

## CONTROLE EM PÓS-COLHEITA DE *Monilinia fructicola* EM PÊSSEGOS\*

LUCIENE M. MOREIRA<sup>1\*\*</sup>, LOUISE L. MAY - DE MIO<sup>1</sup>, ROSA M. VALDEBENITO - SANHUEZA<sup>2</sup>,  
MARIA L. R. Z. C. LIMA<sup>1</sup> & JOÃO C. POSSAMAI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Cx. Postal 19061, CEP 80.035-050, Curitiba, PR, Fax: (41) 350-5601, e-mail: Immoreira@terra.com.br;

<sup>2</sup>Embrapa Uva e Vinho, Cx. Postal 130, CEP 95.700-000, Bento Gonçalves, RS

(Aceito para publicação em 18/04/2002)

Autor para correspondência: Luciene Martins Moreira

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

### RESUMO

A podridão parda (*Monilinia fructicola*) causa danos relevantes nos pessegueiros (*Prunus persicae*) apesar das práticas de profilaxia e produtos químicos utilizados em pré e pós-colheita. O controle biológico vem sendo pesquisado como alternativa, e neste trabalho foram selecionados microrganismos antagonísticos ao patógeno e avaliada a eficiência destes antagonísticos, de fungicidas (iminocadine tris albesilate e azoxystrobin) e de fosfitos (CaB e K) no controle da doença em pós-colheita. No laboratório, o antagonismo de fungos filamentosos obtidos de pêssegos da região da Lapa, PR, foi avaliado utilizando dois métodos: culturas pareadas e difusão de metabólitos por membrana. Em pós-colheita, dois ensaios foram realizados utilizando frutos da safra 1997 e 1999. Cada fruto foi imerso nas suspensões preparadas com os produtos químicos e com os fungos

antagônicos e, em seguida, inoculado com o patógeno por aspersão. Avaliou-se a incidência da doença em ferimentos provocados e fora deles. Os fungos que mostraram produção de substâncias inibitórias foram *Trichothecium* spp. (isolados F1, F2 e F4), e *Trichoderma* spp. (F8 e F12) e, com crescimento sobre o patógeno foram *Trichoderma* spp. (F7, F8 e F12) e *Penicillium* sp (F9). Nos frutos, os antagonistas que exerceram maior controle da doença foram os isolados de *Trichothecium* spp. (F1 e F2), acima de 80% de controle, não diferindo estatisticamente dos fungicidas testados, iminocadine e azoxystrobin. O fosfito de K proporcionou um controle superior a 85% de lesões latentes em ambos experimentos.

**Palavras-chave adicionais:** Podridão parda, controle biológico e químico.

### ABSTRACT

#### Post-harvest control of *Monilinia fructicola* on peaches

The Brown rot (*Monilinia fructicola*) causes economic losses for peach (*Prunus persicae*) producers in spite of sanitation and pre and post-harvest chemicals. There have been several researches on biological control as an desirable alternative for controlling plant diseases. We screened putative antagonists of *Monilinia fructicola* and also evaluated the efficiency of fungicides and biological controls in reducing post-harvest diseases. In the laboratory, the antagonistic potential of filamentous fungi obtained from peaches from the region of Lapa, PR, was evaluated using two methods: pairing culture and diffusion of products per membrane. Two experiments were conducted after growing seasons of 1997 and 1999 that involved fungal screening *in vitro*, chemical controls. Each fruit was immersed

in the treatments (suspension of spores) and then inoculated by spraying the pathogen. The incidence of the disease in the wounds and around them was then assessed. Several antagonists were efficient *in vitro* using cellophane membrane tests: isolates of *Trichothecium* spp. (F1, F2 and F4), *Trichoderma* spp. (F8 and F12), and also with the method of pairing culture: isolates of *Trichoderma* spp. (F7, F8 and F12) and *Penicillium* sp (F9). In post-harvest the biological control (isolates F1 and F2) showed very good results (above 80% of control) with no statistical differences between them and the best fungicides tested (iminocadine and azoxystrobin). The phosphite of K showed good results, above 85% of control of latent infections in both experiments.

A podridão parda do pessegueiro [*Prunus persicae* (L.) Batsch] ocasionada por *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey vem causando perdas rotineiras para produtores na região da Lapa, PR, apesar das tentativas de controle por práticas

culturais e por fungicidas.

Fungicidas como triforine, procimidone, thiabendazole, benomyl, iprodione, vinclozolin, e misturas de benomyl com captan têm sido usados no controle da podridão parda (Balardin *et al.*, 1994; Andrade & Matos, 1996).

Para pessegueiro, alguns trabalhos sobre controle biológico, principalmente dos Estados Unidos, vêm sendo desenvolvidos e têm demonstrado eficiência para controle de

\* Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade Federal do Paraná. (1999)

\*\*Bolsista da CAPES.

*Monilinia* spp (Wilson & Wisniewski, 1989). Em condições de campo, Wittig *et al.* (1997) obtiveram redução na incidência de *M. fructicola* em flores de cerejeira (*Prunus* spp.) de 45% e 47%, proporcionada por *Epicoccum purpurascens* Ehrenberg & Schlechtendal e *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud, respectivamente. No Brasil os trabalhos nesta área ainda são escassos, entretanto Fortes & Bettiol (1997) mostraram que os frutos tratados com *Bacillus subtilis* apresentaram menor incidência que a testemunha. Tais trabalhos têm incentivado pesquisas nesta área, principalmente considerando o interesse crescente dos produtores em minimizar a utilização de controle químico. O uso de antagonistas, fosfitos e fungicidas mais específicos podem corroborar com o controle do patógeno dentro de uma proposta de manejo integrado das culturas.

Neste trabalho selecionaram-se antagonistas *in vitro* e avaliou-se a eficiência de controladores biológicos pré-selecionados, de fosfitos de CaB e K, e de dois fungicidas novos (iminocadine tris albesilate e azoxystrobin) no controle da podridão parda em pós-colheita em frutos de pessegueiro.

#### Obtenção dos isolados do patógeno e dos antagonísticos

Isolados do patógeno foram obtidos de pêssegos e ameixas (*Prunus salicina* Lindl) de pomares da região da Lapa, PR. Destes mesmos frutos e, também, de ramos, foram isolados fungos que cresciam sobre ou próximos às lesões do patógeno. Os fungos isolados (F1, F2, F3, F4, F6, F7, F8, F9, F10, F12, F13) e duas leveduras epifíticas isoladas de maçã (*Malus domestica* Borkh) foram utilizados em teste de antagonismo à *M. fructicola*.

#### Avaliação *in vitro* da atividade antagonística dos isolados de fungos

A atividade antagonística dos isolados fúngicos à *M. fructicola* foi avaliada por hiperparasitismo e por antibiose. Para o hiperparasitismo utilizou-se o método de culturas pareadas, entre o patógeno e cada um dos isolados, em placas de Petri contendo BDA. A avaliação foi qualitativa, segundo metodologia proposta por May & Kimati (1999), onde as notas variaram de A a E, sendo os extremos: A- antagonístico completamente crescido sobre o patógeno; E - antagonístico sem crescimento sobre o patógeno. Para cada tratamento (isolado antagonístico x patógeno) foram utilizadas quatro repetições (placas). A detecção de antibiose foi feita por meio da produção de substâncias difusíveis por membrana, usando o método do celofane descrito por Mariano (1993). Um disco de 0,5 cm da colônia do isolado antagonista foi transferido para a superfície do papel celofane autoclavado, depositado na superfície do meio de cultura BDA, em placas de Petri. A testemunha foi constituída pela cultura isolada do patógeno. Após 48 h de incubação foram retirados os papéis celofane, já colonizados, e para o meio de cultura foram transferidos discos, de 0,5 cm de diâmetro, de BDA contendo micélio do patógeno (isolado IM8). A avaliação foi feita pela medida do diâmetro de crescimento da colônia do patógeno. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com

12 tratamentos (F1, F2, F3, F4, F6, F7, F8, F9, F10, F12, F13, testemunha) e quatro repetições para cada tratamento.

#### Avaliação do controle de *Monilinia fructicola* por produtos químicos e agentes biológicos em pêssegos no período de pós-colheita

Os experimentos foram realizados no final das safras de 1997 e 1999, utilizando frutos da cultivar BR-1, colhidos no ponto de maturação. O tratamento em pré-colheita foi à base de pulverizações com benomyl, mancozeb, iprodione e captan a cada dez dias iniciando-se na floração.

Os frutos receberam quatro ferimentos, com estilete, na região oposta ao pedúnculo, logo em seguida foram imersos, durante 1 min, em suspensões preparadas com os isolados de *Trichothecium* spp. (F1, F2 e F4), *Penicillium* sp. (F9), *Trichoderma* spp. (F7, F8 e F12), F3, F6, F10 e F13 (não identificados) na concentração de  $10^7$  esporos/ml, e inoculados com o patógeno, por aspersão (pulverizador manual) da suspensão de esporos na concentração  $10^4$  esporos/ml. Também foram utilizadas as leveduras TR (L1) e 36 (L2) na concentração correspondente a  $10^8$  ufc/ml, turbidez três da escala de McFARLAND. Além dos antagonistas, foram testados fosfitos de CaB e de K (200 ml/l), e os fungicidas iminocadine tris albesilate (1 ml/l) e azoxystrobin (2,0 g/l). Como testemunhas foram considerados frutos inoculados e não inoculados, sendo estes últimos pulverizados ou não com água esterilizada. Os frutos foram dispostos em bandejas plásticas, à temperatura de ambiente de 23 °C. Após 48 h da aplicação dos tratamentos, foi feita a avaliação da incidência da doença, observando-se: 1- porcentagem de frutos com lesão fora do ferimento (infecção latente); 2- porcentagem média de ferimentos infetados por fruto (infecção no ferimento) (Tabela 1). Para análise foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 20 tratamentos e três repetições, sendo a unidade experimental constituída por dez frutos. Os dados de número de frutos com lesões latentes obtidos foram transformados com  $\sqrt{x} + 10,5$  e os dados de número de ferimentos infetados por fruto com  $\arcsen\sqrt{x}$ .

#### Avaliação *in vitro* da atividade antagonística dos isolados

No teste do pareamento de colônias, os isolados F7, F8 e F12 (*Trichoderma* spp.) e o isolado F9 (*Penicillium* sp.) exerceram maior inibição das colônias e sobre-crescimento do antagonista sobre a colônia do patógeno (Moreira, 1999).

Observando-se os resultados da detecção de antibiose (Figura 1) nota-se que os isolados F1, F2, F4, F8 e F12 exerceram acima de 60% de inibição sobre *M. fructicola*. Sobre mecanismos de antagonismo, Bettiol (1991) cita como característica importante de um antagonista o fato de o antagonístico atuar por mais de um mecanismo, como ocorreu com os isolados F8 e F12 do gênero *Trichoderma*. De Cal *et al.* (1990), usando *Penicillium* sp. associado a nutrientes, verificaram redução da severidade de *M. laxa* em até 80% e Hong *et al.* (1998) controlaram *M. fructicola* com isolados de *Trichoderma viridae* Persoon:Fries e *T. atroviridae* Karsten. no tratamento de frutos em pós-colheita, com redução

**TABELA 1- Incidência da podridão parda, na região do ferimento e latente nos frutos, em pêssegos (*Prunus persicae*), cultivar BR-1, inoculados e tratados em pós-colheita com agentes biológicos e produtos químicos**

Tratamento	Frutos com lesão fora dos ferimentos (latente, %) <sup>1</sup>		Média de ferimentos infetados por fruto (%) <sup>1</sup>	
	97	99	97	99
	L1 (Levedura 1) <sup>3</sup>	31,1 abc	23,3 ab	78 a
F7 ( <i>Trichoderma</i> spp) <sup>2</sup>	32,2 ab	13,3 cde	74 a	50 cd
F12 ( <i>Trichoderma</i> spp) <sup>2</sup>	25,5 abcd	8,9 defgh	71 ab	57 bc
Testemunha inoculada <sup>4</sup>	33,3 a	26,7 a	69 ab	81 a
L2 (Levedura 2) <sup>3</sup>	18,9 def	17,8 bc	67 abc	57 bc
F6 (não identificado) <sup>2</sup>	32,2 ab	6,7 efghij	65 abc	42 cdef
F10 (não identificado) <sup>2</sup>	31,1 abc	15,6 bcd	58 abcd	50 cde
Fosfito CaB	26,6 abcd	4,4 ghij	56 abcd	42 cdef
F8 ( <i>Trichoderma</i> spp) <sup>2</sup>	25,5 abcd	11,1 cdef	44 bcde	37 defg
F13 (não identificado) <sup>2</sup>	22,2 cdef	6,7 efghij	38 cde	34 efg
F9 ( <i>Penicillium</i> spp) <sup>2</sup>	26,6 abcd	7,8 efghi	38 cde	33 fg
Fosfito K	14,4 fg	1,1 j	34 def	25 g
F4 ( <i>Trichothecium</i> spp) <sup>2</sup>	25,5 abcd	3,3 hij	33 defg	25 g
F3 (não identificado) <sup>2</sup>	27,7 abcd	7,8 efghi	32 defg	33 fg
Testemunha úmida	31,1 abc	10 defg	25 efgh	22 gh
Testemunha seca	23,3 bcde	5,6 fghij	11 fghi	9 hi
F1 ( <i>Trichothecium</i> spp) <sup>2</sup>	16,6 ef	2,2 ij	9 ghi	7 ij
F2 ( <i>Trichothecium</i> spp) <sup>2</sup>	26,6 abcd	3,3 hij	9 hi	8 ij
Iminoctadine tris albesilate	8,9 g	2,2 ij	5 i	3 ij
Azoxystrobin	8,9 g	2,2 ij	3 i	2 j
CV (%)	2,79	1,79	20,69	13,50

<sup>1</sup> Médias de três repetições, cada uma constituída por dez frutos, todos com quatro ferimentos. Dados originais transformados com  $\sqrt{x} + 10,5$  (infecções latentes) e  $\arcseno\sqrt{x}$  (ferimentos). As médias seguidas verticalmente pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo DMS teste a 1% de significância.

<sup>2</sup> 10<sup>7</sup> esporos/ml,

<sup>3</sup> 10<sup>8</sup> ufc/ml,

<sup>4</sup> 10<sup>4</sup> esporos/ml.

de 63% e 98% em pêssegos e 67% e 100% em ameixas, respectivamente.

**Avaliação do controle de *Monilinia fructicola* por produtos químicos e agentes biológicos em pêssegos no período de pós-colheita**

No experimento de 1997, as testemunhas seca e úmida, não inoculadas, apresentaram baixa incidência de infecções nas áreas feridas, porém observou-se um maior número de infecções latentes na testemunha úmida (Tabela 1), enquanto a testemunha seca apresentou um número 7,8% menor de frutos com infecções latentes.

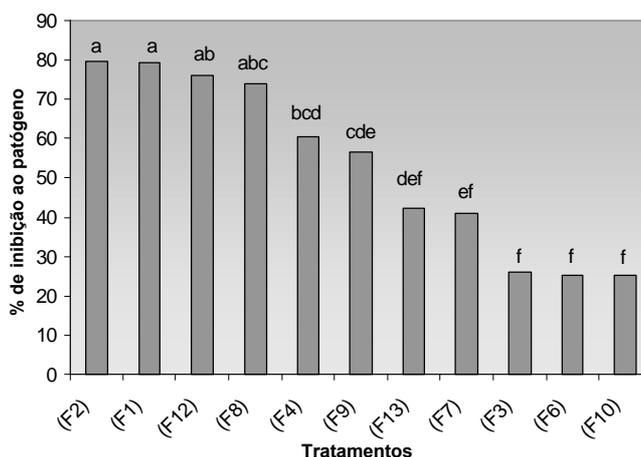
No experimento de 1999, níveis inferiores de incidência da podridão parda foram observados, porém ocorreram semelhanças com o experimento anterior em termos de controle. As testemunhas seca e úmida, não inoculadas, mantiveram baixa incidência de infecções nas áreas feridas e em 10% dos frutos houve o surgimento de infecções latentes favorecidas pela umidade, enquanto a testemunha seca comparada à úmida, apresentou 4,4% menos frutos com podridão (Tabela1).

No que diz respeito às infecções latentes, as que

ocorreram fora dos ferimentos (Tabela 1), os tratamentos fungicidas iminoctadine tris albesilate e azoxystrobin apresentaram o melhor controle, seguidos pelo fosfito de K e isolados F1 e L2 resultando em 8,9; 14,4; 16,6; e 18,9% de frutos doentes, respectivamente, enquanto a testemunha úmida e a inoculada apresentaram 31,1 e 33,3% dos frutos com infecções.

No segundo experimento realizado (1999), os tratamentos fungicidas também foram eficientes no controle das infecções latentes com apenas 2,2% de frutos com infecção, que coincidiu com o resultado apresentado pelo isolado F1. O melhor desempenho foi exibido pelo fosfito de K com aproximadamente 95% de controle em relação à testemunha inoculada. Todos os isolados de fungos foram superiores estatisticamente à testemunha inoculada. No entanto, quando comparados à testemunha úmida, concluiu-se que os melhores foram F1, F2 e F4 com, aproximadamente, 70% de controle.

Com relação à incidência da podridão nos ferimentos, em 1997 (Tabela 1), dos frutos inoculados, os tratamentos com os isolados F13, F9, F4, F3, F1 e F2 e os com os fungicidas iminoctadine tris albesilate e azoxystrobin apresentaram controle da doença quando comparados à testemunha inoculada. No experimento seguinte, todos os isolados (F13, F12, F10, F9, F8, F7, F6, F4, F3, F2, F1) diferiram da testemunha inoculada e os tratamentos fungicidas mantiveram-se eficientes no controle da podridão. De modo semelhante ao experimento anterior, os melhores tratamentos foram com os isolados F1 e F2, e fungicidas, apresentando um controle da podridão de 93 e 92% para F1 e F2, e 97 e 98% para iminoctadine e azoxystrobin.



**FIG. 1 - Inibição do crescimento in vitro de *Monilinia fructicola* por substâncias difusíveis por membrana, com isolados de fungos incubados a 25 °C, no escuro por 72 h. F1, F2 e F4 (*Trichothecium* spp.), F8, F12 e F7 (*Thichoderma* spp.), F9 (*Penicillium* sp.) e F3, F6, F10 e F13 (não identificados). Letras iguais não diferem entre si pelo teste DMS a 1%, considerando média de quatro repetições.**

Entre os fosfitos, em ambos experimentos, o fosfito de K foi superior ao de CaB e exerceu controle eficiente da doença em pós-colheita. As duas leveduras avaliadas não apresentaram controle de infecções nas áreas feridas nos dois anos de avaliação.

Um fato interessante de ser observado é que na safra de 1999, um maior número de antagonistas foi eficiente, provavelmente devido à menor infecção a campo (testemunha úmida em 1997 com 31,1% de frutos infetados contra 10% em 1999). Cabe ressaltar ainda, que em ambos os experimentos, os frutos tratados com os antagonistas não apresentaram colonização externa dos organismos avaliados nem sinais deles nos frutos. Este resultado é diferente do relatado por Hong & Michailides (1997), que trataram frutos com *Trichothecium roseum* (Pers.:Fr) Link, e duas semanas após, estes se apresentaram colonizados pelo antagonista.

Os fungicidas iminocadina tris albesilate e azoxystrobin tiveram bom desempenho em pré-colheita conforme resultados alcançados por Medeiros & Medeiros (1997) e Moreira (1999) com iminocadina e Domingues *et al.* (1999) e Seraphim *et al.* (1999) com azoxystrobin, sendo que ambos mostraram-se também, eficientes no controle da podridão parda em pós-colheita.

As concentrações utilizadas para o patógeno e antagonistas foram apropriadas concordando com as utilizadas por Hong *et al.* (1998), ou seja,  $10^4$  esporos/ml para o patógeno,  $10^7$  esporos/ml e  $10^8$  ufc/ml para fungos e leveduras. Outros trabalhos têm sido feitos utilizando concentrações de suspensões de inóculo de fungos antagonistas semelhantes (Wittig *et al.*, 1997; De Cal *et al.*, 1990). Wittig *et al.* (1997) observaram o controle da podridão parda com a aplicação de *Epicoccum purpurascens*, em casa de vegetação, e de *Aureobasidium pullulans* no campo, e De Cal *et al.* (1990) conseguiram eficiência de *Penicillium frequentans* Westling com sua aplicação em preparações contendo nutrientes como farelo de trigo (*Triticum aestivum* L.).

O antagonista *Trichothecium* spp. (isolados F1 e F2) e o fosfito de K poderiam ser utilizados em pós-colheita, visando minimizar as perdas pela podridão parda, uma vez que mostraram eficientes níveis de controle durante as avaliações.

Os resultados positivos obtidos neste trabalho são um incentivo para a continuidade da pesquisa em busca de soluções para as dificuldades relacionadas à obtenção e produção de controladores biológicos, bem como a adequação de metodologia que possa ser absorvida pelo agricultor. Estas são prioridades a serem resolvidas quando se pretende minimizar o uso de fungicidas convencionais visando menor agressão ao homem e ao meio ambiente. Somente com o domínio sobre o conhecimento do controlador biológico, a segurança de sua aplicação em relação ao homem e meio ambiente, sua eficiência, poder-se-á viabilizar seu uso dentro de um programa de manejo integrado de doenças.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, E.R. & MATOS, C.S. Controle químico de *Monilinia fructicola* em pêssego na pós-colheita. Fitopatologia Brasileira 21:301-303. 1996.
- BALARDIN, R.S., BALARDIN, C.R.R. & CHAVES, L.C.S. Eficiência de fungicidas e diferentes doses no controle de *Monilinia fructicola* (Wint) sobre frutos do pessegueiro (*Prunus persica* var. *Vulgaris*), em pós-colheita. Ciência Rural 24:15-17. 1994.
- BETTIOL, W. Seleção de microrganismos antagonistas a fitopatógenos. In: Bettiol, W. (Ed.) Controle Biológico de Doenças de Plantas. Jaguariúna. EMBRAPA, CNPDA. 1991. pp. 223-236.
- DE CAL, A., SAGASTA, E.M. & MELGAREJO, P. Biological control of peach twig blight (*Monilinia laxa*) with *Penicillium frequentans*. Plant Pathology 39:612-618. 1990.
- DOMINGUES, R.J., TÖFOLI, J.G., OLIVEIRA, S.H.F. & GARCIA JR, O. Avaliação do fungicida azoxystrobin no controle da mancha de micoserela (*Mycosphaerella fragariae*) do morango. Anais, 22º Congresso Paulista de Fitopatologia, Jaboticabal, SP. 1999. pp. 92.
- FORTES, J. & BETTIOL, W. Controle biológico e químico de *Monilinia fructicola*, com tratamento pós-colheita de pêssegos. Fitopatologia Brasileira 22:264. 1997 (Resumo).
- HONG, C.X. & MICHAILIDES, T.J. Prune, plum, and nectarine as hosts of *Trichothecium roseum* in California orchards. Plant Disease 81:112. 1997 (Note).
- HONG, C.X., MICHAILIDES, T.J. & HOLTZ, B.A. Effects of wounding, inoculum density, and biological control agents on postharvest brown rot of stone fruits. Plant Disease 82:1210-1216. 1998.
- MARIANO, R. DE L.R. Métodos de seleção *in vitro* para o controle microbiológico de patógenos de plantas. Revisão Anual de Patologia de Plantas 1:369-409.1993.
- MAY, L.L. & KIMATI, H. Controle biológico de *Phytophthora parasitica* em mudas de citros. Fitopatologia Brasileira 24:18-24. 1999.
- MEDEIROS, G. & MEDEIROS, C.A. Controle químico de *Monilinia fructicola* em pessegueiro. Fitopatologia Brasileira 22:283. 1997 (Note).
- MOREIRA, L.M. Controle químico e biológico de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey e monitoramento de infecções latentes em frutos. (Tese de Mestrado). Curitiba. Universidade Federal do Paraná. 1999.
- SERAPHIM, R.C., PAIVA, S.B. & BASTOS, H.B. Eficiência do fungicida azoxystrobin no controle da pinta preta (*Alternaria solani*) do tomateiro, em programas de aplicação com chlorothalonil. Anais, 22º Congresso Paulista de Fitopatologia, Jaboticabal, SP. 1999. pp. 124.
- WILSON, C.L. & WISNIEWSKI, M.E. (Eds.) Biological control of post harvest diseases of fruits and vegetables and emerging technology. Annual Review of Phytopathology 27:425-441. 1989.
- WITTIG, H.P.P., JOHNSON, K.B. & PSCHIEDT, J.W. Effect of epiphytic fungi on brown rot blossom blight and latent infections in sweet cherry. Plant Disease 81:383-387. 1997.