



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA



LARA NUNES PASSOS

EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS QUÍMICOS ALTERNADOS COM *Bacillus subtilis* NO CONTROLE DO MOFO CINZENTO NO MORANGO

UBERLÂNDIA

2020

LARA NUNES PASSOS

EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS QUÍMICOS ALTERNADOS COM *Bacillus subtilis* NO CONTROLE DO MOFO CINZENTO NO MORANGO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do grau de Engenheira Agrônoma, do Curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti

UBERLÂNDIA

2020

LARA NUNES PASSOS

EFICIÊNCIA DE FUNGICIDAS QUÍMICOS ALTERNADOS COM *Bacillus subtilis* NO CONTROLE DO MOFO CINZENTO NO MORANGO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do grau de Engenheira Agrônoma, do Curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti

Membro da Banca

Membro da Banca

Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti
Orientador

AGRADECIMENTO

Primeiramente, quero agradecer a Deus pela vida e por todas as oportunidades que me trouxeram até aqui. E ainda por ter estudado na Universidade Federal de Uberlândia, tão prestigiada faculdade. Agradecer também por ter me fortalecido em todos os momentos para finalizar mais esta etapa de minha vida, e em breve me tornar Engenheira Agrônoma.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti, por me aceitar como sua orientada e me auxiliar nesse projeto. Agradeço também à empresa Juliagro que permitiu que eu acompanhasse o experimento realizado para fins acadêmicos, onde pude obter muito conhecimento.

Gostaria de agradecer a todos os professores que participaram desta minha caminhada, compartilhando todo o seu conhecimento e sabedoria.

Aos meus colegas de faculdade, agradeço pela partilha de conhecimento durante todo esse período, fortalecendo uns aos outros sempre, para que pudéssemos finalizar essa etapa com muito conhecimento e experiências compartilhados.

Por fim aos meus familiares e amigos, agradeço por me proporcionarem todo o apoio e suporte para que eu pudesse sempre seguir em frente em busca dos meus objetivos.

RESUMO

PASSOS, Lara Nunes. **Eficiência de fungicidas químicos alternados com *Bacillus subtilis* no controle do mofo cinzento no morango**. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

O cultivo de morangos no Brasil, atualmente, é uma atividade agrícola especializada que exige dedicação, conhecimentos, técnicos de alto nível e utilização de métodos modernos de manejo da cultura. Estima-se que a produção média anual é de 150 mil toneladas do fruto, que só tende a aumentar devido ao consumo crescente. Dentre as doenças da cultura do morangueiro, as que ocorrem no florescimento e no período pós-colheita acabam por depreciar de maneira significativa o produto comercializado. A podridão provocada por *Botrytis Cinerea* é a principal doença da pós-colheita do fruto do morangueiro, dessa forma surge grande importância de conhecer afundo sobre esse patógeno. Este trabalho objetivou-se na avaliação da eficiência de fungicidas para controle do mofo cinzento no morango. Os tratamentos utilizados foram: testemunha e mais sete tratamentos combinados de fungicidas químicos e microbiológicos. O experimento foi realizado em Uberlândia – MG, conduzido de Julho a Setembro/2019, em casa de vegetação e o delineamento experimental foi de blocos casualizados, com 8 tratamentos e 5 repetições, comparados por Scott-Knott a 5% de significância. Pode-se concluir que o tratamento utilizando fungicida microbiológico com *Bacillus subtilis* foi o que mais apresentou resultados satisfatórios para o controle do mofo cinzento.

Palavras chave: *Botrytis Cinerea*, *Fragaria* x ananassa Duch, Podridão cinzenta

ABSTRACT

The cultivation of strawberries in Brazil, today, is a specialized agricultural activity that requires dedication, knowledge, high-level technicians and the use of modern methods of crop management. It is estimated that the average annual production is 150 million tons of fruit, which will increase the decrease in increasing consumption. Among the diseases of the strawberry crop, such as those that occur without flowering and the post-harvest period ended up depreciating the significant way or the product marketed. The rot caused by *Botrytis Cinerea* is the main post-harvest disease of fruit, thus increasing the importance of knowing the background about this pathogen. This work aims to evaluate the efficiency of fungicides to control gray mold in strawberries. The controls used were: tests and seven more combined treatments of chemical and microbiological fungicides. The experiment was carried out in Uberlândia - MG, carried out from July to September / 2019, in a greenhouse and the experimental design was in randomized blocks, with 8 interventions and 5 repetitions, in comparison with Scott-Knott with 5% significance. It can be concluded that the treatment using the microbiological fungicide with *Bacillus subtilis* was the one that most showed satisfactory results for the control of gray mold.

Keywords: *Botrytis Cinerea*, *Fragaria x ananassa* Duch, Gray rot.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1. INTRODUÇÃO	8
2. MATERIAL E MÉTODOS	10
2.1. Instalação do ensaio	10
2.2. Implantação da cultura	10
2.3. Tratamentos	10
2.4. Delineamento experimental	11
2.5. Obtenção do inóculo e infestação	11
2.6. Aplicação de fungicidas	12
2.7. Metodologia de avaliação	12
2.8. Análise estatística	13
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4. CONCLUSÕES	20
REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, no Brasil, a área cultivada de morango é em torno de 4300 ha, com produção anual em torno de 150 mil toneladas do fruto (FAGHERAZZI *et al.*, 2017). O morangueiro é, dentro do grupo dos pequenos frutos, a espécie mais expressiva em área cultivada e volume de produção no Brasil.

O morango é um fruto de alta perecibilidade pós-colheita, característica natural da espécie, porém agravada por podridões, principalmente causadas por *Botrytis cinerea*. (BAUTISTA-BAÑOS *et al.*, 2003).

Para o controle destas doenças, as aplicações de fungicidas são feitas, na maioria das vezes, de maneira incorreta e excessiva, ocasionando problemas de contaminação, além de resistência de fungos a determinados princípios ativos (GHINI; KIMATI, 2002). Com isso, a intensa aplicação de fungicidas ocasiona problemas quanto ao residual de produtos nos frutos comercializados, portanto novos grupos químicos e com baixo impacto a saúde humana e ambiente devem ser desenvolvidos e pesquisados para o manejo complexo desta doença (LEGARD *et al.*, 2005)

Um dos grandes desafios relacionados à cultura do morango é o seu manejo, principalmente pela presença significativa de doenças fúngicas, associada ao reduzido número de produtos registrados. Destas doenças o mofo cinzento, causado pelo fungo *Botrytis cinerea*, destaca-se por acometer o morango desde o campo até a pós-colheita (SIMON *et al.*, 2005).

O patógeno *Botrytis cinerea* causa sérias perdas em mais de 200 espécies de culturas em todo o mundo. É mais destrutivo em tecidos maduros ou senescentes de hospedeiros dicotiledônios, mas geralmente obtém acesso a esses tecidos em um estágio muito inicial do desenvolvimento da cultura. Portanto, sérios danos são causados após a colheita de culturas aparentemente saudáveis e o subsequente transporte para mercados distantes onde as perdas se tornam mais evidentes (WILLIAMSON *et al.* 2007).

O fungo produz esclerócios irregulares e negros que são infrequentes em plantas de morangueiro, mas podem aparecer em pecíolos mortos e resíduos de cultivos subsequentes, plantas daninhas mortas ou mesmo em palhada (BRAUN; SUTTON, 1987). O fungo ocorre de maneira generalizada nas lavouras, com maiores danos onde se utilizam menores espaçamentos, excesso de adubação nitrogenada, irrigação por aspersão e onde o controle cultural é deficiente, como por exemplo, quando não é retirado folhas velhas, secas e doentes, assim como os frutos infectados presentes nas lavouras. A

incidência da doença aumenta após períodos de dois a três dias de chuvas finas e persistentes que antecedem a colheita e proporcionam alta umidade nas plantas (COSTA *et al.*, 2003)

Devido à importância mundial desse fungo e à disponibilidade de ferramentas genéticas moleculares para o estudo do organismo, ele se tornou o patógeno fúngico necrotrófico mais amplamente estudado. E embora existam fungicidas para seu controle, muitas classes deles falharam devido à sua plasticidade genética.

O estado de Minas Gerais é o maior produtor nacional de morangos, com cerca de 40 mil t.ano⁻¹, o equivalente a 40% da produção nacional, seguido por São Paulo com 29 mil t.ano⁻¹ e depois, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Espírito Santo e Rio de Janeiro, respectivamente (ANTUNES, 2010). Em Minas Gerais o mofo cinzento é a principal doença do morangueiro, responsável pelas maiores aplicações de fungicidas (COTA *et al.*, 2009). O uso de cultivares adaptadas para cada região constitui-se em importante fator para o sucesso na produção. A seleção dessas cultivares deve ser baseada na produtividade, resistência a pragas, aceitação no mercado e produção na entressafra, visando aumento na lucratividade (REBELO; BALARDIN, 1997).

Diante do exposto, este ensaio teve como objetivo de avaliar a eficiência de fungicidas no controle do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em aplicação foliar sequencial e seletividade na cultura do morango (*Fragaria × ananassa* Duch.).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Instalação do ensaio

O experimento foi instalado e conduzido em casa de vegetação, localizado na Estação Experimental Juliagro, na BR 365 KM 640, no município de Uberlândia - MG sob as coordenadas 18° 54' 0'' latitude (Sul) e 48° 25' 17'' longitude (Oeste), a 839 metros de altitude em relação ao nível do mar, em condições controladas de umidade e temperatura, em sacos de polietileno, com substrato composto e solo. A instalação do ensaio ocorreu na data da primeira aplicação dos tratamentos (22/07/2019), e sua finalização foi na data da última avaliação (02/09/2019). Cada parcela experimental foi composta por 2 mudas de morango contidas individualmente em sacos de polietileno.

2.2. Implantação da cultura

As mudas de morango da variedade Ventana de 40 dias, foram adquiridas do viveiro Flamboyant, localizado no município de Uberlândia-MG.

2.3. Tratamentos

Descritos na Tabela 1, estão os tratamentos os oito tratamentos utilizados, as doses, o número de aplicações e o intervalo de dias entre aplicações.

Tabela 1. Tratamentos, doses, número de aplicações e intervalo em dias.

Tratamentos		Dose (Lp.c/ha)*	Dose (gi.a/ha)**	Nº de aplicações/Intervalo
1.	Testemunha	-	-	-
2.	Boscalida	0,8	400	4 aplicações/7 dias
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	300	
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	300	
	Boscalida	0,8	400	
3.	Boscalida	0,8	400	4 aplicações/7 dias
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	300	
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5	55	
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5	55	
4.	Boscalida	0,8	400	4 aplicações/7 dias
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	300	
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0	222,5	
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0	222,5	

	Boscalida	0,8	400	
5.	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	300	4 aplicações/7 dias
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5	55	
	<i>Melaleuca alternifól</i>	1,0	222,5	
	Boscalida	0,8	400	
6.	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	300	4 aplicações/7 dias
	<i>Melaleuca alternifólia</i>	1,0	222,5	
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5	55	
	Boscalida	0,8	400	
7.	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	300	4 aplicações/7 dias
	<i>Bacillus subtilis</i>	2,0	27,36	
	<i>Bacillus subtilis</i>	2,0	27,36	
	Boscalida	0,8	400	
8.	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	300	4 aplicações/7 dias
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,0	250	
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,0	250	

*Dose (Litro de produto comercial/ hectare); ** Dose (gramas de ingrediente ativo/hectare)

2.4. Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados (DBC), composto por 8 tratamentos e 5 repetições. As parcelas experimentais possuíam 2 mudas, com 1 muda por saco.

2.5. Obtenção do inóculo e infestação

O inóculo foi obtido de frutos de morango e multiplicado em meio batata-dextrose-água (BDA), sob regime de luz contínua e temperatura de 20°C para obtenção de inóculo puro. Três discos de micélio com 9 mm de diâmetro foram transferidos, em ambiente asséptico e a massa obtida e por *Botrytis cinerea* foi triturado em multiprocessador, peneirado em malha de 0,180 mm e armazenado em saco plástico fechado. Antes da inoculação do ensaio, o inóculo foi semeado em BDA (2%), para avaliar sua viabilidade, analisando-se visualmente o crescimento micelial característico de *Botrytis cinerea* e posterior confirmação em microscópios de luz. A inoculação ocorreu anteriormente a aplicação dos tratamentos com a suspensão de 1×10^3 conídios/mL quantidade mínima requerida para pegamento do inóculo.

2.6. Aplicação dos fungicidas

Todos tratamentos com fungicidas consistiram em aplicação via foliar através de equipamento pressurizado CO₂. A primeira aplicação foi na data de 22/07/2019, as demais aplicações ocorreram em 29/07/2019, 05/08/2019 e 12/08/2019. Os dados climáticos foram coletados no início e fim de cada pulverização.

2.7. Metodologia de avaliação

Para avaliar a eficácia dos tratamentos no controle de *Botrytis cinerea* na cultura do morango, foram realizadas avaliações de incidência e severidade da doença. Foram executadas seis avaliações, nas datas 29/07/2019, 05/08/2019, 12/08/2019, 19/08/2019, 26/08/2019 e 02/09/2019. Dessa forma, para todas essas avaliações, determinou-se a severidade da doença por parcela. Para auxílio nas avaliações foi utilizado uma escala de 0 a 100% de severidade da doença, a qual 0% significa ausência de sintomas e 100% significa que toda a área do fruto estava acometida com a doença.

Foram também realizadas avaliações de fitotoxicidade, nas datas 29/07/2019, 05/08/2019, 12/08/2019, 19/08/2019, 26/08/2019 e 02/09/2019 utilizando escala de 0 a 100% de acordo com a escala de FRANS *et al.* (1986) descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Escala de fitotoxicidade segundo Frans *et al.*, 1986.

Escala	Injúrias
0%	Nenhuma
10%	Leve descoloração
20%	Alguma descoloração
30%	Pronunciada, porém não permanente descoloração
40%	Geralmente recupera-se
50%	Recuperação lenta
60%	Não recuperável
70%	Grandes perdas na densidade
80%	Planta quase destruída
90%	Sobrevivem algumas plantas
100%	Morte total da cultura

2.8. Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (Teste F) e quando detectado diferenças significativas foi realizado teste de média (Scott-Knott), a 5% de probabilidade, utilizando o aplicativo R (R CORE TEAM, 2017). e o pacote ExpDes.pt. Para o cálculo dos percentuais de eficácia empregou-se a fórmula de ABBOTT (1925).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos apresentaram resíduos com distribuição normal de acordo com o teste de Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias conforme o teste de Oneil Matthews. Na Tabela 3 encontram-se os dados médios de incidência do *Botrytis cinerea* que variaram de 27 a 68%, e área abaixo da curva de progresso (AACPD) da incidência. Pode-se observar diferenças estatísticas a 5% de significância apenas nas três primeiras avaliações, nos dias 29/07, 05/08 e 12/08, datas essas que coincidiram com as aplicações dos fungicidas, não ocorrendo posteriores aplicações. Os tratamentos 3, 5 e 7 se diferiram estatisticamente da testemunha apenas nessas três primeiras avaliações, não constando diferenças significativas dentre os tratamentos nas avaliações subsequentes, isto pode ter-se dado pelo fato de que os frutos acometidos já haviam secado e sido abortados pela planta, e a doença não teve progressão.

Observa-se que esses mesmos tratamentos obtiveram índices superiores no controle da incidência sobre a testemunha e os demais tratamentos. O tratamento 7 (Produtos comerciais + *Bacillus subtilis*) obteve o maior desempenho atingindo cerca de 62% de eficácia de controle da doença e AACPD de 880, resultado semelhantes ao de D'Agostino *et al.* (2009), que ao analisar a viabilidade comercial de produtos à base de *Bacillus pumilus* e *Bacillus subtilis*, concluíram que, mesmo sendo a maioria dos estudos *in vitro* e em casa de vegetação, os resultados obtidos são promissores com *Bacillus subtilis*, e segundo Amorim (2002), a bactéria foi mais ativa inibidora do crescimento micelial de *Phytophthora* no citros, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo.

Mahadtanapuk (2007), testando a ação de três espécies dos bacilos (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* e *Bacillus subtilis*) sobre a germinação de *Colletotrichum musae*, comprovou que, a partir de baixas concentrações as três espécies apresentaram um absoluto efeito inibitório sobre a germinação de conídios em comparação a testemunha.

Os resultados obtidos, indicam que os produtos à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus amyloliquefaciens* se mostraram promissores no controle dos fitopatógenos, pois reduziram a severidade do mofo cinzento. Sua formulação em meio líquido é considerada a principal vantagem destes produtos, uma vez que neste tipo de formulação são encontrados, além das células, os metabólitos produzidos por espécies do gênero *Bacillus*,

Tabela 3. Porcentagem média de incidência do mofo cinzento e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e eficácia de controle em Uberlândia - MG, 2019

	Tratamentos	Doses (Lp.c/ha)	29/07		05/08		12/08		19/08		26/08		02/09		AACPD	
			Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)
1.	Testemunha	-	41 a	-	48 a	-	53 a	-	54 ^{ns}	-	63 ^{ns}	-	68 ^{ns}	-	2319	-
2.	Boscalida	0,8	52 a	0	52 a	0	64 a	0	46 ^{ns}	14	49 ^{ns}	22	55 ^{ns}	19	1470	37
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
	Boscalida	0,8														
3.	Boscalida	0,8	28 b	31	28 b	41	29 b	45	38 ^{ns}	30	34 ^{ns}	45	47 ^{ns}	31	1394	40
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5														
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5														
4.	Boscalida	0,8	39 a	5	42 a	13	45 a	14	46 ^{ns}	14	43 ^{ns}	31	68 ^{ns}	0	2599	0
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0														
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0														
5.	Boscalida	0,8	29 b	30	35 b	27	51 a	2	53 ^{ns}	2	31 ^{ns}	50	35 ^{ns}	48	1181	49
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5														
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0														
6.	Boscalida	0,8	44 a	0	44 a	8	56 a	0	69 ^{ns}	0	51 ^{ns}	19	27 ^{ns}	61	998	51
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0														
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5														
7.	Boscalida	0,8	27 b	33	27 b	44	35 b	33	40 ^{ns}	27	41 ^{ns}	35	30 ^{ns}	56	880	62
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
	<i>Bacillus subtilis</i>	1,0														
	<i>Bacillus subtilis</i>	0,5														
8.	Boscalida	0,8	49 a	0	49 a	0	50 a	5	41 ^{ns}	24	42 ^{ns}	34	38 ^{ns}	43	1569	32
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,0														
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,0														
Coeficiente de Variação (%)			66,55		59,93		69,04		64,22		66,50		63,88		0,11	

Médias originais. Médias seguidas de mesma letra não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott a 5% de significância; E% - Porcentagem de eficácia; ^{ns} - Não significativo.

podendo ser responsável pela ação imediata destes produtos na inibição da germinação de esporos (KUMAR *et al.*, 2014).

É reconhecido na literatura que *Bacillus* spp. possui efeito antagônico a fitopatógenos (DALAL; KULKARNI, 2013) atribuído, principalmente, à produção de açúcares aminados e lipopeptídeos (ONGENA; JACQUES, 2008; CAWOY *et al.*, 2011; BETTIOL *et al.*, 2012) com capacidade de causar o rompimento de membranas celulares. Os metabólitos produzidos por *Bacillus* são considerados termicamente estáveis, possuem atividade em uma ampla faixa de pH (LI *et al.*, 2012) e efeito antimicrobiano duradouro na superfície foliar (WAGACHA *et al.*, 2007)

E, embora *Bacillus subtilis* seja citado como antagônico de sucesso no controle de várias doenças, Korsten *et al.* (1997), já verificaram que esse microrganismo pode ter ação negativa também, pois elevou a podridão em frutos de abacate em nível acima do controle quando aplicado em pré-colheita. Enquanto as bactérias *B. amyloliquefaciens* são mais eficientes no controle de doenças de pós-colheita pode ser verificada no trabalho de Arrebola *et al.* (2010), onde demonstraram que a aplicação de *B. amyloliquefaciens* (PPCB004) em frutos de laranja, 24 h antes ou depois da inoculação com os patógenos, apresentou controle diferenciado, variando com o patógeno. Corroborando com os resultados apresentados neste, juntamente com *Melaleuca alternifolia*

O tratamento número 6, obteve 51% de eficácia, onde foram utilizados 0,8; 1,0; 1,0 e 0,5 L p.c./ha de Boscalida Boscalida + Cresoxim metílico *Melaleuca alternifolia* e *Bacillus amyloliquefaciens* com AACPD de 998.

Resultados semelhante ao obtido por Lorenzetti *et al.* (2011), em um experimento utilizando extrato de *Melaleuca* (tratamento 6) e outros óleos essenciais para controle de *Botrytis cinerea* em morangos, obteve inibição de 59 a 80% crescimento micelial do fungo. Estudos realizados por Souza *et al.* (2015), demonstraram que foi aferida a eficiência no controle fúngico pelo óleo de *Melaleuca* ao usar diferentes concentrações do extrato para o controle da cercospora da beterraba.

Segundo Carson (2006) e seu colaboradores, em extensa revisão sobre as propriedades medicinais e antimicrobiana de *Melaleuca alternifolia*, a alteração da permeabilidade da membrana, é um dos principais mecanismos de ação antifúngica e antimicrobiana, (HAMMER *et al.*, 2004), sendo tanto a membrana plasmática como a mitocondrial, severamente afetadas (COTMORE *et al.*, 1979). A produção de energia pode ser afetada, uma vez que ocorre a inibição da respiração mitocondrial (COTMORE *et al.*, 1979; COX *et al.*, 2000). A possibilidade é que a *Melaleuca* atue diretamente em

enzimas respiratórias (COX *et al.*, 2000). Outros estudos apontam a formação do tubo germinativo, ou a conversão micelial é inibida (HILLEN *et al.*, 2000; D'AURIA *et al.*, 2001) afetando dessa forma o desenvolvimento e o crescimento do fungo, fazendo com que o uso de *Melaleuca* venha contribuir para uma alternativa aos produtos químicos.

Na Tabela 4 encontram-se as médias de severidade do mofo cinzento, a área abaixo da curva de progresso da doença e a eficácia de controle em casa de vegetação, é possível observar que nas 6 datas de avaliação, os 8 tratamentos utilizados, não se diferiram estatisticamente da testemunha.

Apesar de nenhum tratamento ter se diferido estatisticamente da testemunha, o tratamento 7 obteve maior porcentagem de eficácia e a menor AACPD dentre os demais tratamentos, demonstrando melhor controle da severidade, seguido do tratamento 6.

Resultados semelhantes encontrados por Costa *et al.* (2007), verificaram que o tratamento com *Bacillus subtilis* (tratamento 7) reduziu a severidade da ferrugem em mais de 90% em relação à testemunha em um experimento feito com café em casa de vegetação. E de acordo com Oliveira *et al.* (2006) em um experimento de controle da mancha aquosa em sementes pré inoculadas de curcubitáceas, *Bacillus subtilis* (tratamento 7) reduziu a severidade da doença e foi recomendado para o tratamento de sementes infectadas, isoladamente ou em combinação com outros agentes de controle.

Na Tabela 5, encontram-se dados médios de fitotoxicidade e número de frutos médios por tratamento, os resultados não se diferiram estatisticamente entre si, comprovando que para as avaliações de fitotoxicidade não foram observados sinais de dano ao tecido vegetal, indicando que os tratamentos não apresentaram potencial tóxico para o morango.

É de vital importância o direcionamento de estudos que tenham como finalidade o desenvolvimento de medidas de controle que minimizem o uso de agrotóxicos, adequando-se às normas de controle ambiental, qualidade do produto e qualificação dos trabalhadores envolvidos na cadeia produtiva.

A partir do levantamento apresentado e da análise de eficiência e vantagens, observa-se que o uso de *Bacillus* é promissor, tanto devido ao desempenho das bactérias em controlar fitopatógenos quanto à sua aceitação pelos agricultores brasileiros que procuram novas alternativas para o manejo de doenças, mais seguras ao ambiente e à saúde humana.

Tabela 4. Porcentagem média de severidade do mofo cinzento, área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e eficácia de controle em Uberlândia – MG, 2019

	Tratamentos	Doses (Lp.c/ha)	29/07		05/08		12/08		19/08		26/08		02/09		AACPD	
			Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)
1.	Testemunha	-	20 ^{ns}	-	36 ^{ns}	-	48 ^{ns}	-	60 ^{ns}	-	68 ^{ns}	-	69 ^{ns}	-	1790	-
2.	Boscalida	0,8														
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	13 ^{ns}	38	18 ^{ns}	50	35 ^{ns}	27	36 ^{ns}	41	37 ^{ns}	46	41 ^{ns}	41	1060	40
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0														
3.	Boscalida	0,8														
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	14 ^{ns}	32	20 ^{ns}	44	30 ^{ns}	38	33 ^{ns}	46	40 ^{ns}	41	49 ^{ns}	29	1073	40
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5														
4.	<i>Bacillus Amyloliquefaciens</i>	0,5														
	Boscalida	0,8														
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	29 ^{ns}	0	47 ^{ns}	0	63 ^{ns}	0	71 ^{ns}	0	75 ^{ns}	0	77 ^{ns}	0	2157	0
5.	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0														
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0														
	Boscalida	0,8														
6.	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	14 ^{ns}	31	23 ^{ns}	35	32 ^{ns}	34	34 ^{ns}	44	38 ^{ns}	43	39 ^{ns}	43	1069	40
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5														
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0														
7.	Boscalida	0,8														
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	11 ^{ns}	48	15 ^{ns}	59	16 ^{ns}	68	23 ^{ns}	62	28 ^{ns}	59	28 ^{ns}	59	730	59
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0														
8.	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5														
	Boscalida	0,8														
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	8 ^{ns}	59	15 ^{ns}	69	18 ^{ns}	63	25 ^{ns}	59	29 ^{ns}	58	29 ^{ns}	59	698	62
9.	<i>Bacillus subtilis</i>	1,0														
	<i>Bacillus subtilis</i>	0,5														
	Boscalida	0,8														
10.	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	20 ^{ns}	2	27 ^{ns}	24	35 ^{ns}	28	35 ^{ns}	42	36 ^{ns}	47	39 ^{ns}	44	1126	37
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,0														
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,0														
Coeficiente de Variação (%)			99,74		84,65		65,98		65,81		63,92		61,76		63,88	

Médias originais. Médias seguidas de mesma letra não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott a 5% de significância; E% - Porcentagem de eficácia; ^{NS} - Não significativo.

Tabela 5. Dados médios de fitotoxicidade e número de frutos médios por tratamento em Uberlândia - MG, 2019

	Tratamentos	Doses (Lp.c/ha)	29/07		05/08		12/08		19/08		26/08		02/09		AACPD
			Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média	E(%)	Média
1.	Testemunha	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1,35 ^{ns}
2.	Boscalida	0,8													
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0													
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2,60 ^{ns}
	Boscalida	0,8													
3.	Boscalida	0,8													
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2,68 ^{ns}
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5													
	<i>Bacillus Amyloliquefaciens</i>	0,5													
4.	Boscalida	0,8													
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	3,50 ^{ns}
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0													
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0													
5.	Boscalida	0,8													
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	3,00 ^{ns}
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5													
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0													
6.	Boscalida	0,8													
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	3,20 ^{ns}
	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1,0													
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,5													
7.	Boscalida	0,8													
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2,70 ^{ns}
	<i>Bacillus subtilis</i>	1,0													
	<i>Bacillus subtilis</i>	0,5													
8.	Boscalida	0,8													
	Boscalida + Cresoxim metílico	1,0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	2,20 ^{ns}
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,0													
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1,0													
Coeficiente de Variação (%)			-		-		-		-		-		-		57,29

Médias originais. Médias seguidas de mesma letra não se diferem estatisticamente pelo teste de Scott Knott a 5% de significância; E% - Porcentagem de eficácia; ^{ns} - Não significativo.

4. CONCLUSÕES

A bactéria *Bacillus subtilis* com efeito fungistático aumenta a eficiência de fungicidas no controle do mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em aplicação foliar sequencial com eficácia de 62% e AACPD 880, também obtendo resultado satisfatório o tratamento com *Bacillus amyloliquefaciens* e *Melaleuca alternifolia* com eficácia de 51% e AACPD 998.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v.18, p.265-267, 1925.
- AMORIM, E. P. da R.; MELO, I. S. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora*. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24: 565-568. 2002.
- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J. Sistema de produção do morango. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/index.htm>>. Acesso em: 10 de junho 2016.
- ARREBOLA, E.; JACOBS, R.; KORSTEN, L. Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens. ***Journal of Applied Microbiology***, Oxford, v. 108, n. 2, p. 386-395, 2010.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; GARCÍA, E.; BARRERA, L.; REYES, N.; WILSON, C. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v.29, p.81-92, 2003.
- BETTIOL, W.; GHINI, R. Controle Biológico. In: BERGAMIN, A. F.; KIMATI, H.; AMORIN, L. Manual de Fitopatologia. Princípios e Conceitos. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.717-728.
- BETTIOL, W., MORANDI, M.A.B., PINTO, V.Z., PAULA JUNIOR, T.J., CORRÊA, E.D., MOURA, A .B., LUCON, C.M.M., COSTA, J.C.B., BEZERRA, J. L. Produtos comerciais a base de agentes de biocontrole de doenças de plantas. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**. 155 p. 2012.
- 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, p.1- 5, 1987.
- BRAUN, P. G.; SUTTON, J. C. Infection cycles and population dynamics of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Canadian Journal of Plant Pathology*. v.10, p. 133-141, 1988.
- CARSON, C.F.; HAMMER, K.; RILEY, T.V. Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. ***Clinical Microbiology Reviews***, v. 19, n. 1, p. 50–62, 2006.
- COTMORE, J. M. *et al.*, Respiratory inhibition of isolated rat liver mitochondria by eugenol. ***Archives of Oral Biology***, v.24, p.565–568, 1979.

COX, S.D.; MANN, C.M.; MARKHAM, J.L.; BELL, H.C.; GUSTAFSON, J.E.; WARMINGTON, J.R.; WYLLIE, S.G. The mode of antimicrobial action of the essential oil *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.170-175, 2000.

CAWOY, H., BETTIOL, W., FICKERS, P., ONGENA M. Bacillus-Based biological control of plant diseases. In: Stoytcheva M. Pesticides in the Modern World - 33 **Pesticides Use and Management**, ISBN 978-953-307-459-7, DOI: 10.5772/17184. 34 P.273-302. 2011

COSTA, M. J. N.; ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F.A. Avaliação de produtos alternativos no controle da ferrugem do cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 32: 150-155. 2007.

COTA, L. V.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G; MACEDO, P. E. F. Biological control by *Clonostachys rosea* as a key component in the integrated management of strawberry gray mold. *Biological Control*, v. 50, p. 222-230, 2009.

COSTA, H.; ZAMBONI, L.; VENTURA, J. A. Manejo Integrado das Doenças do Morangueiro. In: ZAMBONI, L. (Ed.). *Produção Integrada Fruteiras Tropicais*, Viçosa, 2003, p.131-164.

D'AGOSTINO, F.; MORANDI, M. A. B. Análise da viabilidade comercial de produtos à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* para controle de fitopatógenos no Brasil. In: BERTTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. *Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas*. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2009. v. 1, cap. 22, p. 299–316

D'AURIA, F.D, LAINO, L.; STRIPPOLI, V.; TECCA, M.; SALVATORE, G.; BATTINELLI, L.; MAZZANTI, G. In vitro activity of tea tree oil against *Candida albicans* mycelial conversion and other pathogenic fungi. **Journal of Chemotherapy**, v.13, p.377–383, 2001.

DALAL, J.; KULKARNI, N. Antagonistic and plant growth promoting potentials of indigenous endophytic bacteria of soybean [*Glycine max* (L) Merrill]. *Curr. Res. Microbiol. Biotechnol.* 1, 62-69. 2013

FAGHERAZZI, A. F.; GRIMALDI, F.; KRETZSCHMAR, A. A.; MOLINA, A. R.; GONÇALVES, M. A.; ANTUNES, L. E.C.; BARUZZI, G.; RUFATO, L. Strawberry production progress in Brazil. *Acta Horticulturae*, v. 1156, p. 937–940, 2017.

FERREIRA, E. Batista.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. (2018). *ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs* (Portuguese). R package version 1.2.0. <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>

FRANS, R. E.; *et al.* Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. *South. Weed Sci. Soc., Campaign* v.3.p.29-46, 1986.

- GALLETTA, G. J.; BRINGHURST, R. S. Strawberry management. In: GALLETTA, G. J.; HIMELRICK, D. G. (Ed.). Small fruit crop management. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1990, p.83-156.
- GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2002. 78 p. Lorenzetti, E.R. *et al.* **Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro.** *Rev. bras. plantas med.*, 2011, vol.13, no.spe, p.619-627. ISSN 1516-0572
- HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antifungal effects of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.53, p.1081-1085, 2004.
- HELBIG, J. Biological Control of *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. in Strawberry by *Paenibacillus polymyxa* (Isolate 18191). *Journal of Phytopathology*, Berlim, v.149, p.265-273, 2001.
- HERNANDEZ-MUNOZ, P.; ALMENAR, E.; DEL VALLE, V.; VELEZ, D.; GALVARA, R. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage *Food Chemistry* v.110, p. 428–435, 2008.
- HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; MESQUINI, R.M.; CRUZ, M.E.S.; STANGARLIN, J.R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.3, p.439-445, 2012.
- KORSTEN, L.; DE VILLIERS, E. E.; WEHNER, F. C.; KOTZÉ, J. M. Field sprays of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvest fruit diseases of avocado in South Africa. *Plant Disease*, St. Paul, v.81, p.455-459, 1997.
- KUMAR, Y., SINGH, P.K., SING A.K., MASH, H., PETER, J.K., RATH., S. Production optimization of alpha amylase from *Bacillus altitudinis*. **Int. J. Sci. Engin. Tech. Res.** 3, 564-573. 2014
- LEGARD, D. E.; MACKENZIE, S. J.; MERTELY, J. C.; CHANDLER, C. K.; PERES, N. A. Development of a reduced use fungicide program for control of *Botrytis* fruit rot on annual winter strawberry. *Plant Disease* v. 89, 1353–1358, 2005.
- LI, H.; WANG, X.; HAN, M.; ZHAO, Z.; WANG, M.; TANG, Q.; LIU, C.; KEMP, B.; GU, Y.; SHUANG, J.; XUE, Y. Endophytic *Bacillus subtilis* ZZ120 and its potential application in control of replant diseases. **Afric. J. Biotech.** 231-242. 2012
- LORENZETTI, E. R. *et al.* Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. v.13, n.3, p.619-627, 2012.

MAAS, J. L. (Ed.) Compendium of strawberry diseases. 2a ed., St. Paul: The American Phytopathological Society, 1998, 98p.

MAHADTANAPUK, S.; YU, L. D.; CUTLER, R.; VILAITHONG, T.; ANUNTALA-T BHOCHAR, S. Mutation of *Bacillus licheniformis* using low-energy ion beam bombardment. **Surface Coatings Technology**, Tailândia, v.201, p. 8028-8033.2007.

MYRESIOTIS, C.K.; KARAOGLANIDIS, G.S.; TZAVELLA-KLONARI, K. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilino-pyrimidine, phenylpyrrole, hydroxyanilide, benzimidazole, and dicarboximide fungicides. *Plant Disease*, v.91, n.4, p. 407–13, 2007.

OLIVEIRA, A.; SANTOS, M. H. M.; SILVEIRA, E. B.; GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R. Biocontrole da mancha-aquosa do melão pelo tratamento de sementes com bactérias epifíticas e endofíticas. *Horticultura Brasileira* 24: 373-377. 2006.

ONGENA, M.; JACQUES, P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 16, 115-125. 2008

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>

REBELO, J. A.; BALARDIN, R. S. A. 1997. Cultura do morangueiro. 3a edição. Florianópolis: EPAGRI. 44 p. (Boletim Técnico 46).

ROSSENLEBROICH, H. J.; STUEBLER, D. *Botrytis cinerea* - history of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop Protection* v. 19, p. 557-561, 2000.

SIMON, N.; MENEGUZZO, A.; CALGARO, A. Doenças causadas por fungos e bactérias In: SANHUEZA, R.M.V.; HOFFMANN, H.; ANTUNES, L.E.C.; FREIRE, J. M. Sistema de produção de morango para mesa na região da serra gaúcha e encosta superior do Nordeste. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. (Sistema de Produção, 6). Disponível em:<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MesaSerraGaucha/inedex.htm>>. Acesso em:10 de junho de 2017.

SOUZA, A. D.; ROGGERIO, T. U.; FURLAN, M. R.; AOYAMA, E. M. Óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betcher, Cheele) no controle de cercosporiose em beterraba. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.17, n.4, supl. III, p.1078-1082, 2015.

SUTTON, J. C., PENG, G. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Phytopathology* 83, 615–621, 1993.

TANAKA, M. A. S.; BETTI, J. A.; KIMATI, H. Doenças do morangueiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 489-499.

UENO, B. Manejo Integrado de Doenças do Morango. In: In: Simpósio Nacional do Morango, 2.; Encontro de Pequenas Frutas e Frutas Nativas, 1., 2004, Pelotas, Anais... Pelotas: EMBRAPA, 2004, p. 70-6.

WAGACHA, J. M., MUTHOMI, J. W., MUTITU, E. W., MWAURA, F. B. Control of bean 2 rust using antibiotics produced by *Bacillus* and *Streptomyces* species-translocation 3 and persistence in snap beans. **J. Appl. Sci. Environ. Manag.**11, 165 - 168. 2007.

WILLIAMSON, B.; TUDZYNSKI, B.; TUDZYNSKI, P.; VAN KAN, J. A. L. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology* v.8, 561–580, 2007.