Fungicide Resistance Development in Commercial Strawberry Fields. **Plant Disease**, v. 101, n. 10, p. 1761–1768, 2017.

PENG, G.; SUTTON, J. C. Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 13, n. 3, p. 247–257, 1991.

PENG, G.; SUTTON, J. C.; KEVAN, P. G. Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 14, n. 2, p. 117–129, 1992.

ROMANAZZI, G; FELIZIANI, E. *Botrytis cinerea* (Gray Mold). In: BAUTISTA-BAÑOS, SILVIA (Org.). **Postharvest Decay: Control Strategies**. 1st ed. Oxford: Elsevier, 2014. p. 131–146.

SUTTON, J. C. Epidemiology and management of *Botrytis* leaf blight of onion and gray mold of strawberry: A comparative analysis. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 12, n. 1, p. 100–110, 1990.

SUTTON, J. C.; PENG, G. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in Strawberry Leaves. **Phytopathology**, v. 83, n. 6, p. 615–621, 1993.

TROTEL-AZIZ, P. et al. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 21–32, 2008.

WILLIAMSON, B. et al. *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 5, p. 561–580, 2007.

XU, X.; HARRIS, D. C.; BERRIE, A. M. Modeling infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* using field data. **Phytopathology**, v. 90, n. 12, p. 1367–1374, 2000.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O MORANGUEIRO

A produção de morangos no mundo cresce a cada ano. A Food and Agriculture Organization (FAO) estima que no ano de 2020 a produção mundial chegou a 8,8 milhões de toneladas, sendo 49% da produção pertencente à Ásia, estando a China como maior produtor mundial. As Américas aparecem em segundo lugar, com os Estados Unidos e Egito em segundo e terceiro maiores produtores mundiais, respectivamente, o Brasil aparece em sétimo lugar na lista dos maiores produtores (FAOSTAT, 2022). A produção de morangos no Brasil não é grande comparada com os maiores produtores, mas cresce a cada ano. São estimadas mais de 218 mil toneladas anuais da fruta no país, sendo Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul os principais produtores (ANTUNES; BONOW, 2021).

Dentre o grupo das pequenas frutas, a cultura do morangueiro é a mais expressiva no Brasil, devido a sua alta rentabilidade, conhecimento e aceitação da fruta pelo mercado consumidor e várias formas de comercialização e processamento da fruta (FACHINELLO et al., 2011). A espécie mais cultivada atualmente é *Fragaria x ananassa* Duch., pertencente à família Rosaceae e subfamília Rosoideae, juntamente com as amoras e framboesas (HUSAINI; NERI, 2016). Botanicamente, o fruto do morangueiro é uma falsa baga; seus frutos verdadeiros são os aquênios, que ficam presos pelo receptáculo floral que, quando expandido, forma o que é comumente chamado de fruto (HUSAINI; NERI, 2016).

O morango apresenta vários aspectos positivos para o consumidor, como a presença de antioxidantes, efeitos anticarcinogênicos, rico em vitamina C e ácido fólico, e ainda efeitos na regulação do nível de açúcar no sangue (HUSAINI; NERI, 2016).

O sistema de plantio e as exigências do mercado consumidor mudaram com o passar dos anos, visando atender demandas de consumidores e produtores. Atualmente, existem no Brasil três sistemas de produção do morango: orgânico, Produção Integrada (PIMo) e convencional, que apresentam índices de rentabilidade muito próximos entre si (MADAIL et al., 2007). O cultivo convencional permite o uso de fungicidas e inseticidas químicos para o controle de pragas e doenças, além de fertilizantes também químicos (CAMARGO et al., 2011; CONTI et al., 2014),

enquanto o sistema orgânico visa a eficiência dos recursos naturais e alimentos livres de resíduos (MADAIL et al., 2007). Cada um desses dois sistemas apresenta suas características favoráveis quanto à qualidade dos frutos (ANDRADE et al., 2016). A Produção Integrada visa a combinação de práticas orgânicas com o uso de agrotóxicos, sempre em último caso no controle de pragas e doenças (CARROLL; PRITTS; HEIDENREICH, 2016). Cultivares mais resistentes a doenças (LEGARD et al., 2000), com melhor adaptabilidade ao sistema orgânico (CAMARGO et al., 2010) e tipo de muda empregada são fatores que auxiliam em maiores produtividades e qualidade de frutos do sistema orgânico (CONTI et al., 2014), embora possam ter produtividades maiores (CAMARGO et al., 2010) ou menores (CONTI et al., 2014) quando comparadas ao sistema convencional.

O tipo e qualidade das mudas de morango interferem no crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas (COCCO, 2010). No Brasil, são comercializadas mudas nacionais e importadas de viveiros na Argentina e Chile, podendo ser frigoconservadas, resfriadas de raiz nua e mudas de torrão. Mudas de raiz nua com maior diâmetro de coroa tendem a apresentar maiores produtividades, ficando atrás de mudas de torrão, que parecem não apresentar efeito quanto às diferenças de diâmetro de coroa (COCCO, 2010). Mudas importadas tendem a apresentar melhores parâmetros quanto à qualidade de frutos (OLIVEIRA; SCIVITTARO, 2006; TEIXEIRA, 2011). Mudas frescas produzem em tempo menor, porém apresentam menor produtividade quando comparadas com mudas resfriadas (CONTI et al., 2014).

O morangueiro pode ser cultivado no solo em canteiros, e em substrato, que apresenta vantagens como redução de problemas fitossanitários, possibilidade de melhor controle da fertilização e maior facilidade na higienização do produto na pós-colheita (OLIVEIRA; BELARMINO; BELARMINO, 2017). Diversos patógenos podem causar doenças no morangueiro, em ambos os sistemas, apresentando maior ou menor intensidade dependendo da cultivar, manejo adotado e condições climáticas (COSTA; VENTURA, 2006).

2.2 DOENÇAS DO MORANGUEIRO

O morangueiro é acometido por diversas doenças, que geram perdas afetando o desenvolvimento e produtividade das plantas, bem como a aparência dos

frutos, que são muito apreciados para consumo *in natura* (PARISI et al., 2016;). A maior dificuldade enfrentada na produção de morangos, relatada pelos produtores, é a incidência de pragas e doenças (HENZ, 2010). Dentre os agentes causais de doenças do morangueiro destacam-se, em maior número, os fungos (HUSAINI; NERI, 2016; REIS; COSTA, 2011).

Entre as doenças que mais causam problemas em morangueiro no mundo, destacam-se podridão de *Phytophthora*, causada por *Phytophthora cactorum*, e antracnose, causada por *Colletotrichum* ssp, sendo a mais importante o mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea* (HUSAINI; NERI, 2016).

2.2.1 Mofo Cinzento

Botrytis cinerea Persoon: Fries [teleomorfo *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel] é o agente causal do mofo cinzento no morangueiro. Pertencente ao Filo Ascomycota, Classe Leotiomycetes e Ordem Helotiales, é um patógeno necrotrófico, com uma ampla gama de hospedeiros (WILLIAMSON et al., 2007), e o mais importante dentre os causadores de podridões de pós-colheita em diversas culturas (ROMANAZZI; FELIZIANI, 2014).

O patógeno apresenta micélio ramificado e septado, hialino a amarronzado, conidióforos lisos, finos e compridos, alternadamente ou irregularmente ramificados na ponta, segurando, por meio de dentículos, os conídios, que são ovalados, hialinos ou cinzentos (AZEVEDO et al., 2020; ROMANAZZI; FELIZIANI, 2014).

As infecções podem ocorrer em campo, geralmente na época do florescimento, e o patógeno permanece quiescente até amadurecimento dos frutos, tornando-se mais importante durante o armazenamento e distribuição, onde as condições de umidade e temperatura são mais favoráveis, aliado a diminuição das defesas do hospedeiro (DROBY; LICHTER, 2007; ROMANAZZI; FELIZIANI, 2014). Os conídios podem ser dispersos por gotas de água ou correntes de ar (BRISTOW; MCNICOL; WILLIAMSON, 1986). As lesões em frutos maduros geralmente ocorrem perto do cálice, associados, em sua maioria, com pétalas mortas e estames infectados (DROBY; LICHTER, 2007).

Embora o fungo possa crescer em temperaturas de 0 a 30°C (ROMANAZZI; FELIZIANI, 2014), as condições mais favoráveis para o seu desenvolvimento são temperaturas entre 15 e 25°C e alta umidade, com aumento da incidência da doença

conforme o aumento do período de molhamento, independente da temperatura (BULGER; ELLIS; MADDEN, 1987; WILCOX; SEEM, 1994). Nas condições brasileiras, temperaturas ao redor de 20°C e alta umidade favorecem a doença, clima que coincide com o inverno e início da primavera (PARISI et al., 2016;).

Os sintomas mais comuns da doença em frutos são o aparecimento uma lesão de coloração amarronzada, não aquosa, sem bordas aparentes, seguida pelo aparecimento de uma massa cinza, correspondente ao micélio e conídios do patógeno (PARISI et al., 2016;; WILLIAMSON et al., 2007).

A principal fonte de inóculo primário são micélios do fungo presentes em folhas velhas (BRAUN; SUTTON, 1987), mas atenção especial deve ser dada a infecções vindas com propágulos de viveiros, que podem inserir populações com resistência múltipla aos fungicidas em campos de produção (OLIVEIRA et al., 2017; WEBER; ENTROP, 2017). Além disso, o patógeno pode sobreviver na forma de escleródios, que germinam no início da primavera e podem ser um potencial fonte de inóculo primário (PARISI et al., 2016; WILLIAMSON et al., 2007).

A doença ataca principalmente flores (XU; HARRIS; BERRIE, 2000) e frutos amadurecidos, mas folhas, pecíolos e estolões (WILLIAMSON et al., 2007) e coroa (SUTTON, 1990) também podem ser alvo do patógeno. Após lesionado, o tecido apresenta uma massa cinzenta, correspondente ao micélio e conídios do fungo, que servem como fonte de inóculo secundário, uma vez que o morangueiro apresenta vários ciclos de florescimento e colheita durante os meses (DROBY; LICHTER, 2007).

2.3 CONTROLE

Para o controle do mofo cinzento, podem ser empregados algumas medidas de controle cultural. O efeito do espaçamento entre plantas contribui para a diminuição na incidência da doença, por permitir melhor eficiência da colheita e cobertura de pulverizações, embora também cause efeitos negativos na produtividade e produção de frutos comercializáveis (LEGARD et al., 2000). A prática de remoção de folhas senescentes e frutos doentes também pode ser empregada (MERTELY et al., 2000). O uso de irrigação localizada em substituição da irrigação por aspersão diminui a disseminação do patógeno pela água e evita a presença de água livre (DROBY; LICHTER, 2007). Embora não haja uma cultivar

resistente a esta doença, há significativa variação na suscetibilidade das cultivares, como, por exemplo, Camarosa, que se mostra mais resistente que Sweet Charlie. No entanto, estas práticas não podem ser recomendadas como única forma de controle. Sendo assim, o controle químico continua sendo a forma mais utilizada no controle da doença no mundo (DEAN et al., 2012).

Com o surgimento de casos de resistência de fungos aos fungicidas sintéticos e o risco de resíduos nos alimentos, pesquisas são conduzidas a fim de encontrar medidas alternativas de controle de *B. cinerea* em todo o mundo, sendo que uma delas é o uso de agentes de biocontrole (ROMANAZZI; FELIZIANI, 2014). A eficácia de alguns destes agentes já é comprovada a campo em diversas culturas (KÖHL et al., 1998; NOBRE et al., 2005; TROTEL-AZIZ et al., 2008), incluindo o morangueiro (PENG; SUTTON, 1991; PENG; SUTTON; KEVAN, 1992; SUTTON; PENG, 1993) nas condições climáticas do Brasil (COTA et al., 2008).

2.3.1 Controle Químico

O controle químico com o uso de fungicidas tem sido utilizado por mais de 200 anos para o controle de doenças de plantas. Por muito tempo utilizou-se formulações à base de cobre e enxofre, ainda usados atualmente e com eficiência. Outros grupos de fungicidas como ftalaminas e ditiocarbamatos foram usados por mais de 40 anos, seguidos pela introdução de novos ingredientes ativos no fim dos anos 1960 e início de 1970, mais eficientes e alguns com atividade sistêmica, não encontrada até então. Dentre eles, encontram-se fungicidas dos grupos benzimidazol e dicarboximida. As introduções de fungicidas nos anos de 1980 foram, em sua maioria, análogos de fungicidas já existentes, enquanto na década de 1990, novos compostos foram introduzidos, dentre eles fenilpirrois e anilinopirimidinas (BRENT; HOLLOMON, 2007b).

Para *B. cinerea*, a principal forma de reduzir a incidência da doença continua sendo por pulverizações com produtos químicos, embora esta prática seja limitada pelo aparecimento de resistência por parte do patógeno e o aspecto negativo por parte dos químicos quanto à sua segurança (LEROUX, 2007).

O controle do mofo cinzento é efetivo com diversos grupos de fungicidas, dentre elas os benzimidazois, fenilcarbamatos, dicarboximidas, fenilpirrois, hidroxianilinas e anilinopirimidinas (LEROUX, 2007). No mundo, são encontradas

populações resistentes *in vitro* aos benzimidazóis, dicarboximidas, fenilpirrois, hidroxianilinas, anilino pirimidinas, inibidores da succinato-desidrogenase (SHDIs) e inibidores extracelulares de Quinona (Qols) (CHATZIDIMOPOULOS; PAPA EVAGGELOU; PAPPAS, 2013; FERNÁNDEZ-ORTUÑO et al., 2014; MYRESIOTIS; KARAOGLANIDIS; TZAVELLA-KLONARI, 2007; WEBER, 2011).

Para o controle químico de *B. cinerea*, são realizadas aplicações de fungicidas desde o início do florescimento até pouco antes da colheita. Melhores taxas de controle da doença são obtidas quando as pulverizações são feitas na antese, diminuindo seu percentual conforme as aplicações são atrasadas. Uma única aplicação de fenhexamida na antese diminuiu a incidência da doença para 4,8%, mesmo nível de aplicações semanais do mesmo fungicida a partir da antese (MERTELY; MACKENZIE; LEGARD, 2002). Duas aplicações iniciando com 10% das flores abertas, com intervalo de 6 – 13 dias, obtiveram o mesmo nível de controle que quatro aplicações entre o florescimento e a colheita, e a omissão das duas primeiras aplicações aumentou significativamente a incidência da doença com relação ao programa completo, enquanto somente aplicações em pré-colheita tiveram pouco efeito na redução da incidência da doença (WILCOX; SEEM, 1994).

Visando substituir aplicações subsequentes e semanais de fungicidas do florescimento até a colheita, na Flórida foi desenvolvido um sistema de suporte de decisão para a aplicação de fungicidas, chamado Strawberry Advisory System (StAS), baseado no monitoramento de dados meteorológicos e prevendo o risco de incidência da doença (baixo médio ou alto). Quando o risco for considerado médio para alto, o produtor pode responder um questionário sobre produtos anteriormente utilizados e estágio fenológico da cultura, e a ferramenta gera uma resposta de aplicação ou não de fungicidas, e caso aplicável, de fungicida de contato ou sistêmico. A principal vantagem dessa ferramenta é de que o produtor poderá fazer a pulverização somente quando há o risco de desenvolvimento da doença, reduzindo o custo de produção e o número de aplicações durante o ciclo da cultura, sem comprometer o controle da doença e a produtividade (PAVAN et al., 2009).

O uso do StAS pode reduzir em até 50% o número de aplicações de fungicidas durante o período produtivo, sem prejuízos à produtividade da cultura (CORDOVA; AMIRI; PERES, 2017). Esta ferramenta também se mostrou efetiva em outros locais dos Estados Unidos, como em Ohio, onde a incidência da doença diminuiu de 27,1% para 2,5% nos tratamentos em que se utilizaram fungicidas sítios-

específicos em períodos de alto risco, com redução de até quatro aplicações quando comparada com aplicações semanais do florescimento até a colheita (CORDOVA et al., 2018).

Em muitos países, plantas de morango são cultivadas sob cultivo protegido, a fim de evitar a presença de água livre nas folhas por muito tempo, em decorrência de chuvas ou orvalho. Em experimento realizado na China, em morangos cultivados sob cultivo protegido, foram realizadas aplicações a cada cinco dias de forma repetida do mesmo fungicida, por quinze dias (3 aplicações), ou de forma alternada, por trinta dias (6 aplicações, três de cada fungicida). Procimidona apresentou Limite Máximo de Resíduos (LMR) acima do permitido de acordo com a União Europeia, após cinco dias decorridos de sua aplicação, e ciprodinil apresentou LMR acima do permitido em todas as legislações comparadas, após a segunda aplicação feita de forma repetida, e a terceira de forma alternada, concluindo que, nos intervalos testados, o número máximo de aplicações deste fungicida em cultivos protegidos é de um e dois, de forma isolada e alternada, respectivamente (WANG et al., 2021). Em comparação com outras pequenas frutas (amora, groselha, groselha preta e framboesa) cultivadas em sistema a céu aberto, frutos de morango cultivados em sistema protegido apresentaram os maiores números de resíduos detectados e maiores concentrações de substâncias fotolábeis. Isso possivelmente se deve a alteração da incidência de luz dentro dos cultivos protegidos, alterando a dinâmica de degradação dos produtos químicos (ALLEN et al., 2015).

Além de pulverizações com fungicidas durante o período da cultura, também produtores utilizam o método de imersão de mudas de raízes nuas em solução com fungicida, antes do plantio, a fim de reduzir a pressão do inóculo primário. Este método se mostra efetivo contra podridão da coroa e raízes, causados por *Colletotrichum acutatum*, em morangos (MERTELY; SEIJO; PERES, 2010), mas não apresenta o mesmo efeito contra *Botrytis cinerea*, em que os tratamentos com fungicidas, produtos biológicos e o controle não diferiram entre si (OLIVEIRA et al., 2018).

Botrytis cinerea é considerado um patógeno de alto risco para o desenvolvimento de resistência (FRAC, 2019). Ao classificar um patógeno quanto ao seu risco de desenvolvimento de resistência, são levados em consideração alguns fatores como a duração do ciclo, a quantidade de esporulação e a rapidez e distância com que os esporos são dispersos; no entanto, cada combinação

patógeno-fungicida deve ser considerada separadamente. Se o clima de uma localidade e os tratos culturais praticados no campo tenderem a não favorecer a dispersão de inóculo e o desenvolvimento da doença, reduz-se, dessa maneira, o uso intensivo de fungicidas, e se ainda for evitada a utilização de fungicidas classificados como sítio-específico, o risco geral de desenvolvimento de resistência será menor (BRENT; HOLLOMON, 2007b)

Ao planejar ações que visem o controle químico da doença no campo, além do grau de risco de resistência por parte do patógeno e a combinação patógeno-fungicida, devem ser considerados outros fatores que podem facilitar o desenvolvimento de resistência, como o número de aplicações do mesmo fungicida, a não-rotação de ingredientes ativos, dose de aplicação, quantidade de inóculo no campo e isolamento populacional do patógeno, por exemplo, em estufas e casas de vegetação, que impedem a reentrada de uma população sensível (BRENT; HOLLOMON, 2007a).

No Brasil, os fungicidas mais utilizados para o controle do mofo cinzento em morangueiro pertencem aos grupos dicarboximida (procimidona e iprodiona), metil-benzimidazol carbamato (tiofanato-metílico), inibidor intracelular (fluazinam) e extracelular (azoxistrobina) de Quinona (LOPES, 2014; MAIA et al., 2021).

Em pesquisa realizada com isolados coletados de cultivos de morango nos estados de São Paulo, Espírito Santo e Bahia, foram encontradas altas porcentagens de isolados resistentes *in vitro* a tiofanato-metílico (92,2%), inclusive em plantações orgânicas (51,4%). Azoxistrobina e iprodiona também foram testados, apresentando 87,5% e 76,6% de isolados resistentes em cultivos convencionais e 31,4% e 22,9% de resistência em cultivos orgânicos, respectivamente (BAGGIO, 2016). Em outro estudo realizado no estado de São Paulo, Espírito Santo e Minas Gerais, isolados de *B. cinerea* também coletados de morangos apresentaram resistência a iprodiona (25,7%), procimidona (53%) e tiofanato-metílico (93%), e 19,7% dos isolados foram resistentes aos três fungicidas simultaneamente (LOPES et al., 2017).

Em trabalho realizado no estado do Paraná para avaliar a sensibilidade *in vitro* de *B. cinerea* aos principais fungicidas, mostrou que a porcentagem de isolados resistentes a azoxistrobina, iprodiona, procimidona, boscalida, fluazinam e difenoconazol foram de 91,0; 44; 43; 45; 32,7 e 33,3%, respectivamente, e 94,6 % dos isolados foram classificados como altamente resistentes ao tiofanato metílico.

Cerca de 94% dos isolados foram considerados resistentes a pelo menos dois dos fungicidas mais utilizados, com mutações que conferem resistência completa ao fungicida. Em ensaios com tratamento pós-colheita, com e sem inoculação do patógeno, apenas o fungicida fluazinam se mostrou eficaz, embora não seja liberado para *B. cinerea* no estado (MAIA et al., 2021). São necessários trabalhos a campo visando avaliar o nível de controle dos fungicidas que mostraram melhor controle nos testes *in vitro*.

2.3.2 Controle biológico

Com o aumento dos casos de resistência de fungos a fungicidas e o aumento do interesse da população sobre frutas e verduras orgânicas, o controle biológico tornou-se um aliado a essas questões, e diversas pesquisas são conduzidas para avaliar o seu efeito contra fitopatógenos. Muitos microrganismos se mostraram efetivos em diversas culturas, como *Bacillus amyloliquefaciens* na pós-colheita de tomates (MARI et al., 1996), *B. amyloliquefaciens* e *B. pumillus* na pós-colheita de peras (MARI; GUIZZARDI; PRATELLA, 1996), *B. subtilis* em campos de mirtilo (ABBEY et al., 2020) e diversas espécies de bactérias em frutos de morango (DONMEZ et al., 2011; ESSGHAIER et al., 2009). As utilizações em pulverização de três isolados de bactérias do gênero *Bacillus* em geral reduziram significativamente a incidência de mofo cinzento em plantas de morango; no entanto, a eficiência de *B. subtilis* em suprimir o crescimento do patógeno foi maior que os outros em umidades relativas mais elevadas (acima de 85%), indicando que a interação entre os dois microrganismos é maior com o aumento da umidade relativa do ar, sendo um fator abiótico (SHTERNISH et al., 2015).

Em experimento realizado a campo com nectarineiras e pessegueiros, a aplicação de *B. amyloliquefaciens* em campo reduziu a incidência de *Monilinia* spp. em frutos na colheita, de forma similar aos fungicidas sintéticos avaliados; quando avaliados em pós-colheita, o isolado reduziu a incidência em até 50%, chegando a ser tão efetivo quanto os fungicidas; porém, a aplicação conjunta de *B. amyloliquefaciens* e *Penicillium frequentans* não aumentou a eficácia do tratamento, quando comparado com a aplicação apenas da bactéria (GOTOR-VILA et al., 2017).

Além de bactérias, leveduras como *Candida saitoana* e *Aureobasidium pullulans* também se mostraram efetivas em maçãs (GHAOUTH; WILSON;

WISNIEWSKI, 2003; IPPOLITO et al., 2000) e mirtilos (ABBEY et al., 2020). Fungos também podem apresentar boa eficiência, como *Clonostachys rosea* contra *B. cinerea* em morangueiro (COTA et al., 2008).

Além do efeito direto de controle das doenças, os agentes de controle biológico podem, também, induzir respostas de defesa nas plantas, atuando de forma indireta no controle do patógeno. Inclusive, este efeito de indução de resistência pôde ser observado em frutos já destacados de maçã contra podridões de pós-colheita (GHAOUTH; WILSON; WISNIEWSKI, 2003). Mudas de morango banhadas em soluções de isolados de bactérias (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. licheniformis*) mostraram aumentos na altura da planta, massa do sistema radicular, comprimento de raízes e número de estolões, além da diminuição do número de frutos com lesões por *B. cinerea* e ganhos em produtividade de até 20% no ano seguinte em comparação com o tratamento controle (SHTERNSHIS et al., 2015).

A aplicação de produtos biológicos pode alterar a diversidade de microrganismos. A aplicação de produtos contendo *Trichoderma harzianum* (produto comercial Boni) com a adição ou não de *Bacillus amyloliquefaciens* (produto comercial Rhizo) em frutos diminuiu a abundância de microrganismos pertencentes à classe dos Leotiomycetes, a qual está contida o patógeno *B. cinerea*, e as maiores abundâncias desta classe foram em tratamentos com fungicidas, confirmando a hipótese de que a aplicação de produtos biológicos pode alterar a microbiota local, tanto bacteriológica como fúngica (CRUZ et al., 2018).

A eficácia dos agentes de controle biológico pode variar conforme a pressão de doença (GOTOR-VILA et al., 2017). Em campos de videiras na Itália, em condições de alta pressão de doença, *B. subtilis* QST713, *B. amyloliquefaciens* e *Aureobasidium pullulans* aplicados de forma isolada não controlaram *B. cinerea* de forma efetiva, mesmo com onze aplicações no ciclo (ROTOLO et al., 2018).

REFERÊNCIAS

- ABBEY, Joel A. et al. Management of *Botrytis* blossom blight in wild blueberries by biological control agents under field conditions. **Crop Protection**, v. 131, p. 105078, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105078>>.
- AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 18/04/2022.
- ALLEN, Gina et al. Increased occurrence of pesticide residues on crops grown in protected environments compared to crops grown in open field conditions. **Chemosphere**, v. 119, p. 1428–1435, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.066>>.
- ANDRADE, C. A. W. et al. Comparison of quality between organic and conventional strawberries from multiple farms. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 2, 2016.
- ANTUNES, L. E. C.; BONOW, S. Morango: Produção aumenta ano a ano. **Anuário HF: Campo e Negócios**, p. 87–90, 2021.
- AZEVEDO, D. M.Q. et al. Diversity, prevalence and phylogenetic positioning of *Botrytis* species in Brazil. **Fungal Biology**, v. 124, n. 11, p. 940–957, 2020.
- BAGGIO, J. S. **Spatial and temporal dynamics of *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum* spp. In Brazilian conventional and organic strawberry fields**. 2016. 151 f. Tese de doutorado. Escola Superior de Agronomia Luix de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.
- BRAUN, P. G.; SUTTON, J. C. Inoculum sources of *Botrytis cinerea* in fruit rot of strawberries in Ontario. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 9, n. 1, p. 1–5, 1987.
- BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance: the assessment of risk**. Second ed. Bristol: Fungicide Resistance Action Committée, 2007a. Disponível em: <www.frac.info>.
- BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide Resistance in Plant Management: How can it be managed?** Second ed. Bristol: Fungicide Resistance Action Committee, 2007b. Disponível em: <www.frac.info>.
- BRISTOW, P. R.; MCNICOL, R. J.; WILLIAMSON, B. Infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* and its relevance to grey mould development. **Annals of Applied Biology**, v. 109, n. 3, p. 545–554, 1986.
- BULGER, M. A.; ELLIS, M. A.; MADDEN, L. V. Influence of Temperature and Wetness Duration on Infection of Strawberry Flowers by *Botrytis cinerea* and Disease

Incidence of Fruit Originating from Infected Flowers. **Phytopathology**, v. 77, n. 8, p. 1225–1230, 1987.

CAMARGO, L. K. P. et al. Desempenho produtivo e massa média de frutos de morangueiro obtidos de diferentes sistemas de cultivo. **Ambiência**, v. 6, n. 2, p. 281–288, 2010.

CAMARGO, L. K. P. et al. Postharvest quality of strawberry fruits produced in organic and conventional systems. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 577–583, 2011.

CARROLL, J.; PRITTS, M.; HEIDENREICH, C. **Organic Production and IPM Guide for Strawberries**. Ithaca: New York State Integrated Pest Management Program, 2016. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1813/42892>>.

CHATZIDIMOPOULOS, M.; PAPADEVAGGELOU, D.; PAPPAS, A. C. Detection and characterization of fungicide resistant phenotypes of *Botrytis cinerea* in lettuce crops in Greece. **European Journal of Plant Pathology**, v. 137, n. 2, p. 363–376, 2013.

COCCO, C. **Qualidade fisiológica das mudas na produção de frutas do morangueiro**. 2010. 48 p. Dissertação de mestrado – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

CONTI, S. et al. Effects of organic vs. conventional farming system on yield and quality of strawberry grown as an annual or biennial crop in southern Italy. **Scientia Horticulturae**, v. 180, p. 63–71, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.015>>.

CORDOVA, L. G. et al. Evaluation of the Florida Strawberry Advisory System for Control of *Botrytis* and Anthracnose Fruit Rots in Ohio. **Plant Health Progress**, v. 19, n. 2, p. 182–187, 2018.

CORDOVA, L. G.; AMIRI, A.; PERES, N. A. Effectiveness of fungicide treatments following the Strawberry Advisory System for control of *Botrytis* fruit rot in Florida. **Crop Protection**, v. 100, p. 163–167, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2017.07.002>>.

COSTA, H.; VENTURA, J. A. Manejo Integrado de Doenças do morangueiro. In: III SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO E II ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2006, Pelotas – RS. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. p. 17–25.

COTA, L. V. et al. Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. **Biological Control**, v. 46, n. 3, p. 515–522, 2008.

CRUZ, A. F. et al. Biocontrol of strawberry fruit infected by *Botrytis cinerea*: Effects on the microbial communities on fruit assessed by next-generation sequencing. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 6, p. 403–411, 2018.

DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

DONMEZ, M. F. et al. Biocontrol of *Botrytis Cinerea* on strawberry fruit by plant growth promoting bacteria. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 21, n. 4, p. 758–763, 2011.

DROBY, S.; LICHTER, A. Post-harvest *Botrytis* infection: Etiology, Development and Management. In: ELAD, Y. et al. (Org.). **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. p. 349–367.

ESSGHAIER, B. et al. Biological control of grey mould in strawberry fruits by halophilic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 3, p. 833–846, 2009.

FACHINELLO, J. C. et al. Situação e Perspectivas da Fruticultura de Clima Temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 109–120, 2011.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization (FAO)**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 28 abr. 2022.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D. et al. Fungicide resistance profiles in *Botrytis cinerea* from strawberry fields of seven Southern U.S. States. **Plant Disease**, v. 98, n. 6, p. 825–833, 2014.

FRAC. *Pathogen Risk List*. **FRAC Pathogen Risk List**. 2019.

GHAOUTH, A. E.; WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M. Control of Postharvest Decay of Apple Fruit with *Candida saitoana* and Induction of Defense Responses. **Phytopathology**, v. 93, n. 3, p. 344–348, 2003.

GOTOR-VILA, A. et al. Biological control of brown rot in stone fruit using *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 under field conditions. **Crop Protection**, v. 102, p. 72–80, 2017.

HENZ, G. P. Desafios enfrentados por agricultores familiares na produção de morango no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 260–265, 2010.

HUSAINI, A. M.; NERI, D. **Strawberry: Growth, Development and Diseases**. India: CAB International, 2016.

IPPOLITO, A. et al. Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, p. 265–272, 2000.

KÖHL, J. et al. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. **Phytopathology**, v. 88, n. 6, p. 568–575, 1998.

LEGARD, D. E. et al. Effects of plant spacing and cultivar on incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 5, p. 531–538, 2000.

LEROUX, P. Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. In: ELAD, Y. et al. (Org.). . **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. p. 195–222.

LOPES, U. P. **Doenças Do Morangueiro: Etiologia , Epidemiologia E Sensibilidade a Fungicidas**. 2014. 67 f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, 2014.

LOPES, U. P. et al. Resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides controlling gray mold on strawberry in Brazil. **Bragantia**, v. 76, n. 2, p. 266–272, 2017.

MADAIL, J. C. M. et al. Avaliação Econômica dos Sistemas de Produção de Morango: Convencional, Integrado e Orgânico. **Comunicado Técnico**, n. 1, p. 4, 2007. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/31365/1/comunicado-181.pdf>>.

MAIA, J. N. et al. Gray mold in strawberries in the Paraná state of Brazil is caused by *Botrytis cinerea* and its isolates exhibit multiple-fungicide resistance. **Crop Protection**, v. 140, n. February, 2021.

MARI, M. et al. Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 15, n. 8, p. 699–705, 1996.

MARI, M.; GUIZZARDI, M.; PRATELLA, G. C. Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. **Biological Control**, v. 7, n. 1, p. 30–37, 1996.

MERTELY, J. C. et al. Comparison of sanitation and fungicides for management of *Botrytis* fruit rot of strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 11, p. 1197–1202, 2000.

MERTELY, J. C.; MACKENZIE, S. J.; LEGARD, D. E. Timing of fungicide applications for *Botrytis cinerea* based on development stage of strawberry flowers and fruit. **Plant Disease**, v. 86, n. 9, p. 1019–1024, 2002.

MERTELY, J. C.; SEIJO, T. E.; PERES, N. A. Effect of Pre- and Post-Plant Fungicide and Fertilizer Treatments on Infection by *Colletotrichum acutatum*, Plant Survival, and Yield of Annual Strawberry in Florida. **Plant Management Network**, January, Online, 2010.

MYRESIOTIS, C. K.; KARAOGLANIDIS, G. S.; TZAVELLA-KLONARI, K. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxylanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides. **Plant Disease**, v. 91, n. 4, p. 407–413, 2007.

NOBRE, S. A. M. et al. Selection of *Clonostachys rosea* isolates from Brazilian ecosystems effective in controlling *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 34, n. 2, p. 132–143, 2005.

OLIVEIRA, R. P. De; SCIVITTARO, W. B. Desempenho produtivo de mudas nacionais e importadas de morangueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 520–522, 2006.

OLIVEIRA, I. P.; BELARMINO, L. C.; BELARMINO, A. J. Viabilidade da produção de morango no sistema semi-hidropônico recirculante. **Custos e Agronegócio**, v. 13, n. 1, p. 315–332, 2017. Disponível em: <www.custoseagronegocioonline.com.br>.

OLIVEIRA, M. et al. Fungicide Dip Treatments for Management of *Botrytis cinerea* Infection on Strawberry Transplants. **Plant Health Progress**, v. 19, p. 279–283, 2018.

OLIVEIRA, M. S. et al. Sources of Primary Inoculum of *Botrytis cinerea* and Their Impact on Fungicide Resistance Development in Commercial Strawberry Fields. **Plant Disease**, v. 101, n. 10, p. 1761–1768, 2017.

PARISI, M. C. M.; COSTA, H.; BETTI, J. A.; TANAKA, M. A. S; MAY-DE MIO, L. L. Doenças do Morangueiro. In: AMORIM, L et al. (Org.). **Manual de Fitopatologia Volume 2: Doenças de Plantas Cultivadas**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. p. 561 - 572.

PAVAN, W. et al. **The Strawberry Advisory System: A Web-Based Decision Support Tool for Timing Fungicide Applications in Strawberry**. Gainesville: 2009.

PENG, G.; SUTTON, J. C. Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 13, n. 3, p. 247–257, 1991.

PENG, G.; SUTTON, J. C.; KEVAN, P. G. Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 14, n. 2, p. 117–129, 1992.

REIS, A.; COSTA, H. Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle. **Circular Técnica**, v. 96, p. 1–9, Embrapa Hortaliças, 2011.

ROMANAZZI, G; FELIZIANI, E. *Botrytis cinerea* (Gray Mold). In: BAUTISTA-BAÑOS, SILVIA (Org.). **Postharvest Decay: Control Strategies**. 1st ed. Oxford: Elsevier, 2014. p. 131–146.

ROTOLO, C. et al. Use of Biocontrol Agents and Botanicals in Integrated Management ob *Botrytis cinerea* in table-grape vineyards. **Pest management science**, v. 74, n. 3, p. 715–725, 2018.

SHTERNISH, M. V. et al. Influence of *Bacillus* spp. on strawberry gray-mold causing agent and host plant resistance to disease. **Contemporary Problems of Ecology**, v. 8, n. 3, p. 390–396, 2015.

SUTTON, J. C.; PENG, G. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in Strawberry Leaves. **Phytopathology**, v. 83, n. 6, p. 615–621, 1993.

SUTTON, J. C. Epidemiology and management of *Botrytis* leaf blight of onion and gray mold of strawberry: A comparative analysis. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 12, n. 1, p. 100–110, 1990.

TEIXEIRA, C. P. **Produção de Mudas e Frutos de Morangueiro em Diferentes Sistemas de Cultivo**. 2011. 74 f. Tese de Doutorado em Produção Vegetal, Universidade Federal de Lavras, 2011.

TROTEL-AZIZ, P. et al. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 21–32, 2008.

WANG, Z. et al. Dissipation, accumulation and risk assessment of fungicides after repeated spraying on greenhouse strawberry. **Science of the Total Environment**, v. 758, p. 144067, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144067>>.

WEBER, R. W. S. Resistance of *Botrytis cinerea* to multiple fungicides in Northern German small-fruit production. **Plant Disease**, v. 95, n. 10, p. 1263–1269, 2011.

WEBER, R. W. S.; ENTROP, A. P. Recovery of fungicide-resistant *Botrytis* isolates from strawberry nursery plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, p. 739–742, 2017.

WILCOX, W. F.; SEEM, R. C. Relationship between strawberry gray mold incidence, environmental variables, and fungicide applications during different periods of the fruiting season. **Phytopathology**, v. 84, p. 264–270, 1994.

WILLIAMSON, B. et al. *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 5, p. 561–580, 2007.

XU, X.; HARRIS, D. C.; BERRIE, A. M. Modeling infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* using field data. **Phytopathology**, v. 90, n. 12, p. 1367–1374, 2000.

3 CAPÍTULO I – EFICÁCIA DE BACTÉRIAS COMO AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO CONTRA O MOFO CINZENTO DO MORANGUEIRO POR METODOLOGIA *EX VIVO*

RESUMO

A cultura do morangueiro é bastante difundida em todo o mundo. Uma das principais dificuldades da produção é a ocorrência de doenças, dentre elas se destaca o mofo cinzento, causado pelo fungo *Botrytis cinerea*. O controle desta doença no campo é feito principalmente por fungicidas químicos, que podem selecionar isolados resistentes. Com o objetivo de agregar ao manejo da cultura, o controle biológico vem se difundindo em todo o mundo, com eficácias comprovadas em diversas culturas. Este trabalho objetivou avaliar a eficácia de bactérias do gênero *Bacillus* como agentes de controle biológico do mofo cinzento *ex vivo* em condições de laboratório, comparando com fungicida fluazinam, testando um isolado sensível a fungicidas. Foram conduzidos dois experimentos com o isolado sensível aos fungicidas procimidona, boscalida, fluazinam e azoxistrobina. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com 9 tratamentos, sendo eles: testemunha, fluazinam como padrão químico, Serenade (*Bacillus subtilis* QST713), como padrão biológico, produtos contendo *Bacillus subtilis* (Bio-Baci e Bio-Imune), *B. amyloliquefaciens* (No-Nema) e consórcio de *Bacillus* spp (Bombardeiro, BTP 11-19 e BTP 135-19), e seis repetições. Cada repetição foi composta de quatro frutos ligeiramente antes do ponto de colheita que foram desinfestados e imersos em solução com os produtos testados por 5 segundos. A testemunha foi imersa apenas em água destilada. Após secagem, os frutos foram inoculados com uma gota de 30 µl de uma suspensão de esporos na concentração de 10^5 esporos ml⁻¹, e incubados a 22°C. A incidência do mofo cinzento foi avaliada a cada 24 horas por cinco dias, e a curva da incidência acumulada ao longo do tempo foi calculada, os dados foram submetidos a análise de sobrevivência e o efeito dos tratamentos estimado pelo método semiparamétrico de Cox. Analisando ambos os experimentos conjuntamente, foi observado que o fungicida fluazinam apresentou o melhor resultado, seguido por No-Nema e Bio-Imune, com riscos estimados de 0,14, 0,51 e 0,55 respectivamente. Estes resultados mostram o potencial de uso das bactérias como agentes de controle biológico do mofo cinzento do morangueiro, em especial em áreas com detecção de resistência a fungicidas, e são importantes para dar sequência em pesquisas sobre o manejo integrado da doença na cultura.

Palavras-chave: *Botrytis cinerea*; *Bacillus* spp; biocontrole.

ABSTRACT

The strawberry culture is widespread throughout the world. One of the main production difficulties is the occurrence of diseases, among them the gray mold, caused by the fungus *Botrytis cinerea*. The control of this disease in the field is based mainly in chemical fungicides, which can select resistant isolates. Aiming to add to the culture management, the biological control has been spreading worldwide, with efficacy in several cultures. This work aimed to evaluate the efficacy of bacteria of the genus *Bacillus* as biological control agents of gray mold *ex vivo*, comparing to the fungicide fluazinam, testing an isolate sensitive to fungicides. Two experiments were conducted with the isolate sensitive to the fungicides procymidone, boscalid, fluazinam and azoxystrobin. The experiment was set up in an entirely randomized design with 9 treatments: control, fluazinam as chemical standard, Serenade (*Bacillus subtilis* QST713) as biological standard, products containing *Bacillus subtilis* (Bio-Baci and Bio-Imune), *B. amyloliquefaciens* (No-Nema) and a consortium of *Bacillus* spp (Bombardeiro, BTP 11-19 and BTP 135-19), and six repetitions. Each repetition was composed of four fruits slightly before the harvest point that were disinfected and immersed in solution with the tested products for 5 seconds. The control was immersed only in distilled water. After drying, the fruits were inoculated with a 30 µl drop of a spore suspension at a concentration of 10^5 spores ml⁻¹, and incubated at 22°C. The incidence of gray mold was evaluated every 24 hours for five days, and the cumulative incidence curve over time was calculated, the data was submitted to survival analysis and the risk estimated by Cox semiparametrical method. Analyzing the two experiments together, it was observed that the fungicide showed the best result, followed by No-Nema and Bio-Imune, with estimated risk of 0.14, 0.51 and 0.55 respectively. These results show the potential of using bacteria as biological control agents of strawberry grey mold, especially in areas with detection of fungicide resistance, and are important for further research on integrated management disease in the crop.

Keywords: *Botrytis cinerea*; *Bacillus* spp; biocontrol.

3.1 INTRODUÇÃO

O Brasil, pela primeira vez, encontra-se na lista dos 10 maiores produtores de morangos do mundo (FAOSTAT, 2022). O Paraná é o segundo maior produtor de morangos do Brasil, atrás apenas do estado de Minas Gerais (ANTUNES; BONOW, 2021). Diversos patógenos são agentes causais de doenças do morangueiro, sendo que os principais causadores de podridões em frutos em cultivos de solo a céu aberto ou em túneis baixos são *Colletotrichum* spp., *Botrytis cinerea* e *Rhizopus* spp., causando antracnose dos frutos, mofo cinzento e podridão mole, respectivamente (REIS; COSTA, 2011).

O mofo cinzento é uma importante doença em todo o mundo, causando danos em colheita e pós-colheita em diversas culturas (DEAN et al., 2012; ROMANAZZI; FELIZIANI, 2014). O patógeno causa uma lesão amarronzada, sem bordas definidas, e que com sua evolução é coberta por uma massa acinzentada, correspondente aos conidióforos, conídios e micélio do fungo (PARISI et al., 2016; WILLIAMSON et al., 2007). A doença afeta diversas partes da planta (SUTTON, 1990; WILLIAMSON et al., 2007; XU; HARRIS; BERRIE, 2000), mas tem grande importância nos frutos, que são o produto utilizado para comercialização.

A principal forma de controle empregada para esta doença no mundo é a utilização de fungicidas químicos (DEAN et al., 2012). No entanto, esta prática é limitada tendo em vista a seleção de isolados do patógeno resistentes a fungicidas (LEROUX, 2007). No Brasil, foram encontradas populações resistentes a diversos grupos químicos de fungicidas, inclusive no estado do Paraná (BAGGIO; PERES; AMORIM, 2018; LOPES, 2017; MAIA et al., 2021).

Com o crescimento de casos de resistência de fungos a fungicidas em todo o mundo, cada vez mais torna-se necessária a procura por novos métodos de controle de doenças, como, por exemplo, o controle biológico para serem usados separadamente ou em conjunto com os fungicidas. Diversos microrganismos têm potencial de serem utilizados como controle biológico. No entanto, a maior parte dos produtos comerciais utilizados na atualidade para controle de *B. cinerea* são a base de bactérias do gênero *Bacillus* spp (PETRASCH et al., 2019). Algumas espécies de *Bacillus* ssp. tiveram efeito em uvas, peras em pós-colheita, tomates e morangos, sendo promissores na pós-colheita dos frutos (ESSGHAIER et al., 2009; MARI et al., 1996; MARI; GUIZZARDI; PRATELLA, 1996; TROTEL-AZIZ et al., 2008). Além de

bactérias, leveduras como *Candida saitoana* e *Aureobasidium pullulans* também se mostraram efetivas em maçãs e mirtilos, para o controle de mofo cinzento (ABBEY et al., 2020; GHAOUTH; WILSON; WISNIEWSKI, 2003; IPPOLITO et al., 2000).

No Brasil, não existem trabalhos que comparem a eficácia de agentes de controle biológico para o controle de mofo cinzento em frutos de morango no sistema protegido. Ainda, não existem estudos que comparem sua eficácia comparada fungicidas químicos. Muitos são os produtos comerciais disponíveis no mercado para controle de doenças fúngicas e que são à base de microrganismos, principalmente bactérias. Visto que este microrganismo sofre pouco ou nenhum efeito da aplicação de fungicidas químicos, podem ser uma ferramenta para agregar ao manejo desta doença em cultivos comerciais no futuro. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de produtos biológicos comerciais e em fase de registro, comparando com fungicida, para o controle de mofo cinzento em laboratório, por meio de metodologia *ex vivo*, utilizando isolados com dois fenótipos de resistência a fungicidas.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos utilizando frutos destacados (*ex vivo*) foram conduzidos, utilizando um isolado de *B. cinerea* sensível (SJ45 1) aos fungicidas procimidona, boscalida, fluazinam e azoxistrobina, e altamente resistente a tiofanato metílico (MAIA et al., 2021). Os experimentos seguiram o delineamento inteiramente casualizado com 9 tratamentos (Tabela 1) e 6 repetições. Cada repetição consistiu em 4 frutos. Os frutos ligeiramente antes do ponto de colheita da cultivar Albion, foram desinfestados com hipoclorito de sódio (0,5% de cloro ativo) por dois minutos e enxaguados por duas vezes em água destilada. Após a secagem sobre papel por uma hora, os frutos foram imersos em solução contendo os produtos a serem testados, por cinco segundos. Como controles, foram utilizados frutos imersos apenas em água destilada e inoculados com a suspensão de esporos. O padrão químico utilizado foi o fungicida fluazinam. Os tratamentos utilizados para os experimentos estão listados na Tabela 1.

TABELA 1 - NOME, INGREDIENTES ATIVOS E DOSES DE APLICAÇÃO DOS PRODUTOS TESTADOS PARA O CONTROLE DE MOFO CINZENTO EM FRUTOS DE MORANGO.

PRODUTO	REGISTRANTE	INGREDIENTE(S)	COMPOSIÇÃO	DOSE (mL/L)
---------	-------------	----------------	------------	-------------

COMERCIAL OU NOME		ATIVO(S)		
Testemunha	-	-	Água destilada	-
Frownside 500 SC	ISK Biosciences	Fluazinam	500 g i.a./L	1
Serenade	Bayer S. A.	<i>Bacillus subtilis</i> QST713	1,3x10 ¹⁰ UFC/L	13
Bio-Baci	Biovalens LTDA.	<i>Bacillus subtilis</i> BV09	1,0x10 ⁸ UFC/mL	20
No-Nema	Biovalens LTDA.	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BV03	3x10 ⁹ UFC/mL	20
Bio-Imune	Biovalens LTDA.	<i>Bacillus subtilis</i> BV02	3x10 ⁹ UFC/mL	20
Bombardeiro	Biotrop LTDA.	<i>B. subtilis</i> , <i>B. velezensis</i> , <i>B. pumilus</i>	1,5x10 ¹¹ ; 1,2x10 ¹¹ ; 1,9x10 ¹¹ UFC/L	5
BTP 11-19	Biotrop LTDA.	<i>Bacillus</i> spp.	Não informado	5
BTP 135-19	Biotrop LTDA.	<i>Bacillus</i> spp, extrato de alga e <i>Saccharomyces</i> sp.	Não informado	5

Fonte: a autora (2022).

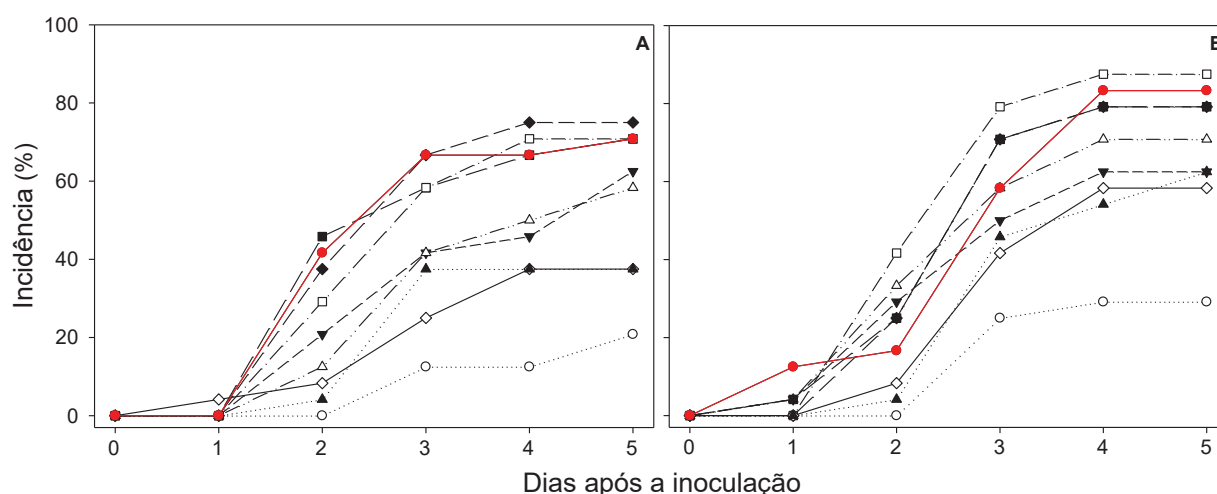
Após o tratamento dos frutos, estes foram deixados para secar por 24 horas, e foram inoculados com uma gota de 30 µl de uma suspensão de esporos na concentração de 10⁵ esporos ml⁻¹, de um isolado monospórico. Os esporos foram retirados de uma colônia crescida por 10 dias em meio BDA, por meio da adição de água destilada esterilizada na superfície da colônia, e raspada com uma alça esterilizada. Os frutos foram acondicionados em potes de plástico e incubados em câmara de crescimento a 22°C e fotoperíodo de 12 horas, por cinco dias. Cada fruto foi monitorado durante 5 dias, a cada 24 horas, e o tempo para aparecimento dos sinais do patógeno foi avaliado. Os dados foram avaliados por meio da técnica estatística de análise de sobrevivência, onde os frutos eram classificados em com e sem a presença de estruturas do patógeno no determinado momento. A variável resposta é a presença/ausência de estruturas, a variável explicativa é o tempo e os diferentes tratamentos são considerados covariáveis. O efeito das covariáveis foi

estimado através do modelo semiparamétrico de riscos proporcionais, ou modelo de Cox (CARVALHO et al., 2005), podendo serem fatores de risco ($x > 1$) ou fatores de proteção ($x < 1$) quanto ao aparecimento dos sinais do patógeno. As análises estatísticas foram realizadas com o software R® versão 4.1.3 (R Core Team, 2022). Os resultados dos dois experimentos estão apresentados de forma conjunta.

3.3 RESULTADOS

A doença em frutos após o tratamento progrediu durante os 5 dias de avaliação (Figura 1).

FIGURA 1– CURVAS DE PROGRESSO DA INCIDÊNCIA DO MOFO CINZENTO (*B. CINEREA*) DOS TRATAMENTOS EM FRUTOS DE MORANGUEIRO, ATÉ 5 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO DOS FRUTOS COM ISOLADO SENSÍVEL A FUNGICIDAS, DOS EXPERIMENTOS 1 (A) E 2 (B).



Fonte: a autora (2022). Tratamentos: (—●—) Testemunha; (··○··) Fluazinam; (·▼·) Serenade; (—△—) BTP 11-19; (—■—) Bombardeiro; (—□—) BTP 135-19; (—◆—) Bio- Baci; (—◇—) No-Nema; (···▲···) Bio-Imune.

Considerando os valores de incidência final aos 5 dias após a inoculação, os tratamentos fluazinam, No-Nema e Bio-Imune tiveram valores de 25,0; 47,9 e 50,0%, respectivamente, enquanto a testemunha apresentou incidência de 77,0%.

Para a análise de sobrevivência, não houve diferenças acentuadas nos valores de riscos relativos dos tratamentos entre os experimentos. Sendo assim, os dois experimentos foram analisados conjuntamente.

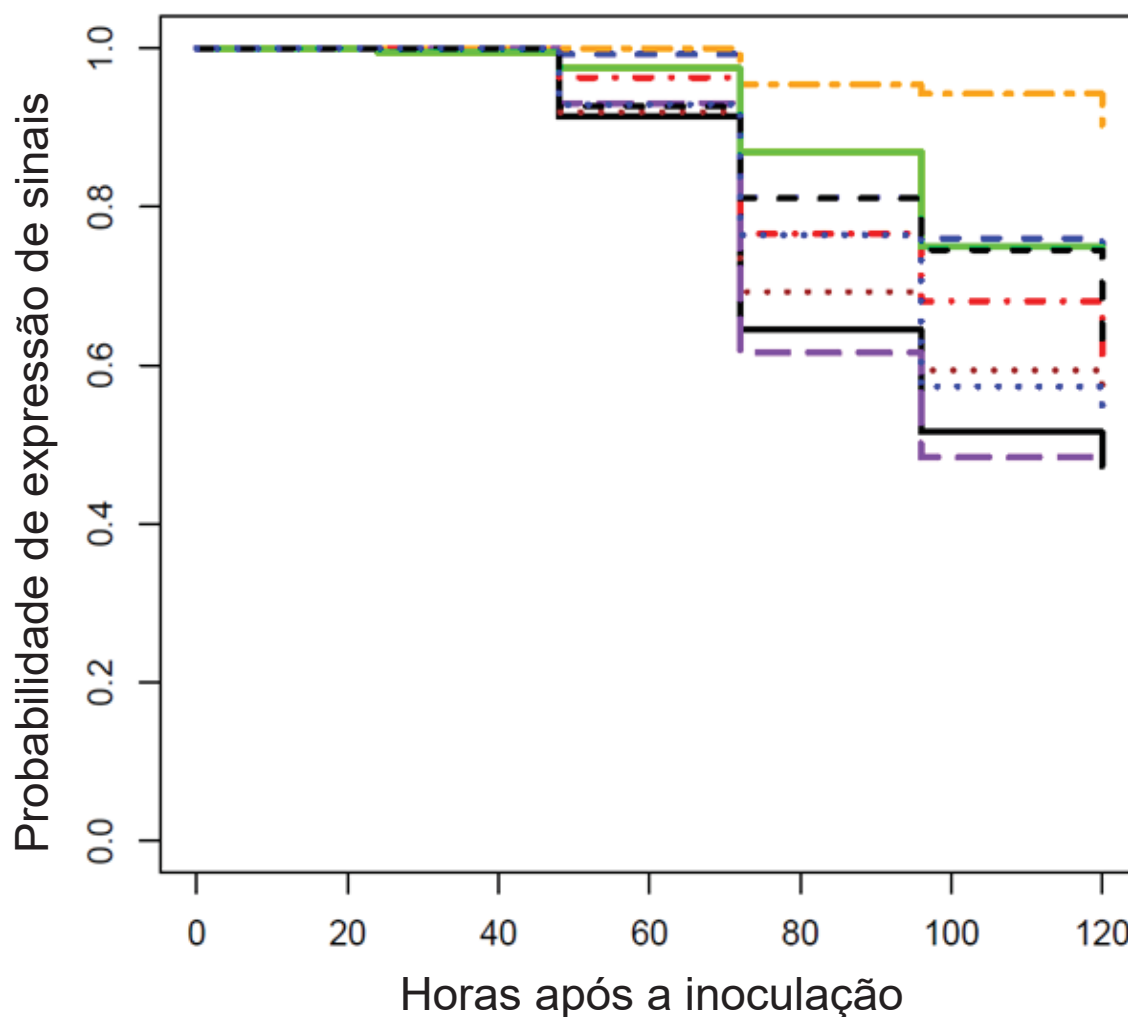
TABELA 2 - RISCO ESTIMADO PARA O APARECIMENTO DE SINAIS DE *B. CINEREA* EM FRUTOS DE MORANGUEIRO, 5 DIAS APÓS INOCULAÇÃO ARTIFICIAL, ESTIMADOS PELO MODELO SEMIPARAMÉTRICO DE COX, SEGUIDO PELOS INTERVALOS DE CONFIANÇA DE 95%.

TRATAMENTO	RISCO ESTIMADO	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
Testemunha	-	-	-
Fluazinam	0,14*	0,07	0,30
Serenade	0,74 ^{ns}	0,45	1,21
BTP 11-19	0,82 ^{ns}	0,50	1,34
Bombardeiro	1,10 ^{ns}	0,68	1,77
BTP 135-19	1,44 ^{ns}	0,90	2,30
Bio-Baci	1,35 ^{ns}	0,68	1,77
No-Nema	0,51*	0,30	0,87
Bio-Imune	0,55*	0,85	2,15

*Riscos estimados seguidos por ns não diferem do tratamento Testemunha; riscos estimados seguidos por * apresentaram diferenças com relação a Testemunha.

Os riscos estimados para o aparecimento dos sinais do patógeno em frutos de morangueiro foram menores que a testemunha nos tratamentos fluazinam, No-Nema e Bio-Imune, com valores de 0,14, 0,51 e 0,55 respectivamente, todos considerados fatores de proteção com relação a testemunha. O produto BTP 135-19 teve um risco estimado de 1,44 vezes maior de aparecimento de sintomas nos frutos tratados com este produto do que na testemunha. Maiores riscos de expressão de sinais foram encontrados, também, nos tratamentos Bombardeiro e Bio-Baci (Tabela 3 e Figura 2).

FIGURA 2 – ESTIMATIVAS DAS CURVAS DE KAPLAN-MEIER PARA AS FUNÇÕES DE SOBREVIVÊNCIA DESCREVENDO O TEMPO PARA EXPRESSAR SINAIS DE *B. CINEREA* EM FRUTOS DE MORANGUEIRO INOCULADOS ARTIFICIALMENTE.



Fonte: a autora (2022). Tratamentos: (•••) Testemunha; (— —) Fluazinam; (— —) Serenade; (•••) BTP 11-19; (•••) Bombardeiro; (— —) BTP 135-19; (—) Bio- Baci; (—) No-Nema; (— —) Bio-Imune.

3.4 DISCUSSÃO

O controle do mofo cinzento no mundo é empregado, em sua maioria, por fungicidas químicos e que podem selecionar populações resistentes de *B. cinerea*. O controle biológico está em crescimento como uma alternativa para o controle de doenças. Foi observado no nosso estudo que bactérias tem potencial de controle de mofo cinzento em frutos de morango *ex vivo*. Com isso, as bactérias como agente de controle biológico têm potencial de ser usado no manejo integrado da doença.

No nosso estudo, os experimentos foram realizados com produtos à base de *Bacillus* spp., de forma isolada ou em mistura, exceto BTP 135-19, que tem um dos microrganismos uma espécie da levedura *Saccharomyces* e extrato de alga. A

maioria dos produtos de controle biológico de *B. cinerea* no mundo são majoritariamente à base de *Bacillus* spp. (PETRASCH et al., 2019).

Os produtos No-Nema e Bio-Imune foram os produtos biológicos com maiores eficácias no controle de mofo cinzento em frutos de morango *ex vivo*. Isolados coletados de diversas frutas na Grécia e com diferentes fenótipos de resistência a fungicidas do grupo dos inibidores da succinato-desidrogenase (SDHI) foram inoculados em plantas de feijão a fim de testar a eficácia da bactéria da cepa *B. amyloliquefaciens* QST713 no controle de *B. cinerea*. A bactéria apresentou melhores taxas de controle de isolados considerados resistentes, quando comparada com isolados *wild type* (SAMARAS; HADJIPETROU; KARAOGLANIDIS, 2020). Ainda, no mesmo estudo, plantas incubadas a temperaturas de 10°C por 10 dias apresentaram maiores taxas de controle do que plantas incubadas a 20°C por 5 dias. Os experimentos conduzidos neste estudo foram incubados apenas a temperatura de 22°C, ideal para o crescimento do patógeno. Testes futuros devem ser realizados a fim de estudar a influência da temperatura no controle do mofo cinzento com agentes de controle biológico.

Em estudo realizado na China, avaliando as atividades inibitórias de cepas de bactérias do gênero *Bacillus* contra *B. cinerea*, mostrou que, com relação a produção de compostos voláteis, *B. subtilis* (cepa Z-14) apresentou menor redução do crescimento micelial do patógeno; no entanto, o filtrado cultural com extrato da mesma cepa apresentou a maior redução da doença em frutos de tomate, e a menor em bagas de uva, mostrando que a eficiência de alguns agentes de biocontrole é influenciada pela planta/fruta hospedeira (CHEN et al., 2019). *Bacillus subtilis* também apresentou efeitos antagonistas e capacidade de colonização do tecido hospedeiro, que no estudo foi o tomate (BU et al., 2021). *Bacillus velezensis* é capaz de inibir a produção e germinação de conídios, bem como o crescimento micelial de isolados de *B. cinerea*, por meio de metabólitos secundários e compostos orgânicos voláteis; o patógeno, quando sob stress provocado pela presença da bactéria em meio de cultura, causa inchaços anormais e esticamento das hifas (XU et al., 2021). A bactéria foi eficaz na redução da severidade da doença em folhas de pimenta em cultivo protegido, apresentando controle de mais de 50% e, ainda, promoveu o crescimento da planta (JIANG et al., 2018). *Bacillus* spp. são capazes de produzir lipopeptídeos como iturina, fengicina e surfactina, e enzimas hidrolíticas

extracelulares, como amilases, proteases e celulasas, que podem ser o principal modo de ação das bactérias contra diversos patógenos (HADDOUDI et al., 2021).

Isolados induzidos para a mutação ao fungicida fluazinam em laboratório mostraram micélio com menor taxa respiratória e quantidade de ATP (responsável pela energia celular), maior atividade de ATPases, e teores mais baixos de ácido oxálico (SHAO et al., 2015), importante no mecanismo de infecção do patógeno (WILLIAMSON et al., 2007). Isolados com maiores atividades de enzimas de degradação celular e teores de ácido oxálico apresentaram maiores severidades em plantas de grão de bico, enquanto menores teores de enzimas e do ácido tiveram menores severidades (KUMARI et al., 2014), e podem contribuir para menor agressividade dos patógenos (SHAO et al., 2015). Isso sugere que podem haver penalidades associadas ao fenótipo de resistência a fungicidas (SANG et al., 2018). No presente estudo, os frutos foram inoculados apenas com o isolado sensível a fungicidas. Estudos futuros devem ser realizados para estudar a interação entre fenótipo do isolado com relação a resistência a fungicidas, e o controle da doença por meio de agentes biológicos, a fim de descobrir se estas penalidades associadas a resistência podem facilitar a ação dos agentes de controle biológico.

3.5 CONCLUSÕES

Os tratamentos Fluazinam, No-Nema e Bio-Imune apresentaram valores de incidência abaixo de 50% e fatores de proteção quanto ao aparecimento de sinais do patógeno e diferiram da testemunha. Os tratamentos Bombardeiro, BTP 135-19 e Bio-Baci apresentaram valores de incidência acima de 70% e fatores de risco à expressão de sintomas nas doses testadas.

REFERÊNCIAS

ABBEY, Joel A. et al. Management of *Botrytis* blossom blight in wild blueberries by biological control agents under field conditions. **Crop Protection**, v. 131, p. 105078, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105078>>.

ANTUNES, L. E. C.; BONOW, S. Morango: Produção aumenta ano a ano. **Anuário HF: Campo e Negócios**, p. 87–90, 2021.

BAGGIO, J. S.; PERES, N. A.; AMORIM, L.. Sensitivity of *Botrytis cinerea* isolates

from conventional and organic strawberry fields in Brazil to azoxystrobin, iprodione, pyrimethanil, and thiophanate-methyl. **Plant Disease**, v. 102, n. 9, p. 1803–1810, 2018.

BU, S. et al. *Bacillus subtilis* L1-21 as a biocontrol agent for postharvest gray mold of tomato caused by *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 157, p. 104568, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104568>>.

CARVALHO, M.S; ANDREOZZI, V.L.; CODEÇO, C.T.; BARBOSA, M.T.S.; SHIMAKURA, S.E. **Análise de sobrevida – Teoria e aplicações em saúde**. Rio de Janeiro, Ed. Fiocruz, 2005. 396p.

CHEN, Xiaomeng et al. Inhibitory abilities of *Bacillus* isolates and their culture filtrates against the gray mold caused by *Botrytis cinerea* on postharvest fruit. **Plant Pathology Journal**, v. 35, n. 5, p. 425–436, 2019.

COTA, L. V. et al. Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. **Biological Control**, v. 46, n. 3, p. 515–522, 2008.

CRUZ, A. F. et al. Biocontrol of strawberry fruit infected by *Botrytis cinerea*: Effects on the microbial communities on fruit assessed by next-generation sequencing. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 6, p. 403–411, 2018.

DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

ESSGHAIER, B. et al. Biological control of grey mould in strawberry fruits by halophilic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 3, p. 833–846, 2009.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization (FAO)**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 28 abr. 2022.

GHAOUTH, A. E.; WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M. Control of Postharvest Decay of Apple Fruit with *Candida saitoana* and Induction of Defense Responses. **Phytopathology**, v. 93, n. 3, p. 344–348, 2003.

GOTOR-VILA, A. et al. Biological control of brown rot in stone fruit using *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 under field conditions. **Crop Protection**, v. 102, p. 72–80, 2017.

HADDOUDI, Imen et al. Biological control of Fusarium wilt caused by *Fusarium equiseti* in *Vicia faba* with broad spectrum antifungal plant-associated *Bacillus* spp. **Biological Control**, v. 160, p. 104671, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104671>>.

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

JIANG, Chun Hao et al. *Bacillus velezensis*, a potential and efficient biocontrol agent

in control of pepper gray mold caused by *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 126, p. 147–157, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.017>>.

KUMARI, Sarita et al. Analyses of genetic and pathogenic variability among *Botrytis cinerea* isolates. **Microbiological Research**, v. 169, n. 11, p. 862–872, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2014.02.012>>.

LEGARD, D. E. et al. Effects of plant spacing and cultivar on incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 5, p. 531–538, 2000.

LEROUX, P. Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. In: ELAD, Y. et al. (Org.). **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. p. 195–222.

LOPES, U. P. et al. Resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides controlling gray mold on strawberry in Brazil. **Bragantia**, v. 76, n. 2, p. 266–272, 2017.

MARI, M. et al. Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 15, n. 8, p. 699–705, 1996.

MARI, M.; GUIZZARDI, M.; PRATELLA, G. C. Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. **Biological Control**, v. 7, n. 1, p. 30–37, 1996.

MERTELY, J. C. et al. Comparison of sanitation and fungicides for management of *Botrytis* fruit rot of strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 11, p. 1197–1202, 2000.

OLIVEIRA, M. S. et al. Sources of Primary Inoculum of *Botrytis cinerea* and Their Impact on Fungicide Resistance Development in Commercial Strawberry Fields. **Plant Disease**, v. 101, n. 10, p. 1761–1768, 2017.

PARISI, M. C. M.; COSTA, H.; BETTI, J. A.; TANAKA, M. A. S; MAY-DE MIO, L. L. Doenças do Morangueiro. In: AMORIM, L et al. (Org.). **Manual de Fitopatologia Volume 2: Doenças de Plantas Cultivadas**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. p. 561 - 572.

PETRASCH, Stefan et al. Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. **Molecular Plant Pathology**, v. 20, n. 6, p. 877–892, 2019.

R Core Team (2022). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REIS, A.; COSTA, H. Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle. **Circular Técnica**, v. 96, p. 1–9, Embrapa Hortaliças, 2011.

ROMANAZZI, G; FELIZIANI, E. *Botrytis cinerea* (Gray Mold). In: BAUTISTA-BAÑOS, SILVIA (Org.). **Postharvest Decay: Control Strategies**. 1st ed. Oxford: Elsevier, 2014. p. 131–146.

SAMARAS, Anastasios; HADJIPETROU, Chloe; KARAOGLANIDIS, George. *Bacillus amyloliquefaciens* strain QST713 may contribute to the management of SDHI resistance in *Botrytis cinerea*. **Pest Management Science**, v. 77, n. 3, p. 1316-1327, 2021.

SANG, Chengwei et al. Detection and fitness comparison of target-based highly fludioxonil-resistant isolates of *Botrytis cinerea* from strawberry and cucumber in China. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 147, n. February, p. 110–118, 2018.

SHANER, G. & R.E. FINNEY. The effect of nitrogen fertilisation on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology** 67: 1051–1056. 1977.

SHAO, Wenyong et al. Physiological and biochemical characteristics of laboratory induced mutants of *Botrytis cinerea* with resistance to fluazinam. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 117, p. 19–23, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357514001850>>.

SHTERNISH, M. V. et al. Influence of *Bacillus* spp. on strawberry gray-mold causing agent and host plant resistance to disease. **Contemporary Problems of Ecology**, v. 8, n. 3, p. 390–396, 2015.

SUTTON, J. C. Epidemiology and management of *Botrytis* leaf blight of onion and gray mold of strawberry: A comparative analysis. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 12, n. 1, p. 100–110, 1990.

TROTEL-AZIZ, P. et al. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 21–32, 2008.

WILLIAMSON, Brian et al. *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 5, p. 561–580, 2007.

XU, X.; HARRIS, D. C.; BERRIE, A. M. Modeling infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* using field data. **Phytopathology**, v. 90, n. 12, p. 1367–1374, 2000.

XU, Yang et al. Biocontrol potential of endophytic *Bacillus velezensis* strain QSE-21 against postharvest grey mould of fruit. **Biological Control**, v. 161, p. 104711, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104711>>.

4 CAPÍTULO II – EFICÁCIA DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO E FUNGICIDAS EM CULTIVO PROTEGIDO CONTRA MOFO CINZENTO EM MORANGUEIRO

RESUMO

O mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea*, é uma importante doença em cultivos de morango no Brasil. A principal forma de controle é por fungicidas químicos, que selecionam isolados do fungo resistentes a fungicidas, causando perdas de eficácia dos produtos. O controle biológico surge como uma alternativa para agregar ao manejo da doença nos cultivos, principalmente por bactérias, visto que são pouco ou nada afetadas pela aplicação em conjunto com fungicidas. No país, não existem estudos avaliando a eficácia de fungicidas e produtos para controle biológico em cultivos protegidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia a campo de fungicidas e produtos para controle biológico comerciais no manejo de mofo cinzento em morangueiro, em cultivo semi-hidropônico protegido, em colheita e pós-colheita. Dois ensaios foram conduzidos, em diferentes estufas, em cultivo comercial de morangueiro no município de São José dos Pinhais, Paraná, Brasil. Doze tratamentos foram utilizados: testemunha, sem nenhuma aplicação, os fungicidas procimidona, boscalida, fluazinam, a mistura de ciprodinil+fludioxonil, e pirimetanil, aplicados a cada 14 dias, e os produtos biológicos Serenade (*Bacillus subtilis* QST713), *Clonostachys* (*Clonostachys rosea*), No-Nema (*B. amyloliquefaciens*), Bio-Imune (*B. subtilis*), Bombardeiro e BTP 11-19 (*Bacillus* ssp.), e aplicados em frequência quinzenal. A cada semana, os frutos eram colhidos, separados entre sadios e doentes, e contados, a fim de calcular a incidência na colheita, e pesados, a fim de estimar a produtividade. A cada 14 dias, frutos eram levados para laboratório, e incubados em potes plásticos com recipiente com água para manter a umidade, em temperaturas de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, e avaliados diariamente por cinco dias, a fim de avaliar a incidência de mofo cinzento por tratamento na pós-colheita. Não houve diferença entre os tratamentos na colheita. Nas avaliações de pós-colheita, o melhor tratamento foi a mistura ciprodinil+fludioxonil, seguido por pirimetanil e procimidona. Os produtos biológicos não diferiram da testemunha. Esses resultados são importantes para fornecer diretrizes aos produtores da região para o manejo de mofo cinzento do morangueiro a campo.

Palavras-chave: *Botrytis cinerea*, manejo integrado de doenças, biofungicidas.

ABSTRACT

Gray mold, caused by *Botrytis cinerea*, is an important disease in strawberry crops in Brazil. The main method to control this disease is by chemical fungicides, which select resistant isolates to fungicides, causing losses in the effectiveness of the products. The biological control emerges as an alternative to add to the management of the disease in crops, especially by bacteria, since they are little or not affected by the application together with fungicides. In Brazil, there are no studies evaluating the efficacy of fungicides and biological control products in protected crops. The objective of this work was to evaluate the field efficacy of commercial fungicides and biological control products in the management of gray mold in strawberry, in protected semi-hydroponic crops, during harvest and post-harvest. Two trials were conducted, in different greenhouses, in commercial strawberry cultivation in the municipality of São José dos Pinhais, Paraná, Brazil. Twelve treatments were used: control, without any application, the fungicides procymidone, boscalid, fluazinam, the mixture of cyprodinil+fludioxonil, and pyrimethanil, applied every 14 days, and the biological products Serenade (*Bacillus subtilis* QST713), Clonostachys (*Clonostachys rosea*), No-Nema (*B. amyloliquefaciens*), Bio-Imune (*B. subtilis*), Bombardeiro and BTP 11-19 (*Bacillus* ssp.), and applied every week. Each week, the fruits were harvested, separated into healthy and diseased, and counted, in order to calculate the incidence at harvest, and weighed, in order to estimate productivity. Every 14 days, fruits were taken to the laboratory, and incubated in plastic jars with water container to maintain humidity, at temperatures of 22°C, and evaluated daily for five days, in order to evaluate the incidence of gray mold per treatment at postharvest. There was no difference between treatments at harvest. In postharvest evaluations, the best treatment was the cyprodinil+fludioxonil mixture, followed by pyrimethanil and procymidone. The biological products in general did not differ from the control. These results are important to provide guidelines to growers in the region for the management of strawberry gray mold in the field.

Keywords: *Botrytis cinerea*, integrated disease management, biofungicides.

4.1 INTRODUÇÃO

O Brasil encontra-se na sétima posição dos maiores produtores de morangos no mundo (FAOSTAT, 2022), e o estado do Paraná é o terceiro maior produtor de morangos do país (ANTUNES; BONOW, 2021). No maior estado produtor, cerca de 85% dos produtores adotam o sistema de plantio no solo com cobertura em túneis baixos; em estados com tecnologias de produção mais avançadas, quase 90% dos produtores optam pelo sistema de cultivo fora do solo, protegido com estufas altas em arco (ANTUNES; BONOW, 2021). A maior dificuldade relatada por produtores familiares em sistemas de plantio no solo sem cobertura, é a incidência de pragas e doenças (HENZ, 2010), que afetam, além da produtividade, a aparência dos frutos, que são muito apreciados para o consumo *in natura* (PARISI et al., 2016). Em condições de plantios sem cobertura no solo e com túneis plásticos baixos, as principais doenças em frutos de morango são antracnose dos frutos, mofo cinzento e podridão mole, causadas por *Colletotrichum* spp, *Botrytis cinerea* e *Rhizopus* spp., respectivamente (REIS; COSTA, 2011). Para plantios fora do solo com coberturas plásticas altas (cultivo protegido), ainda não há estudos mostrando quais são as doenças mais importantes no Brasil, mas nota-se uma diminuição na incidência de podridões causadas por *Colletotrichum* spp. e *B. cinerea*, como apontadas em estudos realizados com coberturas altas em outros países (BURLAKOTI; ZANDSTRA; JACKSON, 2013).

O mofo cinzento é causado pelo patógeno *B. cinerea*, e se encontra na lista dos 10 fungos mais importantes do mundo em quesitos econômicos e científicos (DEAN et al., 2012). É um dos principais causadores de perdas em pós-colheita em diversas culturas, incluindo o morangueiro (ROMANAZZI; FELIZIANI, 2014). Diversas partes da planta podem ser alvo da doença, como flores (XU; HARRIS; BERRIE, 2000), frutos, folhas e coroa (SUTTON, 1990). As principais fontes de inóculo são os restos culturais, frutos mumificados, escleródios, que germinam no início da primavera em regiões temperadas (WILLIAMSON et al., 2007) e, ainda, infecções quiescentes vindas com propágulos de viveiros (OLIVEIRA et al., 2017). As perdas podem ocorrer tanto no campo como nos locais de comercialização, onde o patógeno permanece quiescente nos tecidos (WILLIAMSON et al., 2007). Manejos culturais podem ser empregados, como espaçamentos maiores, cultivares mais resistentes (LEGARD et al., 2000), e remoção de folhas velhas e frutos doentes

(MERTELY et al., 2000), com eficácia limitada. Portanto, o controle químico continua sendo a forma mais frequentemente utilizada para o controle da doença no campo.

Programas de aplicação de fungicidas são feitos desde o florescimento até a colheita, sendo recomendada a aplicação de fungicidas logo na abertura das flores ou poucos dias após, para que o controle seja efetivo, pois são os órgãos que apresentam maior suscetibilidade às infecções do patógeno (MERTELY; MACKENZIE; LEGARD, 2002). Em trabalho realizado no estado do Paraná para avaliar a sensibilidade *in vitro* de *B. cinerea* aos principais fungicidas, mostrou que a porcentagem de isolados resistentes aos principais fungicidas utilizados chegou a mais de 90%, sendo que a maioria dos fungicidas testados apresentou porcentagem de isolados resistentes superior a 40% (MAIA et al., 2021). Com a crescente seleção de isolados resistentes aos fungicidas utilizados, recentemente foi registrado no Brasil a mistura dos ingredientes ativos ciprodinil+fludioxonil, com diferente mecanismo de ação quando comparado aos fungicidas anteriormente registrados no Brasil (AGROFIT, 2022).

Com o crescimento de casos de resistência de fungos a fungicidas em todo o mundo, cada vez mais torna-se necessária a procura por novos métodos de controle de doenças, como, por exemplo, o controle biológico para serem usados separadamente ou em conjunto com os fungicidas. Os agentes de controle biológico se mostraram eficazes contra o mofo cinzento em diversas culturas. Algumas espécies de *Bacillus* ssp. tiveram efeito em uvas, peras em pós-colheita, tomates e morangos, sendo promissores na pós-colheita dos frutos (ESSGHAIER et al., 2009; MARI et al., 1996; MARI; GUIZZARDI; PRATELLA, 1996; TROTEL-AZIZ et al., 2008). Outro agente de controle é o fungo *Clonostachys rosea*, mostrando eficácia em rosas, tomates, eucaliptus, ciclâmen e morangos, em frutos, flores e folhas, com eficácia comparável com tratamentos químicos (KÖHL et al., 1998; NOBRE et al., 2005; PENG; SUTTON, 1991; PENG; SUTTON; KEVAN, 1992; SUTTON; PENG, 1993). Sua eficácia já é comprovada a campo na cultura do morangueiro contra mofo cinzento no Brasil, em condições de plantio em solo a céu aberto (COTA et al., 2008).

Cerca de 500 produtos biológicos são registrados no Brasil, visando a proteção das plantas contra pragas e doenças. Até o momento, não existem estudos que comparem a eficácia destes biológicos comerciais disponíveis com fungicidas, em condições de plantio protegido fora de solo. Com isso, o objetivo deste trabalho

foi avaliar a eficácia de fungicidas e produtos biológicos comerciais, ou em processo de registro para o controle de mofo cinzento, em cultivo protegido fora do solo, tanto para condições de colheita como para pós-colheita dos frutos.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em estufas comerciais de morangos semi-hidropônicos no município de São José dos Pinhais – Paraná, latitude 25° 33' 46.598" S e longitude 49° 7' 32.704" O. As mudas enraizadas da cultivar Monterrey, foram obtidas do viveiro Agrícola Llahuen, localizado no Chile. O delineamento experimental foi blocos casualizados com 12 tratamentos (Tabela 3) e 3 repetições, sendo cada repetição composta por 10 plantas. Foram deixadas outras quatro plantas como bordadura entre cada tratamento. As plantas foram plantadas em slabs, em linha simples com espaçamento de 16 cm entre plantas e 1 m entre linhas, totalizando 60.000 plantas/ha. Os produtos químicos foram aplicados em intervalos de quatorze dias, e os produtos biológicos foram aplicados em intervalos semanais. As aplicações foram realizadas com um pulverizador manual de compressão prévia de 1,5 L (marca Kala) com volume de calda que variou de 300 a 600 l/ha em função do desenvolvimento da planta.

TABELA 3 – NOME COMERCIAL, INGREDIENTES ATIVOS E DOSES DE APLICAÇÃO DOS PRODUTOS TESTADOS PARA O MANEJO DE MOFO CINZENTO EM MORANGUEIRO.

PRODUTO COMERCIAL OU NOME	REGISTRANTE	INGREDIENTE(S) ATIVO(S)	COMPOSIÇÃO	DOSE (g OU mL/L)
Testemunha	-	-	-	-
Sialex 500	Sumitomo Chemical Do Brasil	Procimidona	500 g i.a./kg	1 (0,5 g i.a./L)
Cantus	BASF S.A.	Boscalida	500 g i.a./kg	0,8 (0,4 g i.a./L)
Frowncide	ISK Biosciences	Fluazinam	500 g i.a./L	1 (0,5 g i.a./L)
Switch	Syngenta Proteção De Cultivos	Ciprodinil + Fludioxonil	375; 250 g i.a./kg	1,25 (0,47; 0,31 g i.a./L)
Mythos	Bayer S. A.	Pirimetanil	300 g i.a./L	2 (0,6 g i.a./L)
Serenade	Bayer S. A.	Bacillus <i>subtilis</i> QST713	1,3x10 ¹⁰ UFC/L	4

<i>Clonostachys</i>	-	<i>Clonostachys rosea</i>	1,0x10 ⁹ UFC/g	3
<i>Bacillus</i>				
No-Nema	Biovalens LTDA.	<i>amyloliquefaciens</i> BV03	3x10 ⁹ UFC/mL	20
Bio-Imune	Biovalens LTDA.	<i>Bacillus subtilis</i> BV02	3x10 ⁹ UFC/mL	20
Bombardeiro	Biotrop LTDA.	<i>B. subtilis</i> ,	1,5x10 ¹¹ ;	5
		<i>B. velezensis</i> ,	1,2x10 ¹¹ ;	
		<i>B. pumilus</i>	1,9x10 ¹¹ UFC/L	
BTP 11-19	Biotrop LTDA.	<i>Bacillus</i> spp.	Não informado	5

Fonte: a autora (2022).

As mudas foram plantadas nos dias 30/03/2021 para o experimento 1 e 01/04/2021 para o experimento 2, sendo utilizadas diferentes estufas. As plantas de morango foram fertirrigadas de acordo com as recomendações de adubação. O início das aplicações dos produtos (tratamentos) foram quando aproximadamente 50% das plantas apresentaram florescimento, que foi no dia 24/05/2021 (54° dia após o plantio (DAP)) para o experimento 1 e no dia 31/05/2021 (60° DAP) para o experimento 2. Ambos os experimentos foram avaliados ao longo de 287 dias após o início das aplicações, que correspondeu a 342 e 347 DAP, para os experimentos 1 e 2, respectivamente. O experimento 1 ficou sem cobertura plástica dos 119 aos 143 dias DAP (24 dias ao total), por conta de manutenções na estrutura da estufa.

Dados climáticos diários foram obtidos de uma estação meteorológica pertencente ao Simepar (Sistema de Tecnologia e Monitoramento Ambiental do Paraná), localizado a cerca de 17 km da propriedade.

Coletores de esporos foram instalados em cada uma das estufas, em duas alturas: 0,5m e 1,5m. As lâminas foram substituídas a cada 15 dias e avaliadas com auxílio de microscópio de luz, para a verificação do número de esporos por lamínula (2x2 cm).

Os frutos foram colhidos uma ou duas vezes por semana, conforme a necessidade, divididos entre sadios e doentes, contados e pesados. A incidência da doença na colheita foi obtida em intervalos de 15 dias e foi calculada como $I = (D/T) * 100$, onde I é a incidência da doença, expressa em porcentagem, D é o número de frutos doentes, e T é o número total de frutos colhidos. Foi calculada a incidência acumulada ao longo do experimento, que foi o resultado do número total de frutos

sadios e doentes colhidos, acumulando com o tempo, desde o início do experimento até o final do experimento para observar o comportamento da doença ao longo do tempo. Para avaliar a eficácia dos produtos, e como ocorrem picos de produção, foi determinada a incidência do primeiro e do segundo pico de produção, que se estenderam dos 69 DAP aos 220 DAP e dos 221 aos 342/347 DAP, respectivamente, sendo essas incidências obtidas utilizando o número de frutos doentes em relação ao número total de frutos (sadio + doente) dentro de cada período do pico, e a incidência final, que é a incidência obtida utilizando o número de frutos doentes em relação ao número total de frutos colhidos durante todo o experimento. Foi determinada também a incidência pontual, em que levou em consideração apenas o número de frutos sadios e doentes dentro do intervalo de 15 dias (Tabela e figura em anexo). Com os dados de incidência acumulada e pontual ao longo do tempo, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (SHANER & FINNEY, 1977). Com os dados do peso dos frutos colhidos durante o experimento, foi estimada a produtividade para cada tratamento.

Seis dias após a aplicações dos fungicidas, 8 a 15 frutos/repetição em ponto de colheita, em intervalos de 14 dias, foram levados ao laboratório e acondicionados em potes plásticos fechados, com um copo plástico contendo 5 ml de água destilada para manutenção da umidade, e incubados em câmaras de crescimento em temperatura entre $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ por cinco dias. Avaliações diárias por cinco dias foram feitas para verificar a presença de sinais do fungo nos frutos. Foi determinada a incidência final aos 5 dias após a incubação, utilizando frutos colhidos com intervalos de 14 dias, durante todo o experimento. Com isso foi possível observar o progresso da doença ao longo do experimento. Com o objetivo de avaliar o progresso da doença ao longo dos 5 dias de incubação, foi obtida a incidência com frutos colhidos a cada 14 dias dentro do primeiro e do segundo pico de produção, que se estenderam dos 69 DAP aos 220 DAP e dos 221 aos 342/347 DAP, respectivamente. Essas incidências foram obtidas utilizando o número de frutos doentes em relação ao número total de frutos (sadio + doente) em cada um dos 5 dias de avaliação, e a incidência final, que é a incidência obtida utilizando o número de frutos doentes em relação ao número total de frutos colhidos durante todo o experimento, sendo avaliada a cada dia.

Com os dados de incidência final aos 5 dias após a incubação, incidência no primeiro pico, incidência no segundo pico e incidência final, foram calculadas as

áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (SHANER & FINNEY, 1977). Os dados de incidência, AACPD e produtividade foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott com 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas com o software R, versão 4.1.3 (R Core Team, 2022).

4.3 RESULTADOS

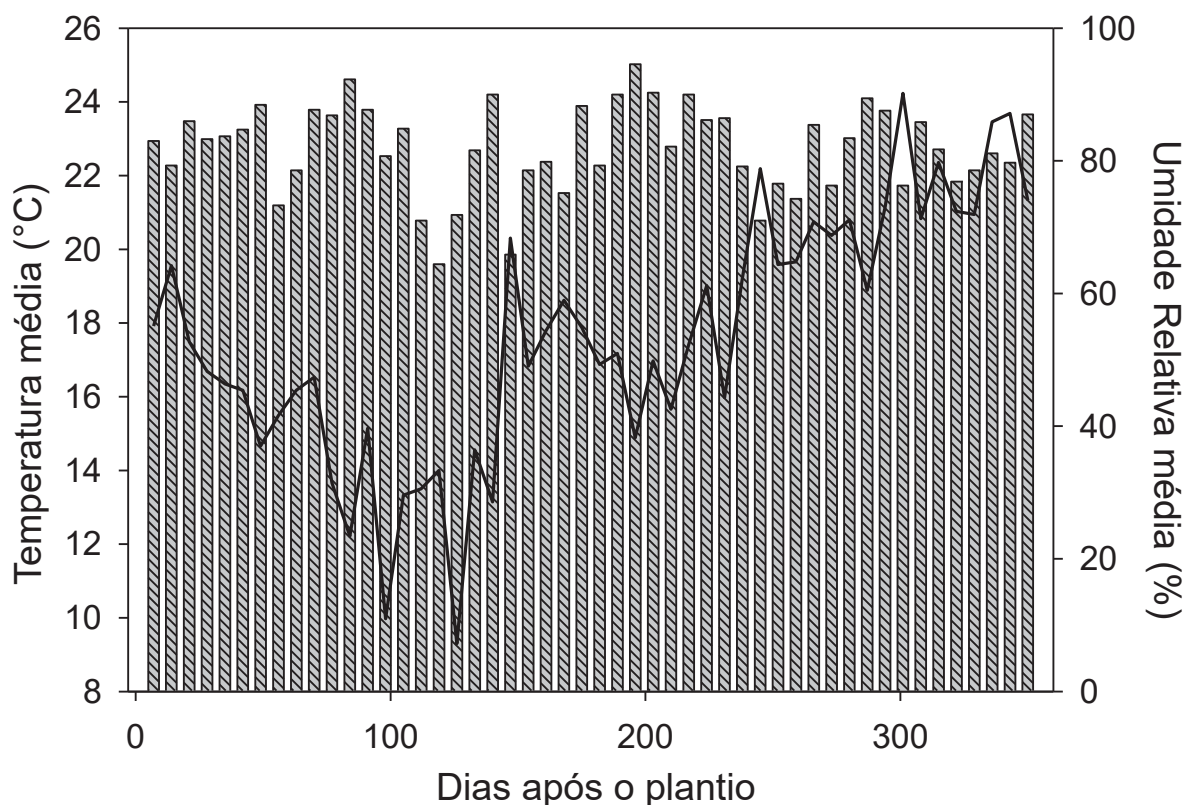
4.3.1 Incidência de mofo cinzento em morangos no momento da colheita

O número de esporos por lamínula teve uma média de 3,2 (variando de 0 a 52) aos 0,5 m de altura e de 4,1 aos 1,5 m de altura, variando de 0 a 33, para o experimento 1. No experimento 2, a média aos 0,5 m foi de 0,5 (variando de 0 a 8) e aos 1,5 m foi de 0,6, variando de 0 a 12.

Pode-se observar menores temperaturas por volta dos 100 dias após o plantio, que correspondem ao inverno. Os valores de umidade relativa ficaram em torno de 80% durante todo o experimento (Figura 2). A temperatura média diária e umidade relativa média diária foi de 15,7°C e 82,4% no primeiro pico de produção e de 20,8°C e 81,2% para o segundo pico de produção.

A média semanal dos dados climáticos obtidos estão mostrados na Figura 2.

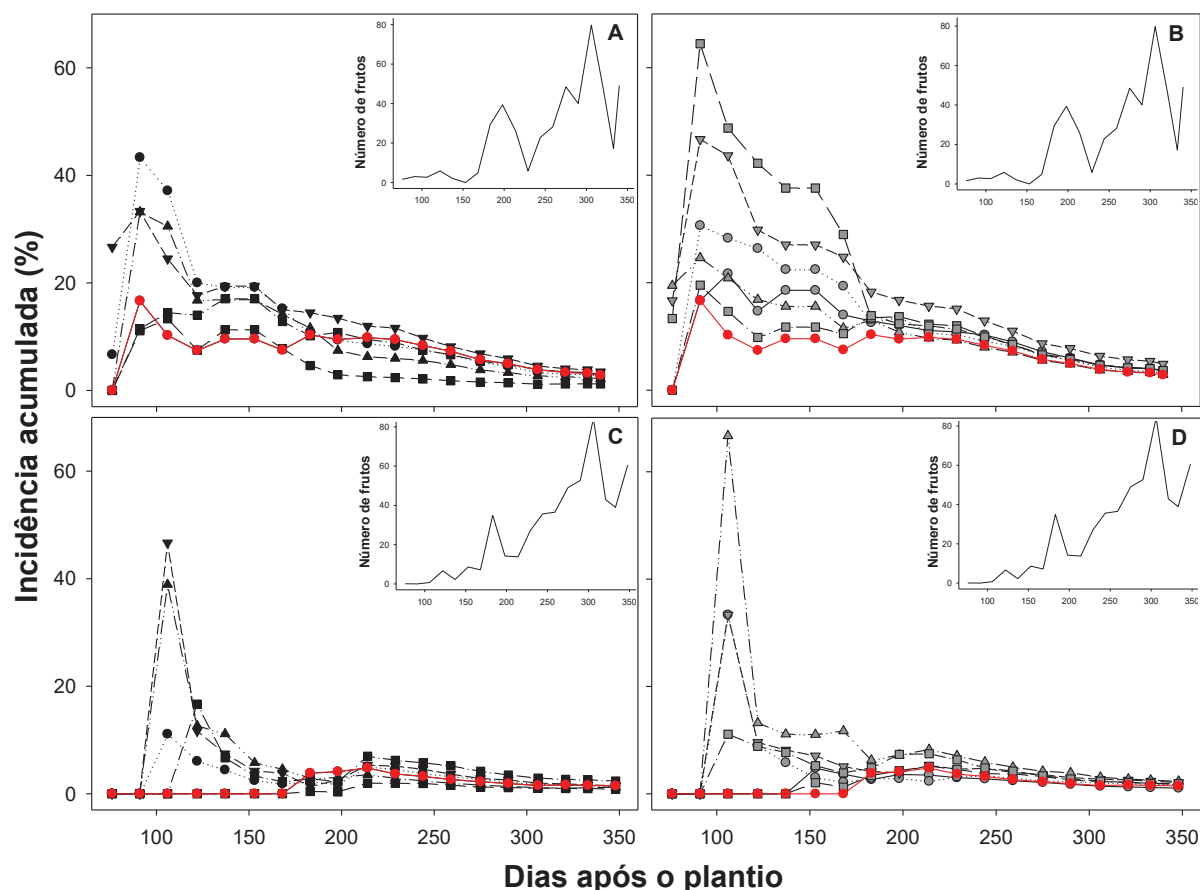
FIGURA 3 - TEMPERATURA MÉDIA SEMANAL (°C) E UMIDADE RELATIVA MÉDIA SEMANAL (%) OBTIDA DESDE O PLANTIO ATÉ O FINAL DO EXPERIMENTO.



Fonte: a autora (2022).

Foi observada uma maior incidência de mofo cinzento em frutos de morango na ocasião da colheita, no início dos experimentos, reduzindo ao longo do tempo. De forma contrária, o número médio de frutos colhidos foi aumentando ao longo do tempo, com dois picos bem definidos entre 150 e 225 DAP, e de 225 DAP até quase o final do experimento (Figura 3).

FIGURA 4 –INCIDÊNCIA ACUMULADA DE MOFO CINZENTO E EVOLUÇÃO DO NÚMERO MÉDIO DE FRUTOS COLHIDOS, DOS EXPERIMENTOS 1 (A E B) E 2 (C E D), COMPARANDO OS TRATAMENTOS QUÍMICOS (A E C) E BIOLÓGICOS (B E D).

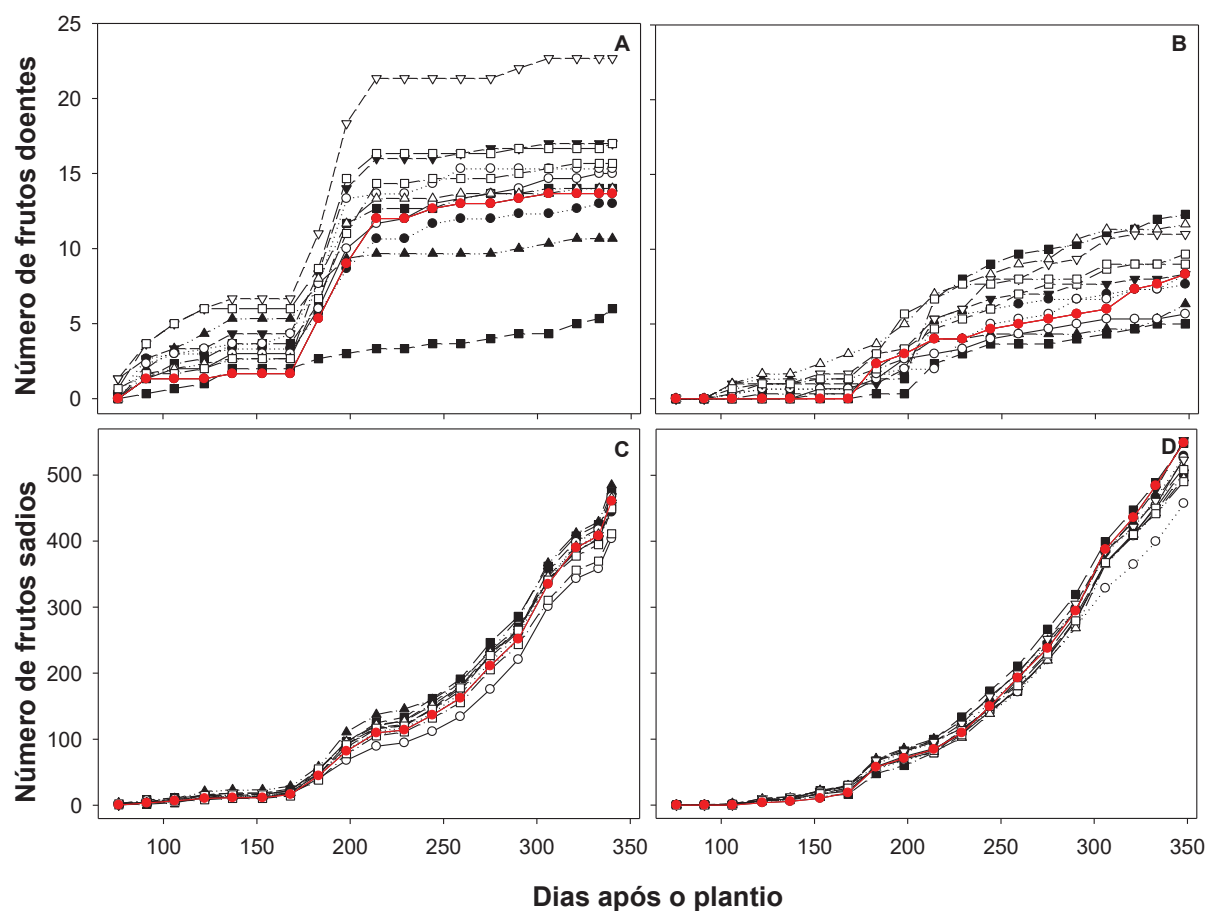


Fonte: a autora. Legenda: (—●—) Testemunha; (---●---) Procimidona; (—▼—) Boscalida; (---▲---) Fluazinam; (—■—) Ciprodinil+Fludioxonil; (---■---) Pirimetanil; (—●—) Serenade; (---●---) *Clonostachys*; (—▼—) No-Nema; (---▲---) Bio-Imune; (—■—) Bombardeiro; (---■---) BTP 11-19.

O número médio de frutos obtido dentro de 15 dias ao longo dos experimentos variou de valores próximos a 0 até aproximadamente 80 frutos/parcela. Para todos os tratamentos dos dois experimentos, as incidências ao longo do tempo ficaram abaixo dos 20% aos 183 DAP (Figura 3).

O número de frutos doentes acumulado ao longo dos experimentos para o experimento 1 aumentou até aproximadamente 200 DAP e depois teve uma tendência de estabilizar, no entanto, para o experimento 2 o aumento foi constante (Figura 4).

FIGURA 5 – MÉDIA DO NÚMERO DE FRUTOS DOENTES (A, B) E SADIOS (C,D) ACUMULADO POR TRATAMENTO, AO LONGO DO TEMPO, NOS EXPERIMENTOS 1 (A, C) E 2 (B, D).



Fonte: a autora (2022). Legenda: Tratamentos: (—●—) Testemunha; (---●---) Procimidona; (---▼---) Boscalida; (---▲---) Fluazinam; (---■---) Ciprodinil + Fludioxonil; (---■---) Pirimetanil; (---○---) Serenade; (---○---) *Clonostachys*; (---▽---) No-Nema; (---△---) Bio-Imune; (---□---) Bombardeiro; (---□---) BTP 11-19.

Não houve efeito dos tratamentos na incidência de mofo cinzento, independente dos picos de frutificação e ao final do experimento. Os valores de incidência foram maiores no primeiro pico tanto no experimento 1 quanto no experimento 2, quando comparado ao segundo pico e incidência final (Tabela 4).

TABELA 4 – INCIDÊNCIA DE MOFO CINZENTO, NO PRIMEIRO E SEGUNDO PICOS DE FRUTIFICAÇÃO E INCIDÊNCIA FINAL

TRATAMENTOS	EXPERIMENTO 1			EXPERIMENTO 2		
	1º PICO	2º PICO	FINAL	1º PICO	2º PICO	FINAL
Testemunha	9,5 ^{NS}	0,5 ^{NS}	2,9 ^{NS}	4,8 ^{NS}	0,9 ^{NS}	1,5 ^{NS}
Procimidona	8,2	0,7	2,7	5,0	0,6	1,4
Boscalida	11,6	0,3	3,5	5,3	0,6	1,5
Fluazinam	6,0	0,3	2,1	3,5	0,6	1,2
Ciprodinil+Fludioxonil	2,4	0,8	1,2	2,0	0,6	0,9

Pirimetanil	8,9	0,4	3,0	7,0	1,3	2,4
Serenade	10,9	1,0	3,6	3,5	0,6	1,1
<i>Clonostachys</i>	10,3	0,5	3,2	2,3	1,6	1,8
No-Nema	15,1	0,4	4,9	5,3	1,3	2,1
Bio-Imune	9,3	0,2	2,9	8,2	1,1	2,3
Bombardeiro	12,0	0,2	3,6	5,1	1,0	1,8
BTP 11-19	11,4	0,4	3,6	7,5	0,7	1,9

Fonte: a autora (2022).

^{NS} = Médias não diferiram pelo teste F a 5% de probabilidade.

Não houve efeito dos tratamentos na AACPD da incidência acumulada e produtividade de plantas de morangueiro, em ambos os experimentos, como mostrado na Tabela 5.

TABELA 5 - AACPD DA INCIDÊNCIA ACUMULADA DE MOFO CINZENTO E PRODUTIVIDADE DE MORANGUEIRO EM CULTIVO PROTEGIDO, AO FINAL DO EXPERIMENTO, NOS EXPERIMENTOS 1 E 2.

TRATAMENTOS	EXPERIMENTO 1		EXPERIMENTO 2	
	AACPD	PRODUTIVIDADE (Kg/ha)	AACPD	PRODUTIVIDADE (Kg/ha)
Testemunha	2080,1 ^{NS}	41.465,6 ^{NS}	471,6 ^{NS}	48.684,2 ^{NS}
Procimidona	3470,5	46.582,3	862,9	46.947,0
Boscalida	3610,0	44.481,7	1646,4	47.639,3
Fluazinam	2816,2	45.546,0	1474,3	45.807,1
Ciprodinil+Fludioxonil	1303,8	44.309,7	203,2	48.515,9
Pirimetanil	2455,9	45.454,0	1123,2	44.142,6
Serenade	2992,7	37.120,0	519,0	47.612,6
<i>Clonostachys</i>	3629,3	43.385,5	1249,3	40.757,4
No-Nema	5039,9	41.796,0	1591,9	46.656,4
Bio-Imune	2940,8	44.048,9	2603,9	42.371,9
Bombardeiro	5517,5	43.628,8	608,8	46.734,3
BTP 11-19	2598,5	37.951,5	1287,5	48.579,0

Fonte: a autora (2022).

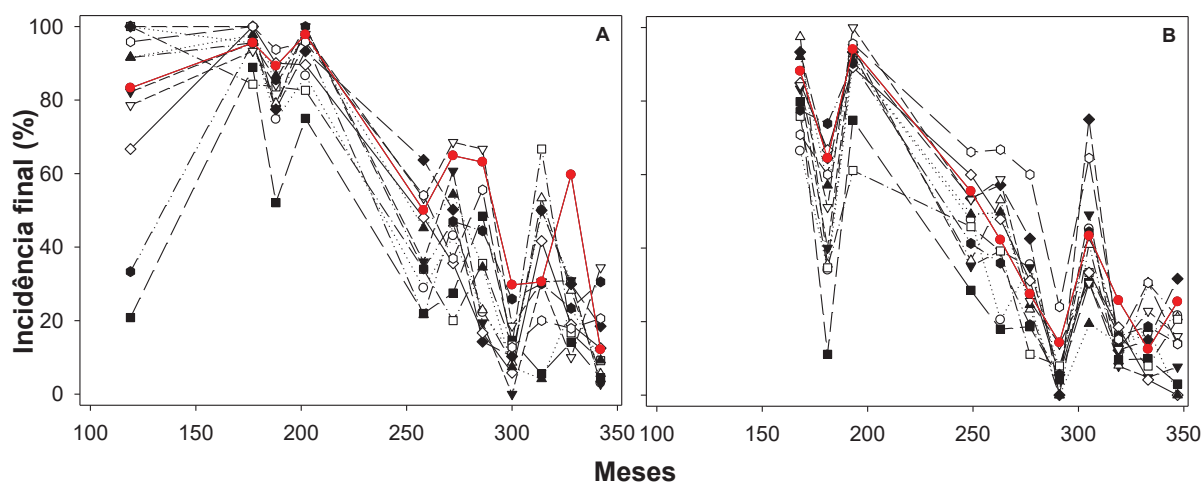
^{NS} = Médias não diferiram pelo teste F a 5% de probabilidade.

No experimento 1, a produtividade estimada por hectare variou entre 37.120 a 46.582 kg/ha, enquanto no experimento 2 variou entre 40.757 e 48.684 kg/ha (Tabela 5).

4.3.2 Incidência de mofo cinzento em morangos em pós-colheita

Foram feitas no total 11 avaliações de incidência de mofo cinzento na pós-colheita, para cada um dos experimentos. Pode-se observar que conforme o passar do tempo, a incidência aos cinco dias de avaliação diminui, principalmente no segundo pico de produção, como mostra a Figura 5.

FIGURA 6 - INCIDÊNCIA FINAL DE MOFO CINZENTO EM FRUTOS DE MORANGUEIRO, AOS 5 DIAS APÓS CADA DATA DE COLHEITA, NOS EXPERIMENTOS 1 (A) E 2 (B).



Fonte: a autora (2022). Legenda: Tratamentos: (—●—) Testemunha; (···●···) Procimidona; (---▼---) Boscalida; (---△---) Fluazinam; (---■---) Ciprodinil + Fludioxonil; (---□---) Pirimetanil; (---◆---) Serenade; (---◇---) Clonostachys; (···▲···) No-Nema; (---▽---) Bio-Imune; (---●---) Bombardeiro; (---○---) BTP 11-19.

Não houve diferenças entre os tratamentos nos valores de AACPD da incidência final aos 5 dias para ambos os experimentos (Tabela 6).

TABELA 6 - VALORES DE AACPD DA INCIDÊNCIA FINAL DE MOFO CINZENTO EM FRUTOS DE MORANGUEIRO EM PÓS-COLHEITA.

TRATAMENTO	AACPD	
	EXPERIMENTO 1	EXPERIMENTO 2
Testemunha	10.296,0 ^{NS}	9.093,1 ^{NS}
Procimidona	7.660,1	7.779,7
Boscalida	8.190,8	7.587,6
Fluazinam	7.834,8	7.911,4
Ciprodinil+Fludioxonil	6.059,1	5.532,5

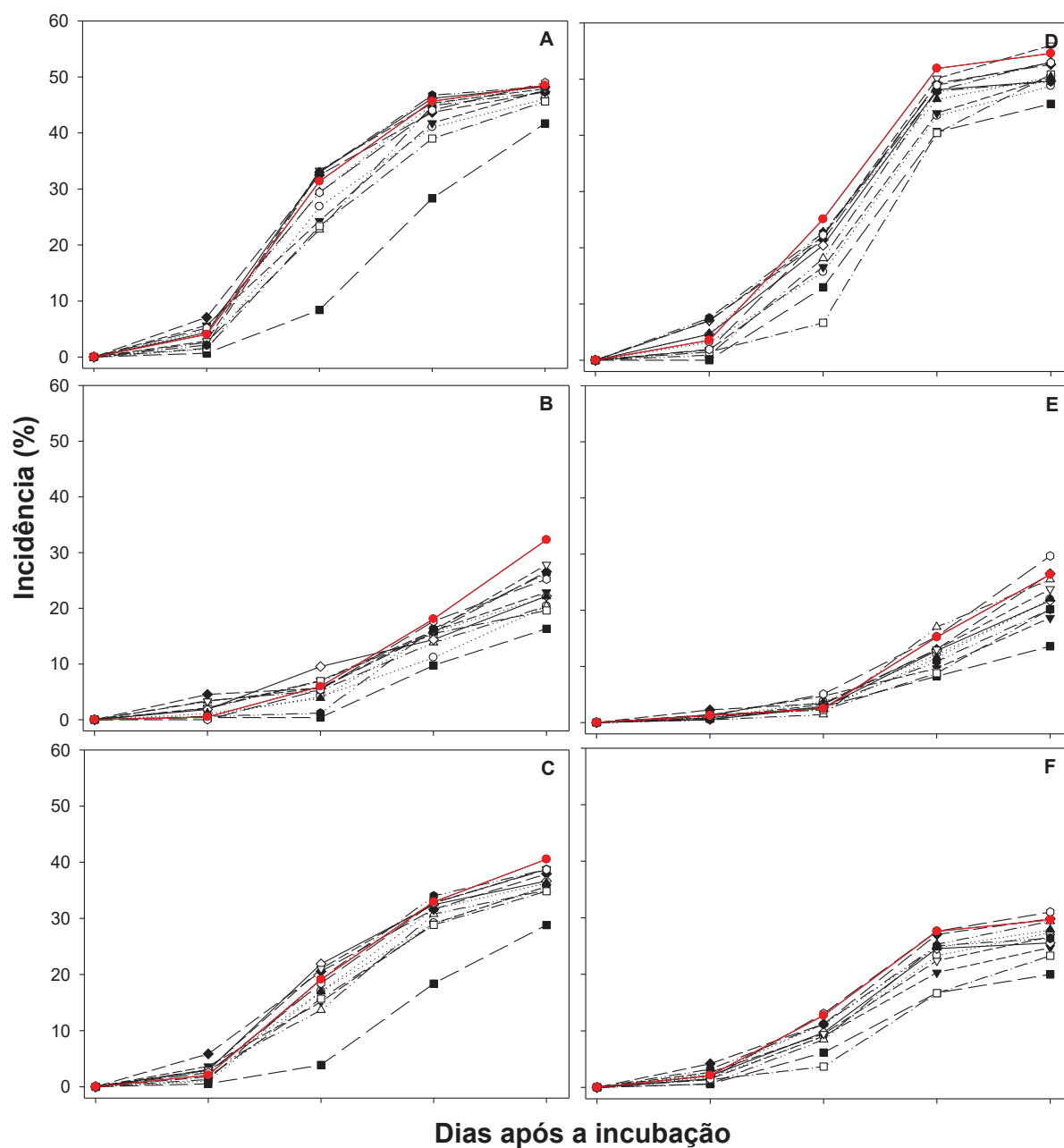
Pirimetanil	7.725,8	6.421,4
Serenade	9.227,9	9.587,1
<i>Clonostachys</i>	8.171,2	8.558,9
No-Nema	8.347,0	7.969,9
Bio-Imune	9.744,1	8.930,3
Bombardeiro	8.823,3	8.078,4
BTP 11-19	9.040,1	10.600,9

Fonte: a autora (2022).

^{NS} = Médias não diferiram pelo teste F a 5% de probabilidade.

Foram observados comportamentos similares nos dados de pós-colheita para ambos os experimentos. Durante o primeiro pico de produção, foi observado um crescimento mais rápido da doença bem como maiores valores de incidência (Figura 6).

FIGURA 7 – INCIDÊNCIAS GERAIS DE MOFO CINZENTO AO LONGO DO TEMPO EM MORANGOS NA PÓS-COLHEITA, DOS EXPERIMENTOS 1 (A, B, C) E 2 (D, E, F), COMPARANDO A MÉDIA NO PRIMEIRO PICO DE PRODUÇÃO (A, D), DO SEGUNDO PICO DE PRODUÇÃO (B, E) E A MÉDIA DE TODAS AS OBSERVAÇÕES (C, F).



Fonte: a autora (2022). Legenda: Tratamentos: (—●—) Testemunha; (···●···) Procimidona; (---▼---) Boscalida; (---△---) Fluazinam; (---■---) Ciprodinil + Fludioxonil; (---□---) Pirimetanil; (---◆---) Serenade; (---◇---) *Clonostachys*; (···▲···) No-Nema; (---▽---) Bio-Imune; (---●---) Bombardeiro; (---○---) BTP 11-19.

Por meio da AACPD da incidência com dados de todas as observações durante o experimento 1, o fungicida ciprodinil+fludioxonil foi o que apresentou melhor eficácia, seguido pelos demais fungicidas (pirimetanil, procimidona, fluazinam e boscalida) e o produto biológico No-Nema. Os demais biológicos não diferiram da testemunha. Para o experimento 2, os melhores tratamentos foram os fungicidas

pirimetanil, a mistura ciprodinil+fludioxonil, e boscalida. Os demais tratamentos não diferiram da testemunha (Tabela 7).

TABELA 7 – VALORES DE AACPD DE TODO O EXPERIMENTO, EM PRIMEIRO PICO E SEGUNDO PICO DE PRODUÇÃO, DE MOFO CINZENTO EM MORANGOS NA PÓS-COLHEITA, NOS EXPERIMENTOS 1 E 2.

TRATAMENTOS	EXPERIMENTO 1						EXPERIMENTO 2					
	1° PICO		2° PICO		TODO O		1° PICO		2° PICO		TODO O	
						EXP.						EXP.
Testemunha	105,3*	a	40,7 ^{NS}	74,4*	a		107,8*	a	32,2 ^{NS}	57,3*	a	
Procimidona	92,5	b	26,3	65,2	b		86,9	b	27,8	48,0	a	
Boscalida	95,5	b	36,5	65,7	b		87,5	b	25,0	43,3	b	
Fluazinam	93,9	b	32,7	65,0	b		93,6	a	31,7	49,1	a	
Ciprodinil+Fludioxonil	58,3	c	18,7	37,2	c		76,4	b	18,7	33,5	b	
Pirimetanil	86,7	b	34,2	63,7	b		73,9	b	22,5	33,4	b	
Serenade	106,9	a	39,2	77,0	a		104,0	a	32,0	57,4	a	
<i>Clonostachys</i>	107,7	a	36,9	75,6	a		98,0	a	27,0	49,1	a	
No-Nema	103,7	a	31,9	69,7	b		99,1	a	26,1	52,5	a	
Bio-Imune	105,4	a	38,9	76,2	a		107,1	a	29,0	47,9	a	
Bombardeiro	106,0	a	31,3	73,9	a		102,8	a	24,5	52,7	a	
BTP 11-19	103,1	a	35,7	73,0	a		99,6	a	36,4	55,4	a	

Fonte: a autora (2022).

^{NS} = Médias não diferiram pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade;

* = médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Para a avaliação de AACPD da incidência no primeiro pico de produção, no experimento 1, a mistura ciprodinil+fludioxonil foi o melhor tratamento, seguido pelos fungicidas pirimetanil, procimidona, fluazinam e boscalida, enquanto os produtos biológicos não diferiram da testemunha. Para o experimento 2, os tratamentos que apresentaram melhor eficácia foram os fungicidas pirimetanil, a mistura ciprodinil+fludioxonil, procimidona e boscalida. Os demais tratamentos não diferiram da testemunha (Tabela 7).

Quando avaliado o segundo pico de produção, para ambos os experimentos não houve diferença nos valores de AACPD da incidência (Tabela 7).

4.4 DISCUSSÃO

Estudos avaliando a eficácia de produtos no controle do mofo cinzento a campo são escassos no Brasil. Tendo em vista que esta é uma doença de importância para diversas culturas, tem-se a necessidade de estudos nesta linha. Foram testados fungicidas e produtos biológicos no controle de mofo cinzento em morangueiro, a fim de validar a eficácia destes produtos em cultivo fora do solo, protegido com túneis altos, em condições de colheita e pós-colheita. Foram observados dois picos marcados de produção, com valores de incidência maiores no primeiro pico e menores no segundo pico de produção. Não houve diferenças entre os tratamentos no controle da doença no momento da colheita e nem na produtividade, sendo observados baixos valores de incidência. Nas avaliações de pós-colheita, de forma geral, a mistura ciprodinil+fludioxonil apresentou os melhores resultados, com porcentagens de incidência e valores de AACPD inferiores aos demais fungicidas e produtos biológicos. Os produtos biológicos de maneira geral não diferiram da testemunha. Essas informações são importantes para o manejo da doença e para servir de base de estudos futuros tanto com o uso de fungicidas quanto agentes de controle biológico.

Durante a colheita dos frutos ao longo dos experimentos foi observada baixa incidência da doença, com valores de incidência menores que 20% na maior parte do tempo. Uma baixa quantidade de inóculo foi coletada nas lâminas ao longo do tempo, no entanto, poucos ciclos secundários podem ter ocorrido não fazendo com que fosse observado aumento da incidência ao longo do tempo. Sendo assim, o inóculo que gerou a doença provavelmente vieram nas mudas. Alguns autores mostraram comparações entre cultivos protegidos ou não, e relataram menores incidências em cultivos cobertos, com valores de 0,39% quando avaliada a cultivar Albion, sem a aplicação de fungicidas (BURLAKOTI; ZANDSTRA; JACKSON, 2013), chegando a incidência pontual máxima de 5% em cultivo protegido, contra mais de 30% em plantio descoberto (XIAO et al., 2001). Essa diferença pode acontecer devido ao aumento da temperatura e diminuição do molhamento foliar (MENZEL; SMITH; MOISANDER, 2014), dificultando a dispersão do patógeno pelas gotas de água. Ainda em estudos comparando cultivos protegidos ou não, foi relatado que a correlação entre a quantidade de chuva semanal e a porcentagem de frutos avariados em cultivos abertos foi baixa ($R^2=0,37$), sugerindo que a chuva ocorrida

em uma semana pode afetar a produção durante várias semanas seguintes (MENZEL; SMITH; MOISANDER, 2014). No experimento 1, as plantas ficaram descobertas durante 24 dias, e seus valores de incidência geral estatisticamente diferentes do experimento 2 (dato não apresentado), colaborando com a sugestão do estudo anterior.

A testemunha, diferente de todos os outros tratamentos, não tinha aplicações de água misturada com o produto a ser testado. Os momentos durante e pouco após as pulverizações, por conta da presença de água livre nas folhas, podem apresentar um microclima local mais propício para a infecção do patógeno. Em geral, altas umidades relativas promovem a infecção da planta pelo patógeno, e aliado com menores incidências de luz e temperaturas amenas, promovem ainda mais o desenvolvimento da doença (WILLIAMSON et al., 2007).

Maiores valores de incidência foram observados nos meses de maio a outubro, no primeiro pico de produção, onde geralmente as temperaturas são mais amenas e a umidade relativa é maior. Em alguns anos, dependendo das condições climáticas, as incidências de mofo cinzento em cultivos de morango podem ser até insignificantes (BURLAKOTI; ZANDSTRA; JACKSON, 2013). Em boa parte do segundo pico de produção no nosso experimento, não houve condições ambientais favoráveis para a ocorrência da doença, visto que os valores de incidência na colheita não passaram de 1,6%.

Alguns autores sugerem que em plantios cobertos com túneis altos, como o caso do nosso experimento, pela baixa incidência de mofo cinzento e antracnose em frutos de morango, não há necessidade do uso de controle químico para estas doenças, naquelas condições experimentais comparando com a aplicação semanal do fungicida captan (BURLAKOTI; ZANDSTRA; JACKSON, 2013). Nas nossas condições experimentais, não houve diferença entre os tratamentos em fase de colheita, sugerindo também que não há necessidade do uso de controle químico nestas condições, considerando a incidência no momento da colheita. Um estudo mostrou que algumas culturas, quando cultivadas em ambientes protegidos, apresentam concentrações mais altas de resíduos detectáveis de pesticidas, inclusive dos fotolábeis, quando comparados com culturas similares em campo aberto, devido as condições alteradas de luz pelos plásticos de cobertura (ALLEN et al., 2015). Visando este problema, os fungicidas avaliados neste estudo foram aplicados a cada 15 dias, a fim de diminuir a possibilidade de resíduos detectáveis

acima dos níveis permitidos nos frutos. Os resultados deste trabalho mostram que não há diferenças no uso ou não de produtos para controle de mofo cinzento em colheita, o que pode ajudar no manejo integrado de doenças, além da redução de possíveis riscos de resíduos detectáveis de fungicidas acima dos limites máximos permitidos, aliado a maior saúde dos aplicadores pela não exposição a estes produtos.

Em experimentos laboratoriais envolvendo o uso de nematoides entomopatogênicos contra larvas de *Tenebrio molitor*, os agentes de biocontrole tiveram maiores eficácias quando utilizados em conjunto com produtos protetores contra radiação UV e dessecação, em qualquer dose entre 0,5 e 2% (ACAR; SIPES, 2022). Resultados similares foram encontrados em videiras pulverizadas com *Candida sake* em mistura com Fungicover, um revestimento alimentar; populações da levedura recuperadas das plantas, em vários dias após as aplicações, foram maiores do que em tratamentos que o Fungicover não foi utilizado, principalmente em períodos com umidades relativas mínimas mais baixas, além de reduzir a incidência e severidade de *B. cinerea* em cachos a níveis comparáveis ao tratamento com fungicida (CAÑAMÁS et al., 2011). Os nossos experimentos, embora conduzidos em cultivos protegidos, não tiveram adição de nenhum outro produto a não ser os produtos biológicos/fungicidas. As aplicações foram sempre feitas pela manhã, onde o produto ficava exposto aos raios solares durante o dia todo sem proteção. Em experimento realizado em pomares de nectarinas e pêssegos na Espanha, com um isolado de *B. amyloliquefaciens* e aplicações de tratamentos químicos em campo, a bactéria apresentou redução na incidência de *Monilinia laxa* e *M. fructicola* de 54,7 a 64,1% no momento da colheita, comparável com o tratamento químico; no entanto, foi adicionado à calda de pulverização do produto biológico, 20% de sacarose e 10% de leite desnatado, como agentes protetores (GOTOR-VILA et al., 2017). A adesão dos agentes de biocontrole é uma importante propriedade para o sucesso do controle, promovendo persistência e melhor colonização, bem como evitar que sejam removidos da planta por condições climáticas (IPPOLITO; NIGRO, 2000). A habilidade dos agentes de controle biológico de colonizar o tecido hospedeiro de forma eficaz é de grande importância para uma proteção estável e duradoura do tecido aos patógenos (BU et al., 2021).

Em estudo comparando a pós-colheita de frutos de morango incubados a 4°C durante 14 dias, que foram submetidos a pulverizações em diferentes

concentrações dos fungicidas captan e thiram, com aplicação suplementar ou não de iprodiona, mostrou que as maiores incidências foram da testemunha, com valores médios de 32,2% aos 14 dias de armazenamento, chegando até 51,2% aos 11 dias, em uma colheita específica (BLACHARSKI et al., 2001). Os frutos do presente trabalho, quando levados ao laboratório e incubados para avaliação de pós-colheita, foram colocados em temperaturas e condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento do patógeno. Embora seja de conhecimento que cepas de *Bacillus* têm suas faixas ótimas de temperatura em torno de 20°C, esta faixa de temperatura também é ideal para o patógeno e, aliado à não proteção dos agentes biológicos no momento da aplicação, podem ter contribuído para que o potencial dos microrganismos não tenha se expressado de forma completa. Estudos futuros devem ser realizados a fim de verificar se, em temperaturas de armazenamento e com a aplicação de produtos protetores no momento da pulverização, o controle do mofo cinzento pelos agentes de controle biológico pode ser mais efetivo.

Isolados coletados anteriormente da propriedade em que os experimentos foram instalados, eram resistentes aos fungicidas procimidona e azoxistrobina, e sensíveis aos demais fungicidas testados (MAIA, 2019). Considerando que a população de *B. cinerea* na propriedade era sensível à maioria dos fungicidas que foram testados, pode ter havido um efeito negativo no controle da doença pelos agentes biológicos, que poderiam ter apresentado melhores resultados se a população do patógeno na propriedade fosse mais selecionada para a resistência de fungicidas.

Embora não tenha havido efeito de controle de mofo cinzento no morangueiro na colheita, na pós-colheita os fungicidas pirimetanil, boscalida e a mistura ciprodinil+fludioxonil apresentaram eficácia. No entanto, mesmo o melhor tratamento teve incidências gerais altas. Estudos posteriores devem ser realizados a fim de definir estratégias de manejo, como ajuste de dose dos produtos, diminuição do intervalo de aplicação ou *timing* de pulverização, visando o manejo mais eficiente da doença.

4.5 CONCLUSÕES

Não houve diferenças na eficácia dos fungicidas e agentes de controle biológico no controle de mofo cinzento do morangueiro na colheita.

Em pós-colheita, a mistura ciprodinil+fludioxonil apresentou a melhor eficácia no controle da doença, seguido pelos fungicidas pirimetanil e boscalida. Os produtos biológicos no geral não diferiram da testemunha.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo foi de grande importância para verificar a eficácia de agentes de controle biológico no controle de mofo cinzento do morangueiro, para que possam servir como ferramentas para o manejo integrado de doenças na cultura.

Foi verificado que os agentes de controle biológico têm melhor eficácia em isolados de *Botrytis cinerea* que apresentam resistência a fungicidas, sendo que em isolados sensíveis, o melhor controle ainda foi obtido com o tratamento químico. Em condições de campo, não houve diferença no controle de mofo cinzento no momento da colheita. Em pós-colheita, o fungicida mais eficaz foi a mistura ciprodinil+fludioxonil, seguido por pirimetanil e boscalida, enquanto os produtos biológicos em geral não diferiram da testemunha.

São necessários estudos futuros a fim de verificar o *timing* de aplicação de fungicidas e dos controles biológicos a campo, com o uso de adjuvantes protetores para verificar a melhora na eficácia das bactérias, bem como em condições de laboratório, a fim de verificar se diferentes tempos de inoculação do patógeno após o tratamento com o controle biológico, interferem na eficácia das bactérias. Outros estudos podem ser realizados na mesma linha, com isolados de *Colletotrichum* sp em condições de laboratório.

REFERÊNCIAS

- ACAR, I.; SIPES, B. Enhancing the biological control potential of *Steinernema feltiae* with protection from desiccation and UV radiation. **Biological Control**, v. 169, n. July 2021, p. 104874, 2022.
- AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 18/04/2022.
- ALLEN, Gina et al. Increased occurrence of pesticide residues on crops grown in protected environments compared to crops grown in open field conditions. **Chemosphere**, v. 119, p. 1428–1435, 2015.
- ANTUNES, L. E. C.; BONOW, S. Morango: Produção aumenta ano a ano. **Anuário HF: Campo e Negócios**, p. 87–90, 2021.
- BAGGIO, J. S.; PERES, N. A.; AMORIM, L.. Sensitivity of *Botrytis cinerea* isolates from conventional and organic strawberry fields in Brazil to azoxystrobin, iprodione, pyrimethanil, and thiophanate-methyl. **Plant Disease**, v. 102, n. 9, p. 1803–1810, 2018.
- BLACHARSKI, R. W. et al. Control of postharvest *Botrytis* fruit rot with preharvest fungicide applications in annual strawberry. **Plant Disease**, v. 85, n. 6, p. 597–602, 2001.
- BU, Shuwen et al. *Bacillus subtilis* L1-21 as a biocontrol agent for postharvest gray mold of tomato caused by *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 157, p. 104568, 2021.
- BURLAKOTI, R. R.; ZANDSTRA, J.; JACKSON, K. Comparison of Epidemiology of Gray Mold, Anthracnose Fruit Rot, and Powdery Mildew in Day-Neutral Strawberries in Field and High-Tunnel Conditions in Ontario. **International Journal of Fruit Science**, v. 13, n. 1–2, p. 19–27, 2013.
- CAÑAMÁS, Teresa Paula et al. Field applications of improved formulations of *Candida sake* CPA-1 for control of *Botrytis cinerea* in grapes. **Biological Control**, v. 56, n. 2, p. 150–158, 2011.
- COTA, L. V. et al. Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. **Biological Control**, v. 46, n. 3, p. 515–522, 2008.
- DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.
- ESSGHAIER, B. et al. Biological control of grey mould in strawberry fruits by halophilic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 3, p. 833–846, 2009.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization (FAO)**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 28 abr. 2022.

HENZ, G. P. Desafios enfrentados por agricultores familiares na produção de morango no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 260–265, 2010.

IPPOLITO, A.; NIGRO, F. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Crop Protection**, v. 19, n. 8–10, p. 715–723, 2000.

KÖHL, J. et al. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. **Phytopathology**, v. 88, n. 6, p. 568–575, 1998.

LEGARD, D. E. et al. Effects of plant spacing and cultivar on incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 5, p. 531–538, 2000.

LEROUX, P. Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. In: ELAD, Y. et al. (Org.). **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. p. 195–222.

MAIA, J. N. et al. Gray mold in strawberries in the Paraná state of Brazil is caused by *Botrytis cinerea* and its isolates exhibit multiple-fungicide resistance. **Crop Protection**, v. 140, n. February, 2021.

MARI, M. et al. Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 15, n. 8, p. 699–705, 1996.

MARI, M.; GUIZZARDI, M.; PRATELLA, G. C. Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. **Biological Control**, v. 7, n. 1, p. 30–37, 1996.

MENZEL, C. M.; SMITH, L. A.; MOISANDER, J. A. The Productivity of strawberry plants growing under plastic high tunnels in a wet subtropical environment. **HortTechnology**, v. 24, n. 3, p. 334–342, 2014.

MERTELY, J. C. et al. Comparison of sanitation and fungicides for management of *Botrytis* fruit rot of strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 11, p. 1197–1202, 2000.

MERTELY, J. C.; MACKENZIE, S. J.; LEGARD, D. E. Timing of fungicide applications for *Botrytis cinerea* based on development stage of strawberry flowers and fruit. **Plant Disease**, v. 86, n. 9, p. 1019–1024, 2002.

NOBRE, S. A. M. et al. Selection of *Clonostachys rosea* isolates from Brazilian ecosystems effective in controlling *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 34, n. 2, p. 132–143, 2005.

OLIVEIRA, M. S. et al. Sources of Primary Inoculum of *Botrytis cinerea* and Their Impact on Fungicide Resistance Development in Commercial Strawberry Fields. **Plant Disease**, v. 101, n. 10, p. 1761–1768, 2017.

PARISI, M. C. M.; COSTA, H.; BETTI, J. A.; TANAKA, M. A. S; MAY-DE MIO, L. L. Doenças do Morangueiro. In: AMORIM, L et al. (Org.). **Manual de Fitopatologia Volume 2: Doenças de Plantas Cultivadas**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. p. 561 - 572.

PENG, G.; SUTTON, J. C. Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 13, n. 3, p. 247–257, 1991.

PENG, G.; SUTTON, J. C.; KEVAN, P. G. Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 14, n. 2, p. 117–129, 1992.

R Core Team (2022). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REIS, A.; COSTA, H. Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle. **Circular Técnica**, v. 96, p. 1–9, Embrapa Hortaliças, 2011.

ROMANAZZI, G; FELIZIANI, E. *Botrytis cinerea* (Gray Mold). In: BAUTISTA-BAÑOS, SILVIA (Org.). **Postharvest Decay: Control Strategies**. 1st ed. Oxford: Elsevier, 2014. p. 131–146.

SHANER, G. & R.E. FINNEY. The effect of nitrogen fertilisation on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology** 67: 1051–1056. 1977.

SHTERNSHIS, M. V. et al. Influence of *Bacillus* spp. on strawberry gray-mold causing agent and host plant resistance to disease. **Contemporary Problems of Ecology**, v. 8, n. 3, p. 390–396, 2015.

SUTTON, J. C. Epidemiology and management of *Botrytis* leaf blight of onion and gray mold of strawberry: A comparative analysis. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 12, n. 1, p. 100–110, 1990.

SUTTON, J. C.; PENG, G. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in Strawberry Leaves. **Phytopathology**, v. 83, n. 6, p. 615–621, 1993.

TROTEL-AZIZ, P. et al. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 21–32, 2008.

WILLIAMSON, Brian et al. *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 5, p. 561–580, 2007.

XIAO, C. L. et al. Comparison of epidemics of *Botrytis* fruit rot and powdery mildew of strawberry in large plastic tunnel and field production systems. **Plant Disease**, v. 85, n. 8, p. 901–909, 2001.

XU, X.; HARRIS, D. C.; BERRIE, A. M. Modeling infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* using field data. **Phytopathology**, v. 90, n. 12, p. 1367–1374, 2000.

REFERÊNCIAS GERAIS

- ABBEY, Joel A. et al. Management of *Botrytis* blossom blight in wild blueberries by biological control agents under field conditions. **Crop Protection**, v. 131, p. 105078, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105078>>.
- ACAR, I.; SIPES, B. Enhancing the biological control potential of *Steinernema feltiae* with protection from desiccation and UV radiation. **Biological Control**, v. 169, n. July 2021, p. 104874, 2022.
- AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em 18/04/2022.
- ALLEN, Gina et al. Increased occurrence of pesticide residues on crops grown in protected environments compared to crops grown in open field conditions. **Chemosphere**, v. 119, p. 1428–1435, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.066>>.
- ANDRADE, C. A. W. et al. Comparison of quality between organic and conventional strawberries from multiple farms. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. 2, 2016.
- ANTUNES, L. E. C.; BONOW, S. Morango: Produção aumenta ano a ano. **Anuário HF: Campo e Negócios**, p. 87–90, 2021.
- AZEVEDO, D. M.Q. et al. Diversity, prevalence and phylogenetic positioning of *Botrytis* species in Brazil. **Fungal Biology**, v. 124, n. 11, p. 940–957, 2020.
- BAGGIO, J. S. **Spatial and temporal dynamics of *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum* spp. In Brazilian conventional and organic strawberry fields**. 2016. 151 f. Tese de doutorado. Escola Superior de Agronomia Luix de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.
- BAGGIO, J. S.; PERES, N. A.; AMORIM, L.. Sensitivity of *Botrytis cinerea* isolates from conventional and organic strawberry fields in Brazil to azoxystrobin, iprodione, pyrimethanil, and thiophanate-methyl. **Plant Disease**, v. 102, n. 9, p. 1803–1810, 2018.
- BLACHARSKI, R. W. et al. Control of postharvest *Botrytis* fruit rot with preharvest fungicide applications in annual strawberry. **Plant Disease**, v. 85, n. 6, p. 597–602, 2001.
- BRAUN, P. G.; SUTTON, J. C. Inoculum sources of *Botrytis cinerea* in fruit rot of strawberries in Ontario. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 9, n. 1, p. 1–5, 1987.

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide resistance: the assessment of risk**. Second ed. Bristol: Fungicide Resistance Action Committée, 2007a. Disponível em: <www.frac.info>.

BRENT, K. J.; HOLLOMON, D. W. **Fungicide Resistance in Plant Management: How can it be managed?** Second ed. Bristol: Fungicide Resistance Action Committee, 2007b. Disponível em: <www.frac.info>.

BRISTOW, P. R.; MCNICOL, R. J.; WILLIAMSON, B. Infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* and its relevance to grey mould development. **Annals of Applied Biology**, v. 109, n. 3, p. 545–554, 1986.

BU, Shuwen et al. *Bacillus subtilis* L1-21 as a biocontrol agent for postharvest gray mold of tomato caused by *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 157, p. 104568, 2021.

BULGER, M. A.; ELLIS, M. A.; MADDEN, L. V. Influence of Temperature and Wetness Duration on Infection of Strawberry Flowers by *Botrytis cinerea* and Disease Incidence of Fruit Originating from Infected Flowers. **Phytopathology**, v. 77, n. 8, p. 1225–1230, 1987.

BURLAKOTI, R. R.; ZANDSTRA, J.; JACKSON, K. Comparison of Epidemiology of Gray Mold, Anthracnose Fruit Rot, and Powdery Mildew in Day-Neutral Strawberries in Field and High-Tunnel Conditions in Ontario. **International Journal of Fruit Science**, v. 13, n. 1–2, p. 19–27, 2013.

CAMARGO, L. K. P. et al. Desempenho produtivo e massa média de frutos de morangueiro obtidos de diferentes sistemas de cultivo. **Ambiência**, v. 6, n. 2, p. 281–288, 2010.

CAMARGO, L. K. P. et al. Postharvest quality of strawberry fruits produced in organic and conventional systems. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 577–583, 2011.

CAÑAMÁS, Teresa Paula et al. Field applications of improved formulations of *Candida sake* CPA-1 for control of *Botrytis cinerea* in grapes. **Biological Control**, v. 56, n. 2, p. 150–158, 2011.

CARROLL, J.; PRITTS, M.; HEIDENREICH, C. **Organic Production and IPM Guide for Strawberries**. Ithaca: New York State Integrated Pest Management Program, 2016. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1813/42892>>.

CARVALHO, M.S; ANDREOZZI, V.L.; CODEÇO, C.T.; BARBOSA, M.T.S.; SHIMAKURA, S.E. **Análise de sobrevida – Teoria e aplicações em saúde**. Rio de Janeiro, Ed. Fiocruz, 2005. 396p.

CHATZIDIMOPOULOS, M.; PAPAEOAGGELOU, D.; PAPPAS, A. C. Detection and characterization of fungicide resistant phenotypes of *Botrytis cinerea* in lettuce crops in Greece. **European Journal of Plant Pathology**, v. 137, n. 2, p. 363–376, 2013.

CHEN, Xiaomeng et al. Inhibitory abilities of *Bacillus* isolates and their culture filtrates

against the gray mold caused by *Botrytis cinerea* on postharvest fruit. **Plant Pathology Journal**, v. 35, n. 5, p. 425–436, 2019.

COCCO, C. **Qualidade fisiológica das mudas na produção de frutas do morangueiro**. 2010. 48 p. Dissertação de mestrado – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

CONTI, S. et al. Effects of organic vs. conventional farming system on yield and quality of strawberry grown as an annual or biennial crop in southern Italy. **Scientia Horticulturae**, v. 180, p. 63–71, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.015>>.

CORDOVA, L. G. et al. Evaluation of the Florida Strawberry Advisory System for Control of *Botrytis* and Anthracnose Fruit Rots in Ohio. **Plant Health Progress**, v. 19, n. 2, p. 182–187, 2018.

CORDOVA, L. G.; AMIRI, A.; PERES, N. A. Effectiveness of fungicide treatments following the Strawberry Advisory System for control of *Botrytis* fruit rot in Florida. **Crop Protection**, v. 100, p. 163–167, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2017.07.002>>.

COSTA, H.; VENTURA, J. A. Manejo Integrado de Doenças do morangueiro. *In*: III SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO E II ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2006, Pelotas – RS. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. p. 17–25.

COTA, L. V. et al. Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. **Biological Control**, v. 46, n. 3, p. 515–522, 2008.

CRUZ, A. F. et al. Biocontrol of strawberry fruit infected by *Botrytis cinerea*: Effects on the microbial communities on fruit assessed by next-generation sequencing. **Journal of Phytopathology**, v. 166, n. 6, p. 403–411, 2018.

DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

DONMEZ, M. F. et al. Biocontrol of *Botrytis Cinerea* on strawberry fruit by plant growth promoting bacteria. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 21, n. 4, p. 758–763, 2011.

DROBY, S.; LICHTER, A. Post-harvest *Botrytis* infection: Etiology, Development and Management. *In*: ELAD, Y. et al. (Org.). **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. p. 349–367.

ESSGHAIER, B. et al. Biological control of grey mould in strawberry fruits by halophilic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 3, p. 833–846, 2009.

FACHINELLO, J. C. et al. Situação e Perspectivas da Fruticultura de Clima Temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 109–120, 2011.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization (FAO)**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 28 abr. 2022.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D. et al. Fungicide resistance profiles in *Botrytis cinerea* from strawberry fields of seven Southern U.S. States. **Plant Disease**, v. 98, n. 6, p. 825–833, 2014.

FRAC. *Pathogen Risk List*. **FRAC Pathogen Risk List**. 2019.

GHAOUTH, A. E.; WILSON, C. L.; WISNIEWSKI, M. Control of Postharvest Decay of Apple Fruit with *Candida saitoana* and Induction of Defense Responses. **Phytopathology**, v. 93, n. 3, p. 344–348, 2003.

GOTOR-VILA, A. et al. Biological control of brown rot in stone fruit using *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 under field conditions. **Crop Protection**, v. 102, p. 72–80, 2017.

HADDOUDI, Imen et al. Biological control of Fusarium wilt caused by *Fusarium equiseti* in *Vicia faba* with broad spectrum antifungal plant-associated *Bacillus* spp. **Biological Control**, v. 160, p. 104671, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104671>>.

HENZ, G. P. Desafios enfrentados por agricultores familiares na produção de morango no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 260–265, 2010.

HUSAINI, A. M.; NERI, D. **Strawberry: Growth, Development and Diseases**. India: CAB International, 2016.

IPPOLITO, A. et al. Control of postharvest decay of apple fruit by *Aureobasidium pullulans* and induction of defense responses. **Postharvest Biology and Technology**, v. 19, p. 265–272, 2000.

IPPOLITO, A.; NIGRO, F. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Crop Protection**, v. 19, n. 8–10, p. 715–723, 2000.

JIANG, Chun Hao et al. *Bacillus velezensis*, a potential and efficient biocontrol agent in control of pepper gray mold caused by *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 126, p. 147–157, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.017>>.

KÖHL, J. et al. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. **Phytopathology**, v. 88, n. 6, p. 568–575, 1998.

KUMARI, Sarita et al. Analyses of genetic and pathogenic variability among *Botrytis*

cinerea isolates. **Microbiological Research**, v. 169, n. 11, p. 862–872, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2014.02.012>>.

LEGARD, D. E. et al. Effects of plant spacing and cultivar on incidence of *Botrytis* fruit rot in annual strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 5, p. 531–538, 2000.

LEROUX, P. Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. In: ELAD, Y. et al. (Org.). **Botrytis: Biology, Pathology and Control**. Dordrecht, The Netherlands: Springer, 2007. p. 195–222.

LOPES, U. P. **Doenças Do Morangueiro: Etiologia, Epidemiologia E Sensibilidade a Fungicidas**. 2014. 67 f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa, 2014.

LOPES, U. P. et al. Resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides controlling gray mold on strawberry in Brazil. **Bragantia**, v. 76, n. 2, p. 266–272, 2017.

MADAIL, J. C. M. et al. Avaliação Econômica dos Sistemas de Produção de Morango: Convencional, Integrado e Orgânico. **Comunicado Técnico**, n. 1, p. 4, 2007. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/31365/1/comunicado-181.pdf>>.

MAIA, J. N. et al. Gray mold in strawberries in the Paraná state of Brazil is caused by *Botrytis cinerea* and its isolates exhibit multiple-fungicide resistance. **Crop Protection**, v. 140, n. February, 2021.

MARI, M. et al. Postharvest biological control of grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, v. 15, n. 8, p. 699–705, 1996.

MARI, M.; GUIZZARDI, M.; PRATELLA, G. C. Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. **Biological Control**, v. 7, n. 1, p. 30–37, 1996.

MENZEL, C. M.; SMITH, L. A.; MOISANDER, J. A. The Productivity of strawberry plants growing under plastic high tunnels in a wet subtropical environment. **HortTechnology**, v. 24, n. 3, p. 334–342, 2014.

MERTELY, J. C. et al. Comparison of sanitation and fungicides for management of *Botrytis* fruit rot of strawberry. **Plant Disease**, v. 84, n. 11, p. 1197–1202, 2000.

MERTELY, J. C.; MACKENZIE, S. J.; LEGARD, D. E. Timing of fungicide applications for *Botrytis cinerea* based on development stage of strawberry flowers and fruit. **Plant Disease**, v. 86, n. 9, p. 1019–1024, 2002.

MERTELY, J. C.; SEIJO, T. E.; PERES, N. A. Effect of Pre- and Post-Plant Fungicide and Fertilizer Treatments on Infection by *Colletotrichum acutatum*, Plant Survival, and Yield of Annual Strawberry in Florida. **Plant Management Network**, January, Online, 2010.

MYRESIOTIS, C. K.; KARAOGLANIDIS, G. S.; TZAVELLA-KLONARI, K. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxyanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides. **Plant Disease**, v. 91, n. 4, p. 407–413, 2007.

NOBRE, S. A. M. et al. Selection of *Clonostachys rosea* isolates from Brazilian ecosystems effective in controlling *Botrytis cinerea*. **Biological Control**, v. 34, n. 2, p. 132–143, 2005.

OLIVEIRA, R. P. De; SCIVITTARO, W. B. Desempenho produtivo de mudas nacionais e importadas de morangueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 520–522, 2006.

OLIVEIRA, I. P.; BELARMINO, L. C.; BELARMINO, A. J. Viabilidade da produção de morango no sistema semi-hidropônico recirculante. **Custos e Agronegócio**, v. 13, n. 1, p. 315–332, 2017. Disponível em: <www.custoseagronegocioonline.com.br>.

OLIVEIRA, M. et al. Fungicide Dip Treatments for Management of *Botrytis cinerea* Infection on Strawberry Transplants. **Plant Health Progress**, v. 19, p. 279–283, 2018.

OLIVEIRA, M. S. et al. Sources of Primary Inoculum of *Botrytis cinerea* and Their Impact on Fungicide Resistance Development in Commercial Strawberry Fields. **Plant Disease**, v. 101, n. 10, p. 1761–1768, 2017.

PARISI, M. C. M.; COSTA, H.; BETTI, J. A.; TANAKA, M. A. S; MAY-DE MIO, L. L. Doenças do Morangueiro. In: AMORIM, L et al. (Org.). **Manual de Fitopatologia Volume 2: Doenças de Plantas Cultivadas**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. p. 561 - 572.

PAVAN, W. et al. **The Strawberry Advisory System: A Web-Based Decision Support Tool for Timing Fungicide Applications in Strawberry**. Gainesville: 2009.

PENG, G.; SUTTON, J. C. Evaluation of microorganisms for biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 13, n. 3, p. 247–257, 1991.

PENG, G.; SUTTON, J. C.; KEVAN, P. G. Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 14, n. 2, p. 117–129, 1992.

PETRASCH, Stefan et al. Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. **Molecular Plant Pathology**, v. 20, n. 6, p. 877–892, 2019.

R Core Team (2022). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

REIS, A.; COSTA, H. Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle. **Circular Técnica**, v. 96, p. 1–9, Embrapa Hortaliças, 2011.

ROMANAZZI, G; FELIZIANI, E. *Botrytis cinerea* (Gray Mold). In: BAUTISTA-BAÑOS, SILVIA (Org.). **Postharvest Decay: Control Strategies**. 1st ed. Oxford: Elsevier, 2014. p. 131–146.

ROTOLO, C. et al. Use of Biocontrol Agents and Botanicals in Integrated Management of *Botrytis cinerea* in table-grape vineyards. **Pest management science**, v. 74, n. 3, p. 715–725, 2018.

SAMARAS, Anastasios; HADJIPETROU, Chloe; KARAOGLANIDIS, George. *Bacillus amyloliquefaciens* strain QST713 may contribute to the management of SDHI resistance in *Botrytis cinerea*. **Pest Management Science**, v. 77, n. 3, p. 1316–1327, 2021.

SANG, Chengwei et al. Detection and fitness comparison of target-based highly fludioxonil-resistant isolates of *Botrytis cinerea* from strawberry and cucumber in China. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 147, n. February, p. 110–118, 2018.

SHANER, G. & R.E. FINNEY. The effect of nitrogen fertilisation on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology** 67: 1051–1056. 1977.

SHAO, Wenyong et al. Physiological and biochemical characteristics of laboratory induced mutants of *Botrytis cinerea* with resistance to fluazinam. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 117, p. 19–23, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357514001850>>.

SHTERNISH, M. V. et al. Influence of *Bacillus* spp. on strawberry gray-mold causing agent and host plant resistance to disease. **Contemporary Problems of Ecology**, v. 8, n. 3, p. 390–396, 2015.

SUTTON, J. C.; PENG, G. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in Strawberry Leaves. **Phytopathology**, v. 83, n. 6, p. 615–621, 1993.

SUTTON, J. C. Epidemiology and management of *Botrytis* leaf blight of onion and gray mold of strawberry: A comparative analysis. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 12, n. 1, p. 100–110, 1990.

TEIXEIRA, C. P. **Produção de Mudas e Frutos de Morangueiro em Diferentes Sistemas de Cultivo**. 2011. 74 f. Tese de Doutorado em Produção Vegetal, Universidade Federal de Lavras, 2011.

TROTEL-AZIZ, P. et al. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 21–32, 2008.

WANG, Z. et al. Dissipation, accumulation and risk assessment of fungicides after repeated spraying on greenhouse strawberry. **Science of the Total Environment**, v. 758, p. 144067, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144067>>.

WEBER, R. W. S. Resistance of *Botrytis cinerea* to multiple fungicides in Northern German small-fruit production. **Plant Disease**, v. 95, n. 10, p. 1263–1269, 2011.

WEBER, R. W. S.; ENTROP, A. P. Recovery of fungicide-resistant *Botrytis* isolates from strawberry nursery plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, p. 739–742, 2017.

WILCOX, W. F.; SEEM, R. C. Relationship between strawberry gray mold incidence, environmental variables, and fungicide applications during different periods of the fruiting season. **Phytopathology**, v. 84, p. 264–270, 1994.

WILLIAMSON, B. et al. *Botrytis cinerea*: The cause of grey mould disease. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 5, p. 561–580, 2007.

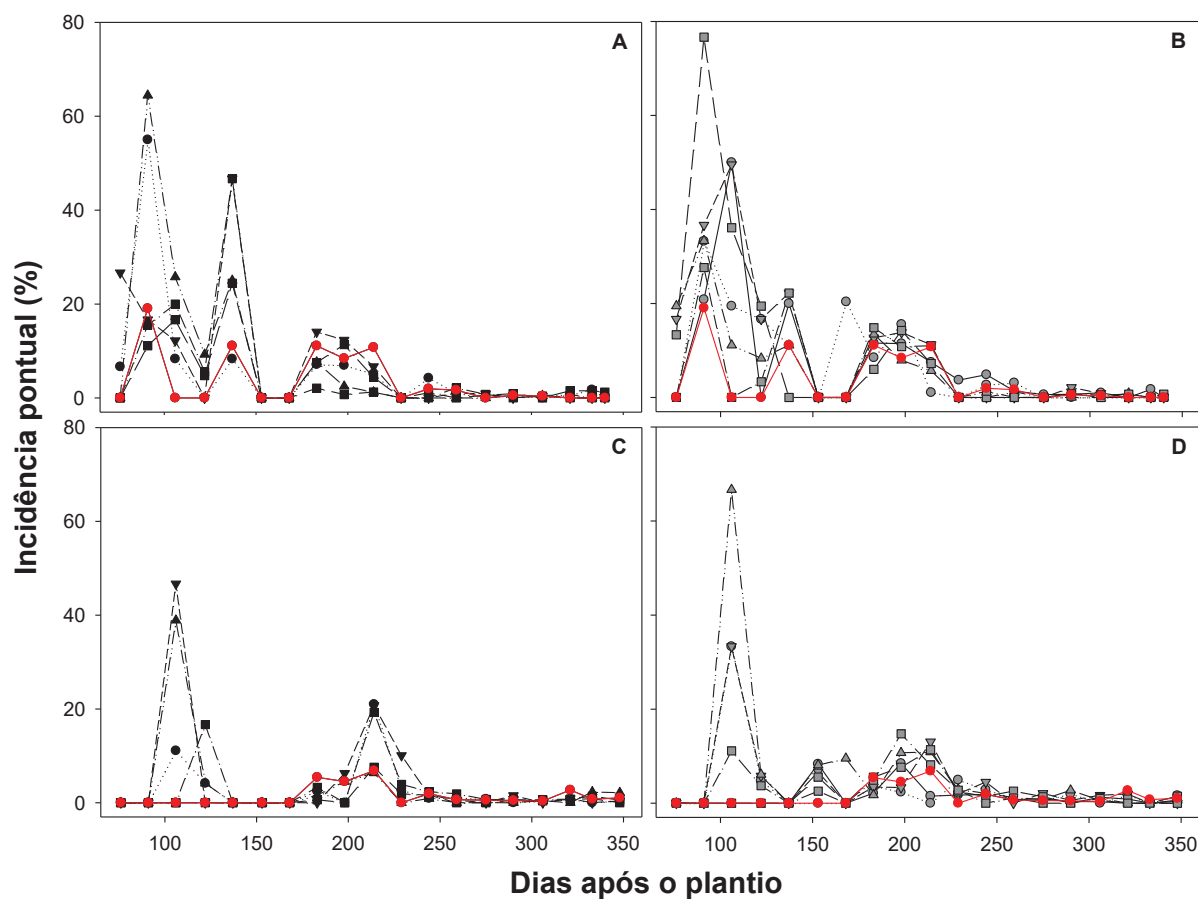
XIAO, C. L. et al. Comparison of epidemics of *Botrytis* fruit rot and powdery mildew of strawberry in large plastic tunnel and field production systems. **Plant Disease**, v. 85, n. 8, p. 901–909, 2001.

XU, X.; HARRIS, D. C.; BERRIE, A. M. Modeling infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* using field data. **Phytopathology**, v. 90, n. 12, p. 1367–1374, 2000.

XU, Yang et al. Biocontrol potential of endophytic *Bacillus velezensis* strain QSE-21 against postharvest grey mould of fruit. **Biological Control**, v. 161, p. 104711, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104711>>.

ANEXOS

FIGURA 8 - INCIDÊNCIA PONTUAL DE MOFO CINZENTO NA COLHEITA A CADA 15 DIAS, DOS EXPERIMENTOS 1 (A E B) E 2 (C E D), COMPARANDO OS TRATAMENTOS QUÍMICOS (A E C) E BIOLÓGICOS (B E D).



Fonte: a autora. Legenda: (—●—) Testemunha; (···●···) Procimidona; (---▼---) Boscalida; (···▲···) Fluazinam; (—■—) Ciprodinil+Fludioxonil; (···■···) Pirimetanil; (—●—) Serenade; (···●···) *Clonostachys*; (---▼---) No-Nema; (···▲···) Bio-Imune; (—■—) Bombardeiro; (···■···) BTP 11-19.

TABELA 8 - AACPD PONTUAL DE MOFO CINZENTO E PRODUTIVIDADE DE MORANGUEIRO A CAMPO, NOS EXPERIMENTOS 1 E 2.

TRATAMENTOS	EXPERIMENTO 1	EXPERIMENTO 2
Testemunha	992,1 ^{NS}	375,8 ^{NS}
Procimidona	1542,5	703,5
Boscalida	1904,3	1366,3
Fluazinam	2096,1	927,8
Ciprodinil+Fludioxonil	1019,5	215,1
Pirimetanil	1761,2	795,6
Serenade	2067,7	410,9
<i>Clonostachys</i>	2010,0	890,5

No-Nema	2670,3	1206,9
Bio-Imune	1562,8	1921,0
Bombardeiro	2548,5	614,2
BTP 11-19	1420,4	783,1

Fonte: a autora (2022).

^{NS} = Médias não diferiram pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.