



# Controle do mofo cinzento com *Clonostachys rosea* na produção de mudas de fúcsia

Ana E. Silvera-Pérez<sup>1</sup>, Rosa M. Valdebenito-Sanhueza<sup>2</sup>, Valmir Duarte<sup>3</sup>, Henrique P. Santos<sup>4</sup> & João Felippeto<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideú, Uruguay; <sup>2</sup>Proterra Engenharia Agrônoma, 95200-000, Vacaria, RS, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade de Rio Grande do Sul, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil; <sup>4</sup>Embrapa Uva e Vinho, 130, 95700-000, Bento Gonçalves, RS, Brasil

Autor para correspondência: Rosa M. Valdebenito-Sanhueza, e-mail: rosamaria@m2net.com.br

## RESUMO

A eficácia de três estirpes de *Clonostachys rosea* no controle do mofo cinzento (MC) em fúcsia (*Fuchsia speciosa*) foi comparada. Em experimento em estufa em Porto Alegre, RS, a incidência do MC foi reduzida em 40, 73 e 80% com a aplicação das estirpes GSAL, GFO4 e G8 de *C. rosea*, em 2004, e em 83, 89 e 94%, respectivamente, em 2005. Em experimentos em estufa comercial de mudas em Vacaria, RS, nos dois anos, as plantas foram aspergidas semanalmente com: (1) com água + espalhante adesivo (0,01%); (2) aplicação sequencial com clorotalonil, folpet, oxicloreto de cobre, mancozeb, iprodione e thiram, a partir de 26 dias do plantio; (3) suspensão de conídios da estirpe GFO4, 39 vezes a partir dos 26 dias do transplantio; e (4) suspensão de GFO4, 29 vezes a partir dos 61 dias do transplantio. A redução da incidência e da severidade do MC nos tratamentos com *C. rosea* se equívaleu ao com fungicidas, sem efeito na fotossíntese ou condutância estomática. O número de mudas obtidas de plantas tratadas com *C. rosea* e fungicidas foi superior à testemunha em 2005.

**Palavras chave:** *Gliocladium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Fuchsia speciosa*, controle biológico, fungicidas.

## ABSTRACT

### Control of gray mold with *Clonostachys rosea* in the production of fuchsia cuttings

The efficacy of three strains of *C. rosea* in the control of Gray Mold (GM) in fuchsia was compared. In a greenhouse experiment conducted in Porto Alegre, RS, the incidence of GM was reduced by 40, 73, and 80% with application of strains GSAL, GFO4, and G8 in 2004, and by 83, 89 and 94%, respectively, in 2005. Other experiments were conducted in the same years in a commercial crop of fuchsia grown from cuttings in a greenhouse in Vacaria, RS. The plants were sprayed weekly, as follows, with: (1) water plus a wetting agent, 0.01% (control); (2) chlorothalonil, folpet, copper, mancozeb, iprodione, and thiram beginning at 26 days after transplanting; (3) a conidial suspension of strain GFO4 of *C. rosea* applied 39 times beginning at 26 days after transplanting, and (4) GF04 conidial suspensions applied 29 times beginning at 61 days after transplanting. *C. rosea* reduced the incidence and severity of GM to levels similar to those in the fungicide-treated plants, and did not affect photosynthesis or stomatic conductance. The number of cuttings obtained from plants treated with *C. roseum* and fungicides was higher than the control in 2005.

**Keywords:** *Gliocladium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Fuchsia speciosa*, biological control, fungicides.

## INTRODUÇÃO

O mofo cinzento (MC), causado por *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr., afeta numerosas espécies de plantas, especialmente no sistema de cultivo protegido (Jarvis, 1989). O cultivo de fúcsia (*Fuchsia speciosa* Hort.) em estufa, dependendo da variedade e das condições do ambiente, pode sofrer grandes perdas por MC. Os sintomas do ataque de *B. cinerea* descritos em fúcsia incluem descoloração, amarelecimento e encharcamento dos tecidos, murcha

e necrose de folhas e ramos e até a morte das plantas (Huelsman, 2000).

O manejo da doença se baseia, fundamentalmente, na aplicação de fungicidas e práticas culturais visando a redução da infecção e da esporulação do patógeno (Jarvis, 1989; Hausbeck & Moorman, 1996). Os fungicidas utilizados são benzimidazóis, dicarboxímidas, anilino-pirimidinas e inibidores da síntese do ergosterol (Leroux, 2004). O uso frequente e inadequado desses produtos acarreta riscos à saúde humana (Vero & Mondino, 2002) e tem favorecido o surgimento de estirpes de *B. cinerea* resistentes aos fungicidas e controle químico ineficiente (Ghini, 1996). O controle biológico é uma das alternativas ao uso de fungicidas sintéticos, e vários fungos antagonistas, entre eles *Clonostachys rosea* (Link: Fr.)

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade Federal de Rio Grande do Sul. Porto Alegre RS. 2006.

Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams, tem sido citados por sua eficiência no controle do MC (Valdebenito-Sanhueza et al., 1997; Köhl et al., 1998; Yu & Sutton, 1999; Sutton et al., 2002; Morandi et al., 2003; Li et al., 2004; Nobre et al., 2005).

Aplicações foliares de *C. rosea* são efetivas na supressão da esporulação de *B. cinerea* em numerosos hospedeiros, tais como morangueiro (*Fragaria vesca*) (Sutton & Peng, 1993), espécies florestais (Molina-Mercader et al., 2006) e ornamentais (Sutton et al., 1997; Köhl et al., 1998; Morandi et al., 2003). Suspensões de esporos ( $10^6$  conídios mL<sup>-1</sup>) aplicadas semanalmente em morangueiros, cultivados em casa vegetação, e em folhas destacadas de morangueiro e framboeseiro controlaram eficientemente o MC (Valdebenito-Sanhueza et al., 1997; Zamboni-Pinotti et al., 2007).

O número de aplicações de *C. rosea* necessárias para o biocontrole do MC varia segundo o patossistema. Em experimentos em cultivos comerciais de morangueiro, a utilização de três ou quatro aplicações de suspensões de conídios ( $10^6$  ou  $10^7$  mL<sup>-1</sup>) de *C. rosea* em intervalos de uma semana reduziu a incidência de *B. cinerea* nas infrutescências (Sutton, 1994). A aplicação de conídios de *Ulocladium atrum* ( $10^6$  mL<sup>-1</sup>) e *C. rosea* ( $10^7$  mL<sup>-1</sup>) em ciclâmen, em casa de vegetação, a cada duas ou três semanas, foi tão efetiva no controle do MC quanto as aplicações de fungicidas (Köhl et al., 1998).

O uso de antagonista em ambientes protegidos aumenta a possibilidade de sucesso e de viabilidade econômica da aplicação do controle biológico por se tratar de áreas pequenas, com alta densidade de plantas, culturas de alto valor econômico e fatores climáticos mais estáveis (Paulitz & Belanger, 2001; Vida et al., 2004). Para verificar a eficiência do controle biológico do MC em cultivo de fúcsia, suspensões de conídios de *C. rosea* foram aplicadas em plantas em cultivos experimental e comercial.

## MATERIAL E MÉTODOS

Mudas de fúcsia cv. 022, com três semanas, em vasos de 1 L, com argila expandida, em bancadas, mantidas no escuro por 14-16 h, irrigadas diariamente até escoamento, recebendo 200 mL de NPK (20-20-20, 1 g L<sup>-1</sup>) três vezes por semana foram utilizadas.

### Origem das estirpes e produção de inoculo

Três estirpes de *C. rosea* (GSAL, G8 e GFO4) (EMBRAPA-CNPV), obtidas de folhas de morangueiro, e oito estirpes de *B. cinerea* obtidos de plantas de fúcsia cv. 022, de casa vegetação com cultivo comercial foram utilizados nos experimentos. As estirpes de *C. rosea* e os isolados do patógeno foram mantidos em meio batata-dextrose-agar (BDA), a 24°C e 12 h de luz. As suspensões de conídios de *C. rosea* e de *B. cinerea* foram preparadas a partir de culturas de 8 a 10 dias em BDA, em água destilada esterilizada (ADE) e Tween 20 a 0,01%, ajustadas para  $10^6$  e  $10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>, respectivamente, com auxílio de

hemacitômetro. Uma suspensão de conídios da estirpe GFO4 foi preparada a partir de grãos de trigo colonizados pelo fungo em água com espalhante (0,01%, Haiten, 200 g L<sup>-1</sup>).

### Controle de *Botrytis cinerea* com três estirpes de *Clonostachys rosea* em condição controlada

Plantas de fúcsia cv. 022 de 51 dias, cultivadas em casa-de-vegetação do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia da UFRGS, Porto Alegre, RS, a 10 m altitude, foram aspergidas semanalmente no fim da tarde com: suspensões de conídios das estirpes GSAL, G8, e GFO4; ADE com 0,01% do espalhante (testemunha) durante 210 dias (junho-dezembro, 2004-2005). Os quatro tratamentos foram organizados em blocos casualizados com quatro repetições e seis vasos com três plantas por parcela experimental. Quatro folhas completamente expandidas, destacadas de plantas de cada vaso por meio de um borrifador, foram inoculadas com *B. cinerea* ( $10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>) e incubadas em câmara úmida por 72 h a 24°C. A concentração do inóculo foi determinada como a mínima concentração de conídios capaz de produzir sintoma do MC. As avaliações foram feitas em 24 folhas destacadas por parcela aos 160 e 190 dias pós-transplântio. A temperatura e umidade relativa (UR) diárias foram registradas (termômetro Incoterm, -10/+60°C; higrômetro eletrônico Hygrotherm, 10-99%).

### Controle de *Botrytis cinerea* com a estirpe GFO4 de *Clonostachys rosea* em condição comercial

O experimento foi conduzido na estufa da empresa Agro-Industrial Lazzeri Ltda., Vacaria, RS, de abril a dezembro de 2004 e 2005, sob condições de infecção natural. Os tratamentos semanais foram com: água + espalhante adesivo (Haiten) 0,01% (testemunha); sequência de clorotalonil (Bravonil 500) (1 mL L<sup>-1</sup>), folpete (Folpan Agricur 500 WP) (1 g L<sup>-1</sup>), oxicleto de cobre (Cupravit Azul BR) (1 g L<sup>-1</sup>), mancozebe (Dithane NT) (1 g L<sup>-1</sup>), iprodione (Rovral SC) (1 mL L<sup>-1</sup>), tiram (Thiram 480 TS) (1,5 g L<sup>-1</sup>) a partir de 26 dias pós-transplântio; suspensão de conídios da estirpe GFO4 de *C. rosea*, a partir dos 26 dias pós-transplântio, duas vezes por semana a partir dos 198 dias do transplântio; e suspensão de conídios da estirpe GFO4 a cada três semanas a partir dos 61 dias do transplântio, passando à semanal aos 110 dias e duas vezes por semana aos 198 dias pós-transplântio. O delineamento foi de blocos ao acaso, com 18 vasos por parcela, sendo nove vasos úteis com duas a três plantas, e quatro repetições. A incidência e a severidade da infecção latente de *B. cinerea* em discos de 36 folhas destacadas, por parcela experimental, foram avaliadas aos 145, 180, 210, 238, 258 dias pós-transplântio. As folhas totalmente expandidas foram coletadas de cada vaso, colocadas em temperatura de -20°C por 20 min, desinfestadas (álcool 96%, 1 min; hipoclorito de sódio 2%, 2 min; água destilada e esterilizada) e secas com papel toalha. Discos de folha de 1,7 cm de diâmetro foram obtidos com um furador, transferidos a placas de Petri com agar-

água e incubados durante 10 dias a 24°C e 12 h de luz. A determinação da incidência foi estimada pelo número de discos com estruturas de *B. cinerea* e/ou *C. rosea* e a severidade pela área dos discos colonizada pelos fungos, utilizando um microscópio estereoscópico (modelo Wild M5A), de ocular com retículo. O número de mudas por planta de cada parcela experimental, em oito colheitas, 221 até 272 dias pós-transplântio, e seis colheitas, 248 até 292 dias pós-transplântio, em 2004 e 2005, respectivamente, foi registrado.

#### Medição da fotossíntese, condutância estomática e transpiração

A fotossíntese, condutância estomática e transpiração foram registradas com um medidor portátil de fotossíntese Li 6400 (Li Cor, Inc., Lincoln, EUA), equipado com fonte artificial de radiação fotossinteticamente ativa (400-700 nm). Duas a três plantas foram amostradas aleatoriamente, retirando-se a primeira folha (unidade experimental) localizada na terceira bifurcação do tronco, a partir da linha do solo, em cada tratamento, aos 258 dias pós-transplântio, em 2004 e 2005; cinco repetições por tratamento. Esta folha era totalmente exposta à luz solar, sadia e sem sinal de senescência (Santos & Buckeridge, 2004).

Antes das avaliações, uma curva de resposta fotossintética foi construída para cada tratamento, considerando os limites de 1500 e zero  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , para identificar a radiação de saturação desta espécie e estágio de desenvolvimento. Em todas as curvas, a radiação de saturação foi de 800  $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , sendo esta fixada no equipamento para proceder as avaliações de fotossíntese líquida ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e transpiração ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) nas folhas das plantas selecionadas.

#### Análise estatística

Os dados de incidência e severidade foram transformados ( $\sqrt{x + 0,5}$ ) e a análise estatística foi

realizada pelo Sistema de Análise Estatística (Procedimento GLM, SAS Institute, Cary, NC), considerando delineamento de blocos casualizados multifatorial (tratamentos, blocos e datas de avaliação). Os dados das variáveis fisiológicas e do número de mudas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre médias comparadas pelo teste de Duncan (5%).

## RESULTADOS

#### Controle de *Botrytis cinerea* com três estirpes de *Clonostachys rosea* em condição controlada

Em 2004, as plantas tratadas com as estirpes GFO4 ou G8 de *C. rosea* apresentaram menos MC do que as da testemunha, mas não com GSAL. Dois, 50 e 54% dos discos de folhas tratadas com GSAL, G8 e GFO4 continham *C. rosea*, respectivamente. Em 2005, a incidência foi 1,2, 3,0 e 18% de MC e 21, 66 e 62% de *C. rosea* em plantas tratadas com GSAL, G8 e GFO4, respectivamente. As temperaturas registradas foram favoráveis à germinação de conídios de *C. rosea* ( $>20^\circ\text{C}$ ) de setembro a dezembro de 2004, e de junho a dezembro de 2005. Este fato pode ter contribuído para a maior incidência *C. rosea* em 2005.

#### Avaliação do controle de *Botrytis cinerea* com a estirpe GFO4 de *Clonostachys rosea* em cultivo comercial

Os tratamentos das plantas com *C. rosea* reduziram a incidência e severidade do MC na cultura comercial de fúcsia cv. 022 a níveis similares das plantas tratadas com fungicidas, nos dois anos. Em 2004, as plantas tratadas com a estirpe GFO4 e fungicidas apresentaram menor número de discos com *B. cinerea* quando comparadas à testemunha, em todas as datas de avaliação (Tabela 1). Os tratamentos e as datas de avaliação foram significativos ( $p < 0,0001$ ), e assim também sua interação ( $p < 0,0258$ ). No primeiro ciclo foram verificadas diferenças entre as datas de avaliação das plantas da testemunha e as tratadas 29 vezes com a estirpe GFO4. O maior número de discos com *B.*

**TABELA 1** - Incidência de *Botrytis cinerea* em discos de folhas de plantas de fúcsia tratadas com água, estirpe GFO4 de *Clonostachys rosea* e fungicidas

Avaliações no pós-transplântio (dias)	Discos foliares com <i>Botrytis cinerea</i> <sup>(a)</sup>			
	Tratamentos			
	Testemunha	29 aplicações de GFO4 <sup>(b)</sup>	39 aplicações de GFO4 <sup>(c)</sup>	Fungicidas
145	5,0 a	0,0 b	0,0 b	2,0 b
180	20,0 a	8,6 b	4,5 bc	2,0 c
210	11,0 a	0,3 b	0,9 b	1,0 b
238	7,0 a	0,2 b	0,0 b	0,3 b
258	20,0 a	4,2 b	3,2 b	0,2 b

<sup>(a)</sup> Médias de quatro repetições de 36 discos; quando seguidas das mesmas letras na linha, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ); A partir dos 61 <sup>(b)</sup> e 26 <sup>(c)</sup> dias pós-transplântio.

*cinerea* foi observado aos 180 e 258 dias pós-transplântio na testemunha e aos 180 dias nas plantas tratadas 29 vezes com a estirpe GFO4 (Tabela 1).

A severidade do MC nas plantas tratadas com *C. rosea* e fungicidas foi significativamente menor que na testemunha desde a segunda data de avaliação (180 dias pós-transplântio), não diferindo na primeira data. A maior severidade do MC também ocorreu aos 180 e 258 dias nas plantas da testemunha e naquelas tratadas com 29 aplicações de GFO4, não diferindo nas de fungicidas ou com 39 aplicações de GFO4 (Tabela 2).

No segundo ano, não houve diferenças significativas entre as datas de avaliação, mas a incidência e a severidade do MC nas plantas tratadas 29 ou 39 vezes com a estirpe GFO4 ou com fungicidas foram menores do que na testemunha (Tabela 3). Nas duas últimas datas de avaliação, não houve incidência de MC. A colonização dos discos de folhas de fúcsia por *C. rosea* foi observada em todos os tratamentos, mesmo que em níveis baixos, quando comparadas com as plantas com fungicidas e a testemunha, o que evidencia que a proteção utilizada para evitar a deriva não foi eficaz e não evitou o efeito de aerossol da aspersão (Tabela 4).

**TABELA 2** - Área de discos de folhas de fúcsia, tratadas com água, estirpe GFO4 de *Clonostachys rosea* e fungicidas, colonizada por *Botrytis cinerea*

Avaliações no pós-Transplântio (dias)	Área de discos colonizada com <i>Botrytis cinerea</i> (mm <sup>2</sup> ) <sup>(a)</sup>			
	Tratamentos			
	Água	29 aplicações de GFO4 (b)	39 aplicações de GFO4 (c)	Fungicidas
145	1,10 ns	0,00 ns	0,00 ns	0,30 ns
180	6,70 a	2,60 b	1,10 b	1,00 b
210	4,00 a	0,40 b	0,30 b	0,26 b
238	2,40 a	0,04 b	0,00 b	0,35 b
258	7,67 a	0,90 b	0,87 b	0,04 b

<sup>(a)</sup> Médias de quatro repetições de 36 discos; quando seguidas das mesmas letras na linha, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ); A partir dos 61<sup>(b)</sup> e 26<sup>(c)</sup> dias pós-transplântio.

**TABELA 3** - Número e área de discos de folhas de fúcsia, tratadas com água, estirpe GFO4 de *Clonostachys rosea* e fungicidas, colonizados por *Botrytis cinerea*

Tratamentos	Incidência <sup>(a)</sup>	Severidade (mm <sup>2</sup> ) <sup>(a)</sup>
Água	6,0 a	2,0 a
29 aplicações de GFO4 <sup>(b)</sup>	0,7 b	0,2 b
39 aplicações de GFO4 <sup>(c)</sup>	0,4 b	0,2 b
Fungicidas	0,5 b	0,1 b

<sup>(a)</sup> Médias de quatro repetições de 36 discos e três datas de avaliação; quando seguidas das mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ); A partir dos 26<sup>(b)</sup> e 61<sup>(c)</sup> dias pós-transplântio.

**TABELA 4** - Discos de folhas de fúcsia, tratadas com água, estirpe GFO4 de *Clonostachys rosea* e fungicidas, com *C. rosea*

Tratamentos	2004 <sup>(a)</sup>	2005 <sup>(b)</sup>
39 aplicações de GFO4 <sup>(c)</sup>	18,6 a	9,8 a
29 aplicações de GFO4 <sup>(d)</sup>	18,0 a	4,6 b
Fungicidas	2,6 b	2,7 c
Água	1,6 b	0,9 d

Médias de quatro repetições de 36 discos, com cinco<sup>(a)</sup> e três<sup>(b)</sup> datas de avaliação; quando seguidas das mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ); A partir dos 26<sup>(c)</sup> e 61<sup>(d)</sup> dias pós-transplântio.

### Medição da fotossíntese, condutância estomática e transpiração

Não houve diferença na fotossíntese líquida, condutância estomática ou transpiração entre plantas tratadas com *C. rosea*, fungicidas ou água (testemunha), em 2004. No entanto, o número de mudas por planta foi maior nas tratadas com fungicidas em 2005. Nos dois anos, maior vigor das plantas tratadas com *C. rosea* ou fungicidas foi observado, mas não foi quantificado.

### DISCUSSÃO

Nos dois anos, as estirpes GFO4 e G8 de *C. rosea* controlaram o MC. Também há relato que as estirpes NCR60/F e NCR28/R de *C. rosea* reduzem a esporulação de *B. cinerea* em folhas de roseira (*Rosa hybrida*), morangueiro e tomateiro (*Solanum lycopersicum*). Da mesma forma, NCR27/R e NCR61/F reduziram em roseira, Pg88-710, NCR19/F e NCR24/R em morangueiro, e todas elas em tomateiro (Nobre et al., 2005). Tais fatos evidenciam o controle do MC em diferentes hospedeiros, característica vantajosa para seu uso em escala comercial. Embora a estirpe GSAL tenha promovido algum controle do MC em 2005, postula-se que a baixa colonização dos tecidos, observada em 2004, foi responsável pela ausência de controle da doença naquele ano.

A capacidade das estirpes GFO4, G8 e GSAL de *C. rosea* de colonizar discos de folha de fúcsia variou, fato já constatado em roseira, com outras estirpes, onde a superfície colonizada por NCR62/F (17,8%) foi maior do que NCR61/F (5,7%), sem ter diferença, porém, em tomateiro. Esses resultados evidenciam a variabilidade do biocontrole pelas diferentes estirpes, provavelmente por demandas diferentes de nutrientes, temperatura, umidade, luminosidade, hospedeiro e idade fisiológica do tecido da planta (Nobre et al., 2005). Consequentemente, a mistura de estirpes de *C. rosea* tem sido utilizada em morangueiros (Cota et al., 2008).

A maior taxa de colonização dos discos de folha por *C. rosea*, em 2005, possivelmente, foi devida ao maior período de temperatura favorável para germinação dos conídios que, além de água livre ou UR próxima à saturação, deve variar entre 24-33°C (Köhl et al., 1999). Em plântulas de *Picea mariana*, sem água livre nas folhas, conídios inoculados perderam a capacidade de germinar em sete dias (Sutton et al., 1997). A importância da temperatura na atividade antagonista de *C. rosea* contra *B. cinerea* tem sido demonstrada. Assim, *C. rosea* suprimiu a esporulação de *B. cinerea* em folhas e morangueiro, framboeseiro, ciclâmen, begônia e gerânio a 20-30°C, porém a ação diminuiu a temperaturas menores de 15°C (Sutton et al., 1997).

A UR também afeta o controle do MC por *C. rosea* pelo seu efeito no estabelecimento e crescimento do antagonista no tecido da planta. Em feijoeiro, *C. rosea* controlou o MC quando a UR atingiu 95-98%, mas não com 93% (Szandala & Backhouse, 2001). No entanto, embora a UR variou de 63-70% e 80-86% nos experimentos com

fúcsia, em 2004 e 2005, respectivamente, a colonização dos tecidos pelo antagonista não foi limitada, indicando que as estirpes utilizadas podem tolerar menor UR em casa de vegetação.

Um efetivo controle do MC depende do estabelecimento prévio de *Clonostachys rosea* nas folhas. Discos de folhas de roseira, morangueiro, eucalipto e tomateiro, tratados preventivamente com estirpes de *C. rosea*, variaram na porcentagem de colonização e redução da esporulação de *B. cinerea*. Treze estirpes de *C. rosea* reduziram a esporulação de *B. cinerea* em folhas de roseira (81-97,4%), morangueiro (87,6-96,8%), eucalipto (63,7-89,7%) e tomateiro (100%) (Nobre et al., 2005). Embora se assuma que a maior frequência de aplicações de *C. rosea* garante a presença contínua de esporos viáveis, acelerando a colonização dos tecidos em desenvolvimento e, conseqüentemente, inibindo o patógeno, os resultados com fúcsia indicaram que a maior frequência não afetou o controle do MC. O tratamento com menor número de aplicações foi suficiente para *C. rosea* colonizar os tecidos e a reduzir a colonização e esporulação de *B. cinerea*.

Em sistemas protegidos, aplicações semanais de *C. rosea* em plantas de morangueiros promoveram o controle do MC (Valdebenito-Sanhueza et al., 1997). Aplicações de *C. rosea* em plantas de ciclâmen, a cada 20 dias, foram tão efetivas no controle do MC quanto fungicidas (Köhl et al., 1998). Em roseira, somente uma aplicação de *U. atrum* reduziu a incidência e a severidade do MC. Contudo, o controle foi maior com maior número de aplicações (Yohalem & Kristensen, 2004). Em cultura de morangueiro a campo, uma ou duas aplicações semanais de *C. rosea* reduziram mais a incidência do MC em flores e frutos do que fungicidas, mas também a maior frequência redundou numa maior redução (Cota et al., 2008). Esses resultados evidenciam a possibilidade de diminuir a frequência de aplicações nos primeiros estádios de desenvolvimento de cada cultura e aumentá-la nos estádios mais avançados, otimizando o uso do biocontrole em fúcsia.

Nos dois anos de experimento o tratamento de plantas fúcsia com *C. rosea* e os fungicidas reduziram a incidência e severidade do MC em condições de cultivo comercial. Isto confirma a viabilidade do uso do controle biológico do MC com *C. rosea* em cultura comercial de fúcsia como já é citado em outras flores (Köhl et al., 1998; Morandi et al., 2003) e recomendam a substituição do controle químico por este método. Este é o primeiro trabalho de biocontrole do MC em fúcsia. Em 2004, a ocorrência do MC foi verificada em todas as datas de avaliação, mas, em 2005, só nas três iniciais. Essa diferença entre anos provavelmente seja devido às condições do ambiente menos condúctivas ao desenvolvimento da doença em todo o período do cultivo em 2005 do que em 2004. Isto pode ocorrer visto que o ambiente da casa de vegetação teve manejo manual da ventilação e umidade, mas não da temperatura.

Constatou-se que a proteção das plantas, na produção de mudas de fúcsia, pode ser iniciada com a aplicação de *C.*

*rosea* aos 61 dias pós-transplântio (29 aplicações), pois a incidência e severidade do MC não diferiram das tratadas a partir dos 26 dias pós-transplântio (39 aplicações). Isto significou uma redução de 10 pulverizações. O critério, de iniciar as aplicações do antagonista desde os primeiros estádios de crescimento das plantas, tem sido recomendado para favorecer a colonização de *C. rosea* antes do patógeno, mas isso pode variar em função da espécie hospedeira, presença da doença quando iniciados os tratamentos com o antagonista, uso de práticas culturais e características epidemiológicas da doença (Sutton et al., 1997). Visto que, nas roseiras, tratamentos com *C. rosea* iniciados em estágios avançados da epidemia, sem o uso de práticas de higienização, não reduziram a incidência do MC (Morandi et al., 2003). O sucesso obtido no tratamento de fúcsia com *C. rosea* deve ser atribuído também às práticas de higienização adotadas, particularmente à eliminação de hastes e folhas com esporulação de *B. cinerea*, diminuindo a fonte de inóculo.

A presença de *C. rosea* nas plantas de tratamentos sem aspersão com este antagonista pode ter interferido na incidência do MC, mascarando um efeito maior do que o observado. Outrossim, a presença de *C. rosea* nas plantas tratadas com fungicidas sugere sua possível tolerância a tais fungicidas. Há relato de efeito negligível do fungicida iprodione no crescimento de estirpes de *C. rosea*, indicando a viabilidade da sua aplicação conjunta (Tarantino et al., 2007). A integração de agentes químicos e biológicos de controle poderia ser explorada futuramente para a associação dos dois métodos de controle no manejo integrado da doença. A ausência de efeito na fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração entre as plantas tratadas com *C. rosea*, fungicidas e água talvez se deva ao aumento das aplicações do antagonista a partir dos 198 dias pós-transplântio. O excesso de pulverizações do antagonista poderia produzir estresse nos tecidos das plantas, não alterando os parâmetros fisiológicos citados anteriormente.

O maior vigor das plantas de fúcsia, observado em 2005, provavelmente se deva à supressão da doença, como relatado em *Picea mariana* (Zhang et al., 1996), mas a hipótese de algum fator hormonal de estímulo não deve ser descartada. A variação entre o número de mudas por planta nos dois ciclos de cultivo pode ter sido devido às condições de ambiente menos favoráveis ao MC no segundo ano. Existem relatos da ação de *C. rosea* sobre a promoção de crescimento das plantas, quando aplicado no solo nos cultivos de aveia e beterraba-açucareira (Johansen et al., 2005) e no substrato de pepino no sistema hidropônico (Liu & Sutton, 2002). Entretanto, não existem relatos de promoção de crescimento quando o antagonista é aplicado na parte aérea.

Os resultados obtidos indicam que as estirpes GFO4, G8 e GSAL de *C. rosea* podem ser utilizadas no controle do MC em fúcsia, sendo tão eficientes quanto fungicidas, sob condições de pressão de inóculo moderada, com aplicação

preventiva. Também pode ser inferido que as aplicações devem ser iniciadas aos dois meses pós-transplântio, com pulverizações a cada três semanas, passando a semanal após quatro meses, e duas vezes por semana após o sétimo mês. Estudos deverão ser realizados para otimizar a formulação, concentração e a frequência de aplicação do antagonista. Também a avaliação de estirpes de *C. rosea* isoladas de fúcsia e outros nichos, bem como misturas das estirpes GSAL, G8 e GFO4, poderão aumentar as opções de controle do MC nesta cultura. Além disso, a determinação das características fisiológicas e da sensibilidade aos fungicidas de estirpes mais eficazes deverá direcionar o seu uso para a integração do biocontrolador no manejo integrado da doença.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Faculdade de Agronomia da Universidade de Rio Grande do Sul, à Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho, e à Agro-Industrial Lazzeri Ltda., que possibilitaram a realização do trabalho. Os autores agradecem ainda aos eng. agr. Hércio Eloi Koefender, Jadir Swirtes e Fernando Leichtweis, e demais funcionários da Lazzeri, pelo auxílio direto na condução desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cota LV, Maffia LA, Mizubuti ESG, Macedo PEF, Antunes RF (2008) Biological control of strawberry gray mold by *Clonostachys rosea* under field conditions. *Biological Control* 46:515-522.
- Ghini RE (1996) Ocorrência de resistência a fungicidas em linhagens de *Botrytis cinerea*, no estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira* 21:285-288.
- Hausbeck MK, Moorman GW (1996) Managing *Botrytis* in greenhouse-grown flower crops. *Plant Disease* 80:1212-1219.
- Huelsman M (2000) Crop Profile for *Fuchsia* in Ohio. Disponível em: <<http://pestdata.ncsu.edu/CropProfiles/docs/ohfuchsia.html>>. Acesso em: 22 fev 2010.
- Jarvis WR (1989) Managing diseases in greenhouse crops. *Plant Disease* 73:190-194.
- Johansen A, Knudsen IMB, Binnerup SJ, Winding A, Johansen JE, Jensen LE, Andersen KS, Svenning MM, Bonde TA (2005) Non-target effects of the microbial control agents *Pseudomonas fluorescens* DR54 and *Clonostachys rosea* IK726 in soils cropped with barley followed by sugar beet: a greenhouse assessment. *Soil Biology and Biochemistry* 37:2225-2239.
- Köhl J, Gerlagh M, De Haas BH, Krijger MC (1998) Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. *Phytopathology* 88:568-575.
- Köhl J, Lombaers-Van Der Plas CH, Molhoek WML, Kessel GJT, Goossen-Van Der Geijin HM (1999) Competitive ability of the antagonists *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* at temperatures favourable for *Botrytis* spp. development. *Biocontrol* 44:329-346.

- Leroux P (2004) Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. In: Elad Y, Williamson P, Tudzynsky P, Delen N (Eds.) *Botrytis: Biology, pathology and control*. Dordrecht. Kluwer Academic. pp. 195-222.
- Li GQ, Huang HC, Acharya SN, Erickson RS (2004). Biological control of blossom blight of alfalfa caused by *Botrytis cinerea* under environmentally controlled and field conditions. *Plant Disease* 88:1246-1251.
- Liu W, Sutton JC (2002) Effectiveness of microbial agents to protect *Pythium* root rot in hydroponic cucumber. *Biological and Cultural Test for Control of Plant Diseases* 18:1-2.
- Molina-Mercader G, Zaldúa Flores S, González Vargas G, Sanfuentes Von Stowasser E (2006) Selección de hongos antagonistas para el control biológico de *Botrytis cinerea* en viveros forestales en Chile. *Bosque* 27:126-134.
- Morandi MAB, Maffia LA, Mizubuti ESG, Alfenas AC, Barbosa JG (2003) Suppression of *Botrytis cinerea* sporulation by *Clonostachys rosea* on rose debris: A valuable component in botrytis blight management in commercial greenhouses. *Biological Control* 26:311-317.
- Nobre SAM, Maffia LA, Mizubuti ESG, Cota LV, Dias APS (2005) Selection of *Clonostachys rosea* isolates from Brazilian ecosystems effective in controlling *Botrytis cinerea*. *Biological Control* 34:132-143.
- Paulitz TC, Belanger RR (2001) Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology* 39:103-133.
- Santos HP, Buckeridge MS (2004) The role of the carbon of cotyledons in the establishment of seedlings of *Hymenaea courbaril* under different light conditions. *Annals of Botany* 94:819-830.
- Sutton JC (1994) Biological control of strawberry diseases. *Advances in strawberry research* 13:1-12.
- Sutton JC, Li D, Peng G, Yu H, Zhang P, Valdebenito-Sanhueza RM (1997) A versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. *Plant Disease* 81:316-328.
- Sutton JC, Liu W, Huang R, Owen-Going N (2002) Ability of *Clonostachys rosea* to establish and suppress sporulation potential of *Botrytis cinerea* in deleafed stems of hydroponic greenhouse tomatoes. *Biocontrol Science and Technology* 12:413-425.
- Sutton JC, Peng G (1993) Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Phytopathology* 83:615-621.
- Szandala ES, Backhouse D (2001) Suppression of sporulation of *Botrytis cinerea* by antagonists applied after infection. *Australasian Plant Pathology* 30:165-170.
- Tarantino P, Caiazzo R, Carella A, Lahoz E. (2007) Control of *Rhizoctonia solani* in a tobacco-float using low rates of iprodione- and iprodione-resistant strains of *Gliocladium roseum*. *Crop Protection* 26:1298-1302.
- Valdebenito-Sanhueza RM, Sutton JC, Perazzolo I, Czeremainski ABC (1997) Controle Biológico de *Botrytis cinerea* em morangueiros cultivados em estufa. *Fitopatologia Brasileira* 22:69-73.
- Vero S, Mondino P (2002) Control biológico de enfermedades de plantas. In: Domingues A, Prieto R (Eds.) *Perfil Ambiental del Uruguay*. Montevideo. Nordan. pp. 81-97.
- Vida JB, Zambolim L, Tessmann DJ, Brandão Filho JUT, Verzignassi JR, Caixeta MP (2004) Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. *Fitopatologia Brasileira* 29:355-372.
- Yohalem DS, Kristensen K (2004) Optimization of timing and frequency of application of the antagonist *Ulocladium atrum* for management of gray mold in potted rose under high disease pressure. *Biological Control* 29:256-259.
- Yu H, Sutton JC (1999) Density dynamics of *Gliocladium roseum* in relation to biological control of *Botrytis cinerea* in red raspberry. *Canadian Journal of Plant Pathology* 21:23-32.
- Zamboni-Pinotti MM, Valdebenito-Sanhueza R, Silvaribeiro RT (2007) Avaliação do efeito antagônico de *Clonostachys rosea* a *Botrytis cinerea* em folhas destacadas de morangueiro, framboeseiro. *Revista Brasileira de Agroecologia* 2:41-45
- Zhang PG, Sutton JC, Tan W, Hopkin AA (1996) *Gliocladium roseum* reduces physiological changes associated with infection of black spruce seedlings by *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 18:7-13.

---

TPP 9029 - Recebido 5 Março 2009 - Aceito 29 Abril 2010  
Editor de Seção: John C. Sutton