



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CERRO LARGO
CURSO DE AGRONOMIA

TAUANI FONTANI BACK

REDUÇÃO DE CRESCIMENTO MICELIAL IN VITRO NO CONTROLE DE
***Monilinia fructicola* (Wint) Honey**

CERRO LARGO – RS
2021

TAUANI FONTANI BACK

REDUÇÃO DE CRESCIMENTO MICELIAL IN VITRO NO CONTROLE DE
Monilinia fructicola (Wint) Honey

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como
requisito para obtenção do título de bacharel em
Agronomia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Juliane Ludwig.

CERRO LARGO - RS
2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Back, Tauani Fontani
Redução de crescimento micelial in vitro no controle
de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey / Tauani Fontani
Back. -- 2021.
36 f.:il.

Orientadora: Dr. Juliane Ludwig

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Cerro Largo, RS, 2021.

1. *Monilinia fructicola*. 2. Pêssego. 3. Podridão
parda. 4. Procariotos. 5. Controle biológico. I. Ludwig,
Juliane, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título.

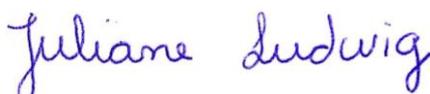
TAUANI FONTANI BACK

**REDUÇÃO DE CRESCIMENTO MICELIAL IN VITRO NO CONTROLE DE
Monilinia fructicola (Wint) Honey**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de bacharel em Agronomia.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 30/04/2021.

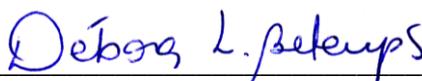
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Juliane Ludwig – UFFS
Orientadora



Prof. Dr. Sidinei Zwicks Radons – UFFS
Avaliador



Prof.^a Dr.^a Debora Leitzke Betemps – UFFS
Avaliadora

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir viver esta vida, concluir o curso e realizar este trabalho em uma área que eu gosto muito e admiro. A todas as pessoas que estiveram comigo me incentivando nos momentos difíceis, me dando todo o auxílio necessário para que eu conseguisse cumprir com meus objetivos.

A minha família, especialmente aos meus pais Marcia Machado Fontani e César Jandir Back, irmãos Thalys Matheus Fontani Back e Ana Vitória Fontani Oliveira, minha tia Darlene Fontani e avó Rosângela Maria de Souza Machado, por toda compreensão, carinho, paciência, auxílio financeiro e emocional.

A orientadora, Drz. Juliane Ludwig, pela confiança e incentivo prestados durante a graduação e realização deste trabalho, e por abrir as portas da pesquisa para mim.

Aos vários colegas que é impossível escrever o nome de todos, sou muito grata, por cinco anos foram família enquanto estávamos longe de casa, nos ajudando mutuamente, incentivando, apoiando e conseguindo superar todas as dificuldades.

Em especial também aos voluntários que foram de suma importância para que esse trabalho se concretizasse, Thaila Moreira de Oliveira, Milene Gonzales e Guilherme Lubeck, sempre dispostos a me ajudar no que fosse necessário, não medindo esforços quanto a horários e serviços prestados.

Meu muito obrigado a todos vocês!

RESUMO

O pêssego é uma das principais fruteiras de caroço com interesse comercial no nosso país. É um fruto extremamente perecível e exige muitos cuidados na pós colheita uma vez que qualquer ferimento pode ser uma porta de entrada para patógenos. A podridão parda causada por *Monilinia fructicola* é uma doença extremamente severa pois o fungo possui alta capacidade de infecção e como consequência, elevada perda no transporte dos frutos. Após a infecção ser estabelecida, as hifas do patógeno se espalham pelos tecidos e provocam sintomas característicos da doença como amolecimento e escurecimento da fruta. Para a redução das perdas dessa doença, o controle químico é o mais utilizado atualmente. Em virtude dos danos causados, dificuldades de controle e toxicidade dos produtos químicos utilizados no controle da mancha parda, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial de isolados procariotos pré selecionados, no biocontrole *in vitro* do fungo *Monilinia fructicola*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo/RS, utilizando cinco isolados bacterianos com potencial para o biocontrole (B01, B16, B27, RD34 e B82) e o fungo fitopatogênico *M. fructicola*. Para avaliar o potencial de biocontrole, foi utilizado o método de pareamento de culturas e avaliados o crescimento micelial e a porcentagem de inibição do crescimento micelial do patógeno. Foi possível observar que nenhum dos isolados proporcionou efeitos significativos no biocontrole de *M. fructicola* mediante as variáveis avaliadas.

Palavras-chave: Controle biológico. Pêssego. Podridão parda.

ABSTRACT

Peach is one of the main stone fruit trees with commercial interest in our country. It is an extremely perishable fruit and requires a lot of care in postharvest period since any injury can be a gateway for pathogens. Brown rot caused by *Monilinia fructicola* is an extremely severe disease because the fungus has a high capacity for infection and, as a consequence, a high economic loss in fruit transport. After the infection is established, the pathogen hyphae spread through the tissues and cause characteristic disease symptoms such as softening and darkening of the fruit. In order to reduce losses from this disease, chemical control is the most used today. Due to the damage caused, difficulties in control and toxicity of the chemicals used to handle the brown spot, the purpose of the present study was to evaluate the potential of pre-selected prokaryotic isolates in the in vitro biocontrol of the fungus *Monilinia fructicola*. The experiment was conducted at the Phytopathology Laboratory of the Federal University of Fronteira Sul, campus Cerro Largo / RS, using five bacterial isolates with potential for biocontrol (B01, B16, B27, RD34 and B82) and the phytopathogenic fungus *M. fructicola*. Towards assessing biocontrol potential, the method of culture pairing was used and mycelial growth and the percentage of inhibition of mycelial growth of the pathogen were evaluated. It was possible to observe that none of the isolates provided significant effects on the biocontrol of *M. fructicola* through the evaluated variables.

Key-words: Biological control. Peach. Brown rot.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	FRUTEIRAS DE CAROÇO	11
2.2	O GÊNERO <i>Monilinia</i>	11
2.2.1	Etiologia de <i>Monilinia fructicola</i>	12
2.2.3	Condições predisponentes para a doença	13
2.2.4	Epidemiologia	14
2.3.1	Controle cultural	15
2.3.2	Controle genético	16
2.3.4	Controle físico	16
2.3.5	Controle químico	17
2.3.6	Controle alternativo	18
2.3.7	Controle biológico	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	ISOLAMENTO DE <i>Monilinia fructicola</i>	22
3.2	ISOLADOS DE PROCARIOTOS	23
3.3	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTAGONISTA DE PROCARIOTOS EM <i>Monilinia fructicola</i>	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5	CONCLUSÃO	29
	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

As fruteiras de caroço apresentaram uma expansão na produção e no consumo em nosso país nos últimos anos, sendo que a produção dessas frutas é de alta rentabilidade, constituindo-se em uma boa alternativa, não apenas para pequenos produtores. O pêssego *Prunus persica* (L.) Batsch é uma fruta muito apreciada em âmbito mundial, principalmente pelo sabor e pela aparência, e, das fruteiras de caroço, é a que possui maior expressão econômica. Entretanto, é uma fruta muito perecível, dependente de inseticidas para o controle das principais pragas, além de fungicidas para controlar algumas doenças (ZANETTE; BIASI, 2004).

Entre os patógenos relatados na cultura, destaca-se *Monilinia fructicola* (Wint) Honey, agente causador da podridão parda do pêssego, cujo sintoma típico observado são os frutos de pêssego cobertos pelas frutificações do fungo, que são de coloração acinzentada (GARRIDO; SÔNEGO, 2003). Na fase assexuada, os conídios de *M. fructicola* são formados em cancos de ramos e em frutos mumificados, sendo considerados inóculo primário da doença podridão parda. A penetração do fungo na planta ocorre pelos órgãos florais e os conídios podem ser dispersos pelo vento, água, insetos e podem penetrar pela cutícula, por aberturas naturais ou ferimentos, colonizando o tecido de forma intercelular e intracelular formando micélio (BLEICHER, 1997).

Por ser uma doença altamente destrutiva, é controlada principalmente por fungicidas a base de moléculas químicas que, se mal utilizados, podem causar a resistência do patógeno e com isso a inutilização da molécula, além da poluição ambiental e do residual em frutas. Por esse motivo, buscam-se outras alternativas, além do controle químico, para a redução dessa doença. (HOU et al., 2010)

Estudos com métodos alternativos vêm sendo realizados visando o controle de vários fitopatógenos, incluindo *M. fructicola*. Na busca por métodos de controle que substituam ou que auxiliem o controle químico no manejo eficiente da podridão parda, reduzam os custos de produção, diminuam o impacto ambiental e aumentem a segurança alimentar, destaca-se o uso de microrganismos antagonistas para controle de fungos fitopatogênicos (STROBEL, 2006). O controle biológico de doenças apresenta uma série de vantagens em relação ao controle químico, pois não contamina e nem deixa resíduos nos alimentos, além de ser uma alternativa barata e de fácil aplicação (SOARES, 2006).

Neste sentido, devido às grandes perdas econômicas causadas pela podridão parda em pêssego e a busca por frutos com menos resíduos de agrotóxicos, o objetivo deste trabalho

foi avaliar o potencial de isolados procariotos pré selecionados, no biocontrole *in vitro* do fungo *Monilinia fructicola*, agente causal da mancha parda em pêsego.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FRUTEIRAS DE CAROÇO

A ameixa, a nectarina e o pêssego são as principais frutas de caroço de clima temperado com interesse comercial no Brasil e se adaptaram de forma adequada na região Sul do país devido a baixa temperatura (BIASI et al., 2004).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), referentes à safra de 2017, o Brasil produziu 248,5 mil toneladas de pêssegos, que foram provenientes de 17,1 mil hectares cultivados. Com relação à ameixeira, não existem dados oficiais sobre área cultivada e produção, entretanto, estima-se que sejam cultivados algo em torno de 3,5 mil hectares. (MAYER; FRANZON; RASEIRA, 2019)

O pêssegueiro é da família Rosaceae, subfamília Prunoideae, gênero *Prunus* (L.), e sub-gênero *Amygdalus* e as cultivares comerciais pertencem à espécie *Prunus persica* (L.) Batsch. (MEDEIROS; RASEIRA, 1998 apud PAULUS, p.15, 2019). O pêssegueiro é uma planta de característica perene. Se não houver poda pode chegar até 10 metros de altura, as raízes são pivotantes, o fruto é uma drupa carnosa e a cor varia de amarelo a laranja dependendo da cultivar utilizada (FORTES 2003, apud FLORES 2003 p. 17).

Quanto à produção de pêssegos, o estado do Rio Grande do Sul se destaca com 73% da área total brasileira e 69% da produção nacional. Os cinco municípios com as maiores áreas cultivadas com o pêssegueiro são gaúchos – Pelotas (3.150 ha), Canguçu (2.100 ha), Pinto Bandeira (1.090 ha), Farroupilha (620 ha) e Morro Redondo (600 ha) –, os quais, juntos, representam 44% da área brasileira cultivada com essa espécie frutífera. No estado, também se localizam as principais áreas produtoras de pêssego de mesa (Serra Gaúcha) e pêssego para industrialização (região de Pelotas), além do maior parque industrial de processamento (região de Pelotas) e do principal programa de melhoramento genético do País, o qual se encontra em andamento na Embrapa Clima Temperado (MAYER; FRANZON; RASEIRA, 2019).

É um fruto muito perecível e exige muitos cuidados pós colheita, qualquer ferimento pode ser uma porta de entrada para alguns patógenos, dentre os quais se destaca *Monilinia fructicola*, por esse motivo há dificuldade no transporte a longas distâncias e grandes perdas na produção (MADAIL et al., 2014).

2.2 O GÊNERO *Monilinia*

O gênero *Monilinia* pertence à classe dos Ascomicetos e à ordem Helotiales, produzem escleródios que permitem a sua sobrevivência a baixas temperaturas. Após germinar, formam apotécios, típicos da ordem, que produzem ascos. Os ascósporos são disseminados pelo vento, constituindo-se no inoculo primário da doença. Infecções secundárias ocorrem através dos conídios produzidos pela fase assexuada. (KRUGNER; BACCHI, 1995).

Os fungos deste gênero que possuem reprodução assexuada recebem o nome de *Monilinia*, sendo bastante difícil realizar a identificação de suas espécies pois os conídios de todas as espécies de *Monilinia* são limoliformes e hialinos, produzidos em cadeia, apenas diferindo no tamanho dos esporos. Embora a variação intraespecífica seja grande, os fungos podem possuir características que não estão presentes em todas as espécies. (OGAWA et al., 1995 apud ANGELI 2008, p 14).

Segundo Lane, (2002 apud CASARIM, 2007, p 13) dentro deste gênero, encontram-se três espécies de fungos que originalmente causam a podridão parda *Monilinia fructicola* (Wint)Honey, *Monilinia laxa* (Aderh. e Ruhl.) Honey e *Monilinia fructigena* (Aderh. e Ruhl.) Honey, entretanto, sua ocorrência se dá em hospedeiros diferentes. *M.fructicola* ocorre constantemente em nectarinas e pêssegos, *M.laxa* em amêndoas e damasco e *M. fructigena* afeta maçãs e peras. Os fungos dessas espécies não afetam somente esses frutos, mas uma extensa variedade de espécies.

Essas espécies de fungos estão distribuídas em regiões com produção de rosáceas de caroço no mundo todo. Segundo Souza (2008), no Brasil foi encontrado *M. laxa* causando podridão parda em pêssegos, mas a espécie que mais acomete o fruto no Brasil é a *M. fructicola*, em todas as regiões produtoras (MAY-DE-MYO et al., 2008).

Para diferenciar a podridão parda causada pelo fungo *M.fructicola* de outras doenças dos frutos de caroço, basta analisar a presença de conídios. Além disso, uma substância gomosa emana dos cancrios e faz com que as flores infectadas fiquem aderidas ao galho. (RITCHIE, 2000).

2.2.1 Etiologia de *Monilinia fructicola*

O patógeno *Monilinia fructicola*, pertence à classe dos Ascomicetos e forma apotécios com ascos cilíndricos e ascósporos hialinos, elípticos de 6 a 15mm x 4 a 8mm. Segundo Bleicher (1997), o fungo pode produzir escleródios bem desenvolvidos que são determinantes para a sua sobrevivência no inverno. No entanto, o clima do Brasil não

proporciona condições apropriadas para o desenvolvimento da fase perfeita do patógeno, pois ele precisa de um período de incubação dos frutos mumificados a baixa temperatura do ar, em torno de 15 °C, para dar início a formação dos apotécios (BYRDE; WILLETS, 1977 apud PAVANELLO 2016, p 31).

Na fase assexuada, os conídios de *M. fructicola* são limoniformes, elípticos, medindo de 15 a 25 x 8 a 14mm e são formados em cancos de ramos e em frutos mumificados, sendo considerados inóculo primário da doença podridão parda. A penetração do fungo na planta ocorre pelos órgãos florais e os conídios podem ser dispersos pelo vento, água, insetos e podem penetrar pela cutícula, por aberturas naturais ou ferimentos, colonizando o tecido de forma intercelular e intracelular formando micélio (BLEICHER, 1997). Assim, com a penetração do patógeno nos tecidos vegetais via ferimentos, tais como amassamentos e rupturas comuns durante a colheita e pós-colheita, inicia-se o processo de patogênese (SOUZA et al., 1999).

2.2.2 Hospedeiros do *Monilinia*

Conforme já descrito anteriormente, o patógeno causa a podridão parda que é uma doença extremamente destrutiva, principalmente em frutos de caroço. A doença pode matar flores, apodrecer frutos maduros, ainda na planta ou após a colheita, pode ocorrer também em folhas e brotos. A severidade da doença é determinada pelo clima, principalmente em anos com altas precipitações pluviométricas EPPO (2009 apud GARRIDO, 2016)

O dano ocorre principalmente nos frutos próximos a maturação, onde pêsego, ameixa, damasco, nêspera e nectarina são muito suscetíveis, raramente causando problemas sérios em pereira e macieira (AGROFIT).

2.2.3 Condições predisponentes para a doença

Segundo Bassetto et al., (2007) as doenças que ocorrem pós-colheita se dividem em dois grupos, as que ocorrem por meio de infecção em ferimentos, e as pós-colheita quiescentes, que podem ocorrer ainda no campo e na floração e podem permanecer sem se manifestar durante todo o desenvolvimento do fruto no pomar. Devido ao teor alto de água no pêsego ele é suscetível aos dois grupos, por isso é um hospedeiro predisponente para a doença.

Surtos de podridão parda ocorrem em locais com alta umidade em épocas de muita pluviosidade. A temperatura do ar ótima para o crescimento do fungo é de 25° e para ocorrer

a infecção é necessário um período de 18 horas com temperatura a 10°C ou de 5 horas a 25°C (BLEICHER, 1997). As regiões que se destacam em produção de pêssegos são o Sul e o Sudeste do Brasil, e conseqüentemente são as regiões que possuem uma maior incidência de pluviosidade, alta umidade e altas temperaturas, fatores esses, que predispõem a sobrevivência do patógeno (FLORES, 2013).

Estudos realizados indicam que em pós-colheita, frutos desinfestados de duas cultivares de pêssego que foram mantidos sob condições de temperatura ambiente apresentaram incidência menor do patógeno. Este resultado indica que contaminações que ocorrem após a colheita do fruto no transporte e armazenamento contribuem para os sintomas da doença se manifestarem (NEGRI, et al., 2011).

2.2.4 Epidemiologia

A produção de inóculo primário se dá por micélio em frutos mumificados e cancos de ramos onde ocorre a produção de conídios, em condições favoráveis, que é uma característica da fase imperfeita (ou assexuada) bem como pela produção de apotécios, que geram ascósporos a partir de frutos mumificados no chão do pomar ou embaixo de hospedeiros secundários, e reflete a fase perfeita do patógeno (ou sexuada). Os conídios são disseminados pela chuva e pelo vento atingindo partes suscetíveis da planta, como flores e frutos jovens, os ascósporos são liberados durante a chuva e transportados pelo vento para as flores (HOLTZ et al. 1998; BLEICHER, 1997, RITCHIE, 2000).

Depois que os conídios são disseminados e depositados na superfície do fruto podem penetrar por aberturas naturais ou ferimentos e pelos órgãos florais, assim, para a infecção pelos órgãos florais ocorrer a 10°C, são necessárias 18 horas de umedecimento; por outro lado, a 24°C são necessárias apenas 5 horas (BLEICHER, 1997). Da mesma forma, quanto mais perto do ponto de colheita dos frutos, mais suscetível se tornam à infecção devido ao alto teor de açúcar, ou seja, frutos imaturos são menos propensos a menos que sejam feridos (RITCHIE, 2000).

A relevância de cada fonte de inóculo pode diferir entre pomares de diferentes locais. O inóculo primário é constituído de conídios que surgem sob condições favoráveis, o inóculo secundário pode surgir de um tecido indeterminado no qual o teor de umidade é favorável para a esporulação de conídios, podendo infectar frutas e causar a doença ou ficar em estado de latência quando as condições não forem favoráveis para o seu desenvolvimento, tudo irá depender das condições climáticas (LANDGRAF; ZEHR, 1982) .

A infecção é favorecida quando há alta umidade e temperatura na faixa de 15 e 25°C, entretanto, em condições adversas, esse processo pode ocorrer em uma temperatura de 5-30°. (TIAN; BERTOLINI, 1999; WATSON et al., 2002), mas as temperaturas ideais e duração de umidade são de 22,5 a 25°C e 12 horas para a infecção de pêssegos (BIGGS;NOTHOVER, 1998).

Segundo Santos, Raseira e Zanandrea (2012), *M. fructicola* possui uma capacidade de infecção extremamente alta que se reflete em uma alta produção de conídios no fruto, isso explica porque há uma maior incidência da doença no fim do ciclo em anos mais úmidos e também as elevadas perdas de fruto devido a fatores pós-colheita. Após a infecção ser estabelecida, as hifas desse fungo se espalham pelos tecidos e provocam sintomas característicos da doença como amolecimento e escurecimento da fruta (PACHECO et al., 2016) em função da produção de enzimas que degradam a parede celular e causam a morte das células do hospedeiro (LEE; BOSTOCK, 2006; PRING et al., 1981) A colonização é rápida, com formação de micélio inter e intracelular (BLEICHER, 1997).

A infecção e a produção de esporos do gênero *Monilinia* spp. podem ser influenciadas pelo fato de serem fungos necrotróficos, que sobrevivem e se alimentam de tecido morto e também podem sofrer influência das condições climáticas. Estudos afirmam que dos três fungos que causam a podridão parda no mundo, *M. fructicola* é o que cresce mais rápido e tem uma maior capacidade de dispersão e esporulação em condições de laboratório (VILLARINO; MELGAREJO; CAL, 2016)

2.3 CONTROLE DE *Monilinia fructicola*

Para obter o controle do patógeno, devem-se compreender não apenas um, mas vários métodos de controle como o cultural, físico, químico e biológico, que podem ser adotados durante o ciclo da cultura em pós-colheita (MOREIRA, 2005).

2.3.1 Controle cultural

O controle cultural busca a prevenção de doenças por meios que não sejam o uso de agroquímicos. Consiste na manipulação de práticas agrícolas que interfiram no pré-crescimento e crescimento do patógeno. Tem por objetivo diminuir o contato entre o hospedeiro suscetível e um inóculo viável, reduzindo as taxas de infecção e desenvolvimento da doença (ROTEM; PALTI, 1980).

As medidas de controle cultural para o fungo *M. fructicola* consistem em realizar

podas de limpeza de inverno, eliminar através da queima de todos os ramos doentes do pomar, incluindo capulhos florais e frutos mumificados, pois o patógeno consegue ficar em latência nos órgãos afetados (BLEICHER, 1997).

2.3.2 Controle genético

O desenvolvimento e uso de genótipos com resistência genética é um método efetivo de controle de doenças, bem como de limitar perdas de rendimento das culturas, oriundas do ataque de patógenos. Entretanto, ainda não existem cultivares de pêsego lançadas no mercado com resistência a *M. fructicola* (MOREIRA; MAY-DE-MYO, 2007), apesar de ser o objetivo de programas de melhoramento genético a nível mundial, devido a busca por outras estratégias que diminuam o uso de fungicidas (JÚNIOR et al., 2011).

Foram realizados estudos sobre a resistência de cultivares de pêsegos a *M. fructicola* sendo observado que a cultivar Bolinha possui um nível maior de resistência no frutos que as outras cultivares (FELICIANO et al., 1987). Os motivos para que essa resistência exista podem estar relacionados à compactação das células da epiderme, a espessura da cutícula e a produção de compostos fenólicos (SANTOS et al., 2012).

2.3.4 Controle físico

O controle físico surge na integração dos métodos de controle de doenças de plantas, pois normalmente são ambientalmente e tecnicamente viáveis, além de muitas vezes serem mais econômicos que o controle químico e, se bem realizados, garantem um bom controle de patógenos sem causar danos no agroecossistema. (GHINI; BETTIOL, 2005)

Estudos foram realizados quanto a capacidade de controle e proteção de frutos de pêsego com uso de luz UV-C sendo possível observar a diminuição dos sintomas de de podridão parda com a dose de $7,5 \text{ kJ.m}^{-2}$, que corresponde aproximadamente a 10 minutos de exposição à luz UV-C (STEVENS et al., 1998). Além disso, o ensacamento de frutos de pêsego da cultivar Douradão com papel pardo e papel manteiga, diminuiu a incidência de *M. fructicola* pois houve dificuldade do patógeno esporular sobre os frutos, podendo ser considerado uma opção viável, tanto fechado com grampo e arame como apenas o ensacamento sem nenhum outro instrumento para fechar os sacos (KESKE et al., 2010) uma vez que o patógeno só terá incidência se houver infecções latentes que permanecerem até a pós colheita (GELL et al., 2008).

Vale ressaltar que o método mais comumente utilizado de controle físico em pós

colheita é manter o fruto em baixa temperatura, assim é possível reduzir a taxa de crescimento do patógeno, visto que a temperatura ideal para seu desenvolvimento é 25°C. (DEBORTOLI, PINTO, 2015).

2.3.5 Controle químico

De todos os controles para *M. fructicola*, o controle químico é o mais utilizado, sendo usados fungicidas de modo intensificado na floração e pré-colheita (MAY-DE MIO et al., 2008).

Antes de iniciar o controle com fungicidas, é importante ter integrado os outros métodos, buscando evitar também ataques de insetos praga que possam causar ferimentos no fruto e se caracterizar como uma porta de entrada para o patógeno, especialmente se a planta estiver na fase de floração. Por esse motivo recomenda-se fazer a primeira aplicação de fungicida quando as partes suscetíveis da flor estiverem expostas e, se após o período de chuva, houver temperatura próxima a 25°C (GARRIDO; SONEGO, 2003).

A segunda aplicação é recomendada quando as pétalas caírem da flor. No entanto, é importante ficar atento às condições meteorológicas, pois o número de aplicações pode ser reduzido quando essas condições não forem favoráveis ao crescimento do patógeno e, caso seja necessário fazer aplicações pré-colheita, se indica que sejam realizadas aos vinte e um, catorze e sete dias antes do fruto ser colhido (KESKE, 2004; MAY DE MIO et al., 2004). Caso o fruto estiver imaturo não há a necessidade de fazer mais aplicações, apenas se as condições estiverem muito favoráveis ao patógeno e o fruto tenha algum dano (GARRIDO; SONEGO, 2003).

Estão disponíveis no Brasil, 65 produtos comerciais para o controle de *M. fructicola* em pêssogo, divididos em quatorze ingredientes ativos que são: fluazinam (fenilpiridinilamina), mancozebe (alquilenobis (ditiocarbamato)), tebuconazol (triazol), diclorana (cloroaromático), captana (dicarboximida) óxido cuproso (inorgânico), enxofre (inorgânico), difenoconazol (triazol), ditianona (quinona), dodina (guanidina), iprodiona (dicarboximida), oxicloreto de cobre (inorgânico), ciprodinil (anilinopirimidina), fludioxonil (fenilpirrol); em quatro formulações: suspensão concentrada, pó molhável, concentrado emulsionável e granulado dispersível; e com classificação de toxicidade ambiental de I a V (AGROFIT, 2020).

A instrução normativa nº 37 de 18/06/1989 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento discorre sobre as normas técnicas específicas para a produção integrada de

pêssego (NTEPI – Pêssego), e recomenda o uso de agrotóxicos com base em sistemas adequados de amostragem e diagnósticos, utilizando indicadores de monitoramento de pragas e informações geradas por estações meteorológicas ou outros recursos que possam auxiliar na otimização sobre a tomada de decisão (BRASIL, 2008). Com a utilização dessa instrução normativa, tem se percebido uma diminuição de *M. fructicola* em pomares que utilizam as NTEPI, auxiliando, desta forma, na diminuição do surgimento de populações do fungo resistentes às moléculas sintéticas e, conseqüentemente, aumentando a vida útil dos agroquímicos (FACHINELLO et al., 2004).

Entretanto, o uso do controle químico eleva o custo de produção, causa um desequilíbrio ambiental e, dependendo das condições climáticas e da quantidade de inóculo do patógeno, pode não controlar de forma eficiente os fungos presentes nos pomares (BALARDIN et al., 1994), obrigando o produtor a buscar outras formas de controle.

2.3.6 Controle alternativo

O patógeno *M. fructicola* pode causar perdas expressivas caso não haja controle adequado (CARVALHO et al., 2009), e, devido a ineficiência ou dificuldade de uso de outras medidas de controle, o controle químico acaba sendo um dos principais métodos utilizados para combater a doença. Entretanto, o uso indiscriminado das moléculas químicas tem causado prejuízos ao ambiente e aos seres vivos (CARVALHO et al., 2012). Além disso, pode causar a resistência de fungos fitopatogênicos e tornar a molécula ineficiente (GHINI; KIMATI, 2002). Assim, a legislação de muitos países tem se tornado mais severa quanto ao uso de fungicidas sintéticos, em busca de novos métodos de proteção fitossanitária que possuam maior segurança alimentar, menor período de carência e que não permitam o acúmulo de resíduos nos frutos (BASSETTO et al., 2007).

Segundo estudos realizados por Negri e colaboradores (2011), a calda sulfocálcica possui um potencial de controle do patógeno na fase de floração e em pré colheita nos frutos verdes, onde foi constatado que a calda associada à outros tratamentos conseguiu reduzir a queima das flores causada pelo *M. fructicola*. Além disso, segundo os autores, a EPAGRI-SC já recomenda o uso da calda sulfocálcica 29 °Be, diluída a 0,4%, e associada ao iodo (2%), diluído a 0,04%, para o manejo do patógeno.

Outro produto, o fosfito, é considerado um agente elicitador sendo responsável por ativar os mecanismos de defesa da planta. Para a cultura do pêsssego é recomendável que se utilize o fosfito de potássio porque ele auxilia na prolongação da ação do fungicida e ainda

pode reduzir o número de aplicações de fungicidas sintéticos (UENO, 2015). O uso de fosfitos de cálcio e magnésio associados ao fungicida Captan proporcionou resultados satisfatórios quanto ao controle da podridão parda durante todo o ciclo da cultura e até a pós-colheita (MOREIRA, 2005). A pulverização de fosfito de potássio também resultou na redução da parda em pré-colheita (MOREIRA; MAY DE MIO, 2009).

Além desses, ainda pode ser citado o uso de extratos vegetais e óleos. Estudos foram realizados comprovando a eficácia de ambos no controle da mancha parda, uma vez que são substâncias naturais, que possuem baixa toxicidade, são sistêmicos, se degradam com facilidade e na maioria das vezes a obtenção dos mesmos é de baixo custo (MORAIS, 2009).

2.3.7 Controle biológico

O controle biológico se caracteriza como uma forma de reduzir a densidade de inóculo ou o crescimento e agressividade do patógeno através de um ou mais organismos que podem incluir indivíduos que sejam avirulentos ou hipovirulentos e antagonistas. Assim, faz-se de suma importância conhecer os mecanismos de interações antagônicas que são: antibiose, competição, parasitismo e indução de resistência (MICHEREFF et al., 1993).

Para um microrganismo ser considerado antagonista ele precisa interferir nos processos vitais de um fitopatógeno (MARIANO et al., 2005) e deve possuir características que permitam o seu crescimento, estabilidade e rápida esporulação no mesmo ambiente do patógeno, além de ser diferente fisiológica e morfologicamente e não causar doença na cultura que estamos interessados em proteger além de ser de fácil aplicação e cultivo para que grandes quantidades de inóculo possam ser preparadas com baixo custo (BETTIOL, 1991), pois sabe-se que a eficiência do uso vai depender da aplicação correta do antagonista e da relação de especificidade em relação ao patógeno (MAY DE MIO, 1994).

Normalmente se utilizam fungos e bactérias que são obtidos a partir de isolados retirados da superfície das plantas, selecionando-se por meio de testes *in vitro* e pós-colheita. No caso da podridão parda, as perdas ocorrem principalmente na fase de colheita e pós-colheita, portanto as pesquisas reúnem mais informações sobre essa fase (MOREIRA, 2005). Remuska e Dalla Pria (2007) realizaram estudo *in vitro* com o fungo *Trichoderma sp.* e a bactéria *Bacillus thuringiensis*, visando verificar os efeitos sobre *M. fructicola* e vários outros fungos fitopatogênicos para diversas culturas e puderem observar que o uso da bactéria mostrou-se eficiente no controle de *M. fructicola*, mostrando-se eficiente, também, no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani*. e *Sclerotium rolfsii*.

É importante ressaltar que cada alternativa de controle possui pontos positivos e negativos e que devem ser estudados particularmente quanto ao melhor método de emprego a ser utilizado, por isso, para garantir um controle eficiente, a integração de diferentes métodos pode ser a solução (GHINI; BETTIOL, 2005).

2.4 CONTROLE BIOLÓGICO UTILIZANDO PROCARIOTOS

Os principais mecanismos antagonistas de procariotos são: antibiose, competição, parasitismo e indução de resistência. (MICHEREFF et al., 1993). A antibiose consiste na interação entre dois organismos, um deles produz substâncias chamadas de metabólitos e possui um efeito negativo sobre o fitopatógeno causador da doença, esses metabólitos podem causar dissolução da estrutura celular e não necessariamente os organismos precisam entrar em contato um com o outro para isso acontecer. No controle biológico a maioria dos organismos se utiliza dessa interação no controle (BETTIOL; GHINI, 1995). A competição consiste na interação entre dois ou mais organismos que se alimentam do mesmo material e possuem necessidades semelhantes e o parasitismo é quando um microorganismo se alimenta de outro. Finalmente, a indução de resistência acontece na planta, quando o microorganismo é capaz de induzir a planta a utilizar seus mecanismos de defesa (MICHEREFF et al., 1993).

Ressalta-se ser uma característica benéfica para o controle biológico quando o microorganismo apresenta mais de uma forma de interação com o fitopatógeno, podendo proporcionar maior garantia de um efetivo controle (BETTIOL, 1991).

Entre os agentes de controle biológico destacam-se os procariotos sendo *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Amorphosporangium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bdellovibrio*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Hafnia*, *Micromonospora*, *Pasteuria*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Serratia*, *Streptomyces* e *Xanthomonas* (WELLER, 1988). A microflora das frutas pode ser uma fonte natural de agente biológicos antagonistas uma vez, na caracterização da microflora de ameixas, desde o desenvolvimento inicial até a maturidade, os gêneros dominantes encontrados foram *Curtobacterium* (19,88%), *Pseudomonas* (15,06%), *Microbacterium* (13,86%) e *Clavibacter* (12,65%) (JANISIEWICZ et al., 2013).

Estudo realizado por Ludwig; Moura (2007), objetivou avaliar o efeito de oito isolados bacterianos pré-selecionados (*Pseudomonas synxatha*, *P. fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp. e *Stenotrophomonas malthophilia*) no controle da queima-das-bainhas do arroz, causada por *Rhizoctonia solani* e obtiveram como resultado que três desses

isolados reduziram a severidade da doença além de aumentar o peso da matéria seca de raízes e da parte aérea em níveis iguais ou até mesmo superiores aos propiciados pelo tratamento com fungicida.

O gênero *Bacillus* parece estar rotineiramente envolvido quando se observa o biocontrole de doenças nas mais diferentes culturas como, por exemplo, em citrus onde isolados de *B. subtilis* inibiram o crescimento de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos e produziram, *in vitro*, metabólitos capazes de inibir o crescimento micelial desse patógeno mesmo após serem autoclavados a 120 °C, durante 20 min (KUPPER et al., 2003). Para o controle da podridão parda em pêssego, foram testados oito isolados dentre os quais o isolado C06 (*Bacillus amyloliquefaciens*) suprimiu significativamente a incidência de podridão parda em 92% e reduziu o diâmetro da lesão em 88% e o isolado T03-c (*Bacillus* sp.) também reduziu significativamente a incidência da doença chegando a 40% do diâmetro da lesão em 62% (ZHOU et al., 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo/RS.

3.1 ISOLAMENTO DE *Monilinia fructicola*

O isolado de *M. fructicola* foi obtido a partir de frutos mumificados de pêsego encontrados no fim da safra no município de São Paulo das Missões – RS (Figura 1). Após serem recolhidos foram acondicionados em camara umida para que houvesse maior reprodução de esporos, após isso, os esporos foram retirados do fruto mediante a raspagem de esporos e cultivo em meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar) disposto em placas de Petri. As placas contendo o meio de cultura mais os esporos foram incubadas em câmara climática tipo BOD onde permaneceram por 7 dias na temperatura de 25°C.

Figura 1 – Frutos de pêsego mumificados utilizados para a obtenção do inóculo inicial.



Fonte: Elaborado pela autora.

Para confirmar a identificação do patógeno foram confeccionadas lâminas microscópicas temporárias, sendo identificadas as estruturas reprodutivas características do patógeno para confirmação do gênero (Figura 2). Após a confirmação, realizou-se a repicagem do patógeno para novas placas de Petri, que foram novamente acondicionadas em estufa do tipo BOD nas condições anteriormente descritas.

Figura 2 – Conídios de *M. fructicola* vistos ao microscópio em lâmina temporária.



Fonte: a Autora.

3.2 ISOLADOS DE PROCARIOTOS

Os isolados bacterianos pertencem ao Laboratório de Fitossanidade da Universidade Federal da Fronteira Sul *campus* Cerro Largo – RS, encontravam-se armazenados em tubos de ensaio, com tampa rosqueável, em meio de cultura AN (ágar nutriente) na geladeira (Figura 3). Como critério de seleção dos isolados, foram utilizados aqueles com pelo menos um resultado positivo (biocontrole positivo) em ensaios anteriores com outros fungos (ROHRIG, 2016).

Figura 3 – Bactérias armazenadas nos tubos de ensaio.



Fonte: a Autora.

Cada um dos isolados selecionados foi repicado para placas de Petri pelo método de estrias simples (Figura 4). As placas permaneceram incubadas em estufa do tipo BOD, no escuro, com temperatura de 28°C durante 48 horas.

Figura 4 – Aspecto das placas de Petri contendo um dos isolados bacterianos, após repicagem e incubação.



Fonte: a Autora.

As bactérias selecionadas para esse ensaio foram B01; B16; B27; RD34 e B82. Vale destacar que as mesmas estão em processo de identificação, com exceção da RD34 a qual foi identificada como *Bacillus* sp. em trabalhos anteriores.

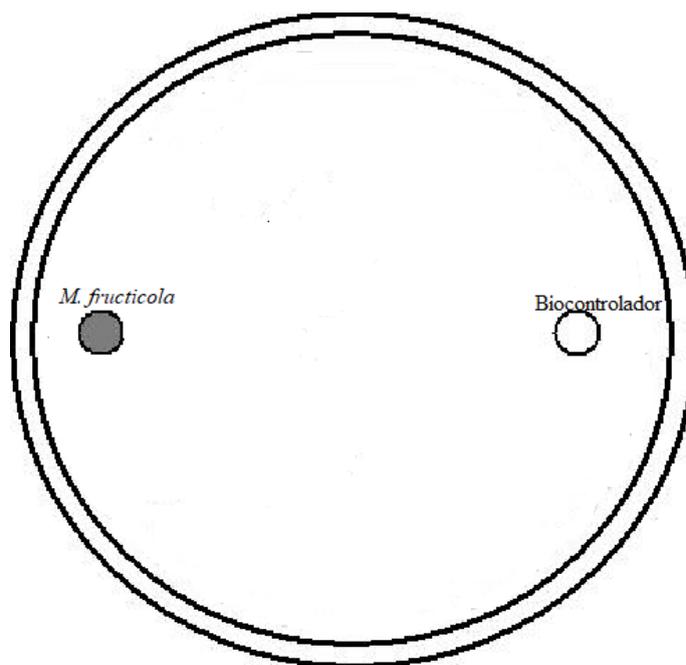
3.3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTAGONISTA DE PROCARIOTOS EM *Monilinia fructicola*

Para esse experimento foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 tratamentos sendo: TA – Bactéria B01; TB- Bactéria B16; TC- Bactéria B27; TD- Bactéria RD34; TE- Bactéria B82 e TT- testemunha, em quatro repetições.

O potencial antagonista das bactérias frente a *Monilinia fructicola* foi avaliado em confronto direto, utilizando o método de pareamento de culturas adaptado de Mariano (1993), que consistiu em transferir, assepticamente, para placas de Petri, contendo 10 mL do

meio de cultura BDA, um disco de 0,4 cm de diâmetro de cada antagonista e do fitopatógeno, colocados a 1,5 cm da borda da placa em lados opostos (Figura 5). As placas do tratamento testemunha não receberam a bactéria, ou seja, em um dos bordos da placa foi depositado apenas um disco de micélio do fitopatógeno.

Figura 5 – Esquema da disposição do fitopatógeno e do biocontrolador na placa de Petri no método de pareamento de culturas.



Fonte: adaptado de Mariano (1993).

Posteriormente, as placas foram incubadas em câmara tipo BOD, a 25 °C, sem fotoperíodo e dispostas de forma aleatória no interior da câmara. Diariamente foram realizadas medições no diâmetro da colônia do fungo, com auxílio de uma régua milimetrada, em dois sentidos transversais, obtendo-se a média do crescimento micelial da colônia de *M. fructicola*. Quando o crescimento da colônia no tratamento testemunha atingiu o lado oposto da placa o experimento foi encerrado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), com auxílio do software estatístico SISVAR.

Foi calculada a porcentagem de inibição do crescimento micelial utilizando-se a fórmula descrita por Menten et al. (1976), onde: $PIC = [(diâmetro\ médio\ da\ testemunha - diâmetro\ médio\ do\ tratamento) / diâmetro\ médio\ da\ testemunha] \times 100$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nenhum isolado de bactérias mostrou efeito inibidor no crescimento micelial de *M. fructicola* em comparação com a testemunha bem como em relação aos tratamentos bacterianos utilizados (Tabela 1), ou seja, não foi observado comportamento antagonista dos procariotos utilizados nesse ensaio. Esses resultados se assemelham aos observados Freitas et al. (2015), que testando 160 bactérias endofíticas, em confronto direto com *Trichoderma* sp., relataram que 82,5%, ou seja, 132 dessas bactérias, não proporcionaram antagonismo frente a esse fungo.

Tabela 1 - Crescimento micelial de *Monilinia fructicola* com o uso de diferentes isolados procariotos, em ensaio realizado *in vitro*.

Tratamento	Crescimento micelial (cm)
B01	8,44 ^{n.s}
B16	9,00
B27	7,52
RD 34	8,42
B82	9,00
TESTEMUNHA	6,74
C.V. (%)	20

n.s.= não significativo. C.V.= coeficiente de variação da ANOVA

Fonte: Elaborado pela autora

Há que se relatar ainda que, apesar de bactérias antagonicas, como espécies do gênero *Bacillus* (Tratamento RD 34) serem capazes de inibir o crescimento micelial de *M. fructicola* agindo por antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo e competição (LANNA FILHO et al., 2010) esse efeito não foi observado no presente trabalho. O efeito de redução do crescimento micelial de *M. fructicola* por isolados bacterianos já observado em outros trabalhos (REMUSKA; DALLA PRIA, 2007; YUAN et al., 2019). O envolvimento de bactérias do gênero *Bacillus* no biocontrole da podridão parda em diferentes tipos de frutas, via pulverização, foi relatado por Pusey e Wilson (1984).

A não observação de efeitos com o uso de isolados bacterianos pode estar relacionada a ineficiência dos metabólitos produzidos por esses isolados na redução do crescimento micelial de *M. fructicola* uma vez que esse fungo é de difícil controle mesmo quando se utiliza fungicidas como azoxistrobina e tebuconazol além de já ter desenvolvido

resistência a outros como é o caso do benomil (MAY DE MIO et al., 2004). Mesmo assim, é possível pensar na possibilidade dos procariotos serem usados na aplicação direta sobre os frutos, uma vez que são nos pêssegos que se observa os maiores danos e, atualmente, apenas o fungicida diclorana está registrado para o controle da doença no pós colheita (PAVANELLO et al., 2015).

O C.V do experimento poder ser reduzido se for utilizado mais repetições, pois foi um valor alto levando em consideração que foi realizado em laboratório.

Quando se avaliou o efeito dos tratamentos bacterianos utilizados, é possível visualizar que nenhum deles inibiu o crescimento micelial em relação a testemunha, na realidade, o que se observa é um estímulo do crescimento micelial com o uso dos procariotos (Tabela 2). Estudos realizados comprovam que bactérias podem auxiliar no crescimento micelial de fungos, como descrito por Gomes et al. (2009) que, com o objetivo de avaliar o efeito *in vitro* de bactérias promotoras de crescimento sobre a germinação de esporos de fungos micorrizicos arbusculares (FMA) do abacaxi, constataram que aos 21 dias não houve germinação dos esporos dos FMAs na ausência das bactérias, concluindo haver um estímulo por parte da bactéria *Bacillus thuringiensis* subvar. *kurstakii* no crescimento desse grupo de fungos.

Tabela 2: Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *Monilinia fructicola* com o uso de diferentes isolados procariotos, em ensaio realizado *in vitro*.

TRATAMENTO	PIC
B01	-25,2 ^{n.s}
B16	-44,58
B27	-11,42
RD 34	-18,69
B82	-37,6
TESTEMUNHA	0,00

Fonte: Elaborado pela autora.

Mendes (2010) realizou um experimento para a avaliação da atividade antagonista das actinobactérias sobre os fungos filamentosos isolados do jardim de fungo de *Trachymyrmex* sp. (grupo Iheringi) mostrando que das 38 actinobactérias isoladas, apenas nove apresentaram inibição do crescimento de pelo menos um dos fungos filamentosos isolados do jardim de fungo de *Trachymyrmex* sp..

Em outros trabalhos foi demonstrado que o uso de procariotos é sim eficiente no

controle de fungos, reduzindo a PIC, ao contrário do que foi demonstrado no presente trabalho. Nascimento (2009) observou a promoção da inibição do crescimento micelilar de *Pyricularia grisea* utilizando diferentes isolados de *Bacillus* spp e na cultura do mamoeiro, Paz (2010), investigando o efeito fungistático de nove isolados de *Bacillus* contra *Corynespora casicola*, observou que um isolado de *Bacillus cereus* apresentou o melhor resultado na inibição do crescimento micelial, com 63,36%, através do confronto no pareamento bactéria x fungo.

A partir disso, vale ressaltar que esses isolados não serão descartados do programa de controle biológico, desenvolvido desde 2010 na UFFS, uma vez que os testes devem sempre serem realizados *in vitro* e *in vivo*, uma vez que os resultados obtidos em ambos se complementam e podem proporcionar resultados diferentes entre si (JÚNIOR; SANTOS; AUER, 2003).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dos cinco isolados bacterianos testados B01, B16, B27, RD34 e B82, nenhum foi eficiente na redução do crescimento micelial e na porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Monilinia fructicola* em ensaios realizados *in vitro*.

Se fazem necessários estudos complementares com os isolados de procariotos aqui testados, uma vez que os mesmos já se mostraram eficientes em ensaios anteriores e a demanda por bioprodutos, tanto pela indústria quanto pelo mercado consumidor de alimentos, principalmente em frutas in natura, impulsiona pesquisas com o uso do controle biológico em *Monilinia fructicola*, que causa grandes perdas econômicas, principalmente em pós-colheita.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_com. Acesso em 13/05/2020.
- ANGELI, Sthela de Siqueira. **Epidemiologia comparativa de podridão parda do pessegueiro causada por *Monilinia fructicola* e *Monilinia laxa*: o monociclo**. 2008. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fitopatologia, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- 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*, v.24, p.15-17, 1994.
- BASSETTO, Eliane; AMORIM, Lilian; BENATO, Eliane A.; GONÇALVES, Fabrício P.; LOURENÇO, Silvia A.. **Efeito da irradiação UV-C no controle da podridão parda (*Monilinia fructicola*) e da podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) em pós-colheita de pêssegos**. *Fitopatologia Brasileira*, [s.l.], v. 32, n. 5, p. 393-399, out. 2007.
- 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.
- BIASI, L. A.; ZANETTE, F.; PETRI, J. L.; MARODIN, G.A.B. **Cultivares de fruteiras de caroço**. In: **Fruteiras de caroço: uma visão ecológica**. Curitiba: UFPR. Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, p. 5-32. 2004.
- BIGGS, A. R.; NORTHOVER, J. **Early and late season susceptibility of peach fruits to *Monilinia fructicola***. *Plant Disease*, v.72, p.1070-1074, 1988.
- BLEICHER, J. **Doenças de rosáceas de caroço**. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3a ed. São Paulo: Ceres, 1997. p. 621-627.
- BRASIL. Instrução Normativa Nº 37, de 18 de Junho de 2008. **Normas Técnicas Específicas para a Produção Integrada de Pêssego - NTEPI-Pêssego**. Brasília. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acesso em: 28/05/2020.
- ROHRIG, Bruna. **BIOPROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS, ISOLADAS DE DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO, PARA O CONTROLE DE PATÓGENOS HABITANTES DE SOLO DA CULTURA DO FEIJÃO**. 2016. 51 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2016.
- CARVALHO, V. L.; CUNHA, R.L.; CHALFUN, N. N. J.; MOURA, P. H. A. **Alternativas de controle pós-colheita da podridão-parda e da podridão-mole em frutos de pessegueiro**. *Revista Brasileira de Fruticultura*, [s.l.], v. 31, n. 1, p. 78-83, mar. 2009.
- CARVALHO, V.L.; CUNHA, R.L.; SILVA, N.R.N. **Alternativas de controle de doenças do**

cafeeiro. Coffee Science, Lavras, v.7, n.1, p.42-49, 2012.

CASARIN, J. V. **Avaliação da variabilidade de espécies de *monilinia* associadas à podridão parda do pêssego.** 2007. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Ciências, Fitopatologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

DEBORTOLI, M; PINTO, F.F. **Manejo da podridão parda na cultura do pessegueiro (*Monilinia fructicola* (G. Wint.) Honey).** Disponível em: <<https://elevagro.com/materiais-didaticos/manejo-da-podridao-parda-na-cultura-do-pessegueiro-monilinia-fructicola-g-wint-honey/>>. Data de acesso: 26 de maio de 2020.

FACHINELLO, J. C.; TIBOLA, C.S.; MAY -DE MIO, L.L.; MONTEIRO, L.B. **Produção Integrada de Pêssego (PIP) In: Fruteiras de caroço: uma visão ecológica** MONTEIRO, L.B.; MAY -DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; MOTTA, A.C.; CUQUEL, F.L. (editores) Curitiba-PR. UFPR. Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, p. 363-390. 2004.

FELICIANO A, FELICIANO AJ, OGAWA JM (1987) **Monilinia fructicola resistance in peach cultivar Bolinha.** Phytopathology, 77: 776- 780.

FLORES, M. F; **Extratos vegetais no controle de podridão parda (*monilinia fructicola*) em pêssego.** 2013. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Vegetal, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2013.

FONTANA, D.C; KULCZYNSKI, S.M; TREVISAN, R; SCHMIDT, D; CARON, B. O PINHEIRO, M. V. M; PRETTO, M. M; DIEHL, M.I. **Uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão parda do pessegueiro.** Cultivando O Saber, Cascavel, v. 10, n. 2, p. 148-165, abr. 2017.

FREITAS, A. D. G. de *et al.* **Atividade antagonista de bactérias endofíticas de plantas da amazônia contra o fungo simbiote *L. gongylophorus*, e dos fungos associados presentes nos ninhos de *Atta sexdens*.** Scientia Amazonia, N.I, v. 1, n. 5, p. 1-14, abr. 2015. Disponível em: <http://scientia-amazonia.org/>. Acesso em: 12 abr. 2021.

GARRIDO, L.R; **Manejo das doenças das prunoides (ameixa, nectarina e pêssego).** Circular técnica. Embrapa. Bento Gonçalves, RS. P. 1-21. 2016.

GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.R. **Sistema de Produção de Pêssego de Mesa na Região da Serra Gaúcha.** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. 2003.

GELL, I.; DE CAL, A.; TORRES, R.; USALL, J.; MELGAREJO, P. **Relationship between the incidence of latent infections caused by *Monilinia spp.* and the incidence of brown rot of peach fruit: factors affecting latent infection.** European Journal Plant Pathology, n. 121. p. 487-498. 2008.

GHINI, R; BETTIOL, W. **Controle Físico de Doenças Radiculares.** In: MICHEREFF, Sami J. *et al* (ed.). Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais. Recife: Ufrpe, Imprensa Universitária, 2005. p. 1-399.

GHINI, R; KIMATI, H. **Resistência de Fungos a Fungicidas.** 2. ed. Jaguariúna -Sp:

Embrapa Meio Ambiente, 2002. 78 p.

GOMES, SOARES, SUELI APARECIDA, RAMOS MARIANO, ROSA DE LIMA, TIBÚRCIO CAVALCANTE, UIED MAAZE, COSTA MAIA, LEONOR. **Efeito de bactérias na germinação de fungos micorrízicos arbusculares e co-inoculação em mudas de abacaxizeiro.** Revista Caatinga [en línea]. 2009, 22(2), 31-38[fecha de Consulta 12 de Abril de 2021]. ISSN: 0100-316X. Disponible em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=237117600006>

HOLTZ, B. A.; MICHAELIDES, T. J.; HONG, C. X. **Development of apothecia from stone fruit infected and stromatized by *Monilinia fructicola* in California.** Plant Disease. v.82, p.1375- 1380. 1998.

HOU, D. Y; YAN, C.; LIU, H; GE, X; XU, W; TIAN, P. **Berberine as a natural compound inhibits the development of brown rot fungus *Monilinia fructicola*.** Crop Protection, [s.l.], v. 29, n. 9, p. 979-984, set. 2010. Elsevier BV.

HOU, X; CHANG, H.; YANG, R; WANG, F; LIU, Y. ***Bacillus methylotrophicus* has potential applications against *Monilinia fructicola*.** Open Life Science, v.14, p.410-419, 2019

JANISIEWICZ, Wojciech J.; JURICK, Wayne M.; VICO, Ivana; PETER, Kari A.; BUYER, Jeffrey S.. **Culturable bacteria from plum fruit surfaces and their potential for controlling brown rot after harvest.** Postharvest Biology And Technology, [s.l.], v. 76, p. 145-151, fev.2013. Elsevier BV.

KESKE, C. **Controle fitossanitário e qualidade de frutos em ameixeira e pessegueiro sob sistema orgânico no Alto Vale do Itajaí, SC.** Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas), Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, SC, 102 f. 2004.

KESKE, C; GONÇALVES, P. A. de S; KESKE, G. **Incidência de pragas e doenças e qualidade de frutos ensacados de pessegueiros da cultivar Douradão em sistema de produção orgânico.** Revista Brasileira de Agroecologia, Rio do Sul, v. 2, n. 5, p.216-226, maio 2010.

KRUGNER, T.I; BACCHI, L. M; Fungos. In: BERGAMIN FILHO, Armando; KIMATI, Hiroshi; AMORIM, Lilian (ed.). **Manual de Fitopatologia: Volume 1: Princípios e conceitos.** 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres Ltda, 1995. Cap. 4. p. 77

KUPPER, Katia C.; GIMENES-FERNANDES, Nelson; GOES, Antonio de. **Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos.** Fitopatologia Brasileira, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 251-257, jun. 2003. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-41582003000300005>.

LANNA FILHO, R., FERRO, H.M.PINHO, R.S. C. **Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*.** Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas, n.4, v.2, p.12-20, 2010

LANDGRAF, Frances A.; ZEHR, Eldon I.. **Inoculum Sources for *Monilinia fructicola* in South Carolina Peach Orchards.** The American Phytopathological Society, Clemson, v. 72, n. 2, p. 185-190, May 1982.]

LEE, M. H.; BOSTOCK, R. M. **Induction, regulation, and role in pathogenesis of appressoria in *Monilinia fructicola***. *Phytopathology*, V.96, p.1072–1080, 2006.

LINO, Leandro Oliveira; PACHECO, Igor; MERCIER, Vincent; FAORO, Franco; BASSI, Daniele; BORNARD, Isabelle; QUILOT-TURION, Bénédicte. **Brown Rot Strikes Prunus Fruit: an ancient fight almost always lost. : An Ancient Fight Almost Always Lost**. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, [s.l.], v. 64, n. 20, p. 4029-4047, 10 maio 2016. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00104>.

Lo, S. C., Weiergang, I., Bonham, C., Hipskind, J., Wood, K., & Nicholson, R. L. **Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin**. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.49, p.21-31, 1996.

LUDWIG, Juliane; MOURA, Andréa B. **Controle biológico da queima-das-bainhas em arroz pela microbiolização de sementes com bactérias antagonistas**. *Fitopatologia Brasileira*, [s.l.], v. 32, n. 5, p. 381-386, out. 2007.

MADAIL, J.C.M. **O cultivo do pessegueiro no Rio Grande do Sul**. In: RASEIRA, M. do C. B.; PEREIRA, J. F. M.; CARVALHO, F. L. C. (Ed.). *Pessegueiro*. Brasília, DF: Embrapa, 2014. p. 615-624.

MARIANO, Rosa L.r.; SILVEIRA, Elineide B.; GOMES, Andréa M.a.. **Controle Biológico de Doenças Radiculares**. In: MICHEREFF, Sami J.. *Ecologia e Manejo de Patógenos de Doenças Radiculares em solos tropicais*. Recife: Ufpe, 2005. p. 1-399.

MAY, Louise Larissa. **Controle Biológico de *Phytophthora parasitica* dastur em mudas de citros**. 1994. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fitopatologia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1994.

MAY-DE-MIO, L.L.; MOREIRA, L.M.; MONTEIRO, L.B.; JUSTINIANO JÚNIOR, P.R. **Infecção de *Monilinia fructicola* no período da floração e incidência de podridão parda em frutos de pessegueiro em dois sistemas de produção**. *Tropical Plant Pathology*, v.33, p.173-180, 2008.

MAY DE MIO, L. L.; MONTEIRO, L. B.; NAZARENO, N. R. X. de; HICKEL, E. **Classificação e manejo dos agroquímicos em fruteiras de caroço**. In: MONTEIRO, L. B.; MAY-DE MIO, L. L.; SERRAT, B. M.; MEDEIROS, G.; MEDEIROS, C. A. *Fruteiras de caroço: uma visão ecológica*. Curitiba: UFPR, 2004. p. 263-297.

MAYER, Newton Alex; FRANZON, Rodrigo Cezar; RASEIRA, Maria do Carmo Bassols. **Introdução**. In: MAYER, Newton Alex; FRANZON, Rodrigo Cezar; RASEIRA, Maria do Carmo Bassols. **Pêssego, nectarina e ameixa : o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa, 2019. p. 1-296.

MENDES, Thais Demarchi. **Atividade antimicrobiana de actinobactérias isoladas de formigas attini (hymenoptera: formicidae)**. 2010. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Ciências Biológicas, Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

MICHEREFF, Sami J.; MARIANO, RLR. **Controle Biológico de doenças de plantas**.

Recife. Imprensa Universitária-UFRPE, 1993.

MORAIS, Lilia Aparecida Salgado de. Óleos Essenciais no Controle Fitossanitário. In: AMBIENTE, Embrapa Meio (ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariuna -sp: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p. 1-341.

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

MOREIRA, L.M.; MAY-DE-MIO, L.L. **Metodologia para detecção de infecções latentes de Monilinia fructicola em frutas de caroço**. Ciência Rural, v.37, p.628-633, 2007. MAY DE MIO, L.L.; SERRAT, B.M.; MOTTA, A.C.; CUQUEL, F.L. ed. Fruteiras de caroço: uma visão ecológica, UFPR, Curitiba: p.169-221. 2004.

MOREIRA, Luciene Martins. **Alternativas de controle integrado da podridão parda do pessegueiro**. 2005. 129 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Matos, F.J.A. As plantas da farmácia viva. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1997. v.1, 57p.

NASCIMENTO, I. O. **Isolamento, identificação e seleção de Bacillus spp. para o biocontrole de fitopatógenos do arroz**. 2009. 109 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

NEGRI, Genuino; BIASI, Luiz Antônio; WORDELL FILHO, João Américo; MAY-DE-MIO, Louise Larissa. **Manejo da queima das flores e da podridão parda do pessegueiro cultivado em sistema orgânico**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 415-423, out. 2011.

PAVANELLO, E.P.; BRACKMANN, A; THEWES, F.R; BOTH, V.; SANTOS, J.R.A; SCHOR, M.R.W. **Eficiência de fungicidas no controle da podridão parda do pessegueiro e sua relação com parâmetros fisiológicos dos frutos**. Semina: Ciências Agrárias, v.36, n.1, p.67-76, 2015

PAZ, D. S. da. **Ação inibitória de extratos vegetais, óleo de nim, produtos abióticos e Bacillus sobre Corynespora asiatica, agente da mancha-alvo do mamoeiro**. 2010. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2010.

PAULUS, Danieli Massalai. **COMPORTAMENTO ADAPTATIVO DA CULTURA DO PESSEGUEIRO NA REGIÃO MISSIONEIRA**. 2019. 41 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2019.

PRING, R. J.; BYRDE, R. J. W.; WILLETTS, H. J. **An ultrastructural study of the infection of pear fruit by Monilinia fructigena**. Physiological Plant Pathology, v. 19, p. 1–6, 1981. PM7/18 (3) Monilinia fructicola. **Eppo Bulletin**, [s.l.], v. 50, n. 1, p. 5-18, abr. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/epp.12609>.

PUSEY, P. L.; WILSON, C. L. **Postharvest biological control of stone fruit brown rot by Bacillus subtilis**. Plant Disease, v.68, n.9, p.753-756, 1984.

REMUSKA, A. C.; DALLA PRIA, M. **Efeito de bacillus thuringiensis e trichoderma sp.**

nocrescimento de fungos fitopatogênicos. Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng., Ponta Grossa, v.13, n. 3, p. 31-36, dez. 2007.

RITCHIE, D. F. **Brown rot of stone fruits.** The American Phytopathological Society. 2000. Disponível:

<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/BrownRotStoneFruits.aspx>. Acesso em: 14 de maio de 2020.

ROTEM, J. & PALT, J. **Epidemiological factors as related to plant disease control by cultural practices.** In: Palti, J. & Kranz, J. (eds.) Comparative Epidemiology. A Tool for Better Disease Management. Pudoc, Wageningen. 1980. 126 pg 180-126.

SANTOS, Juliano dos; RASEIRA, Maria do Carmo Bassols; ZANANDREA, Ilisandra. **Resistência à podridão parda em pessegueiro.** Bragantia, Campinas, v. 71, n. 2, p. 219-225, fev. 2012.

SOARES, P. L. M. **Estudo do controle biológico de fitonematóides com fungos nematófagos.** 2006. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2006.

SOUZA, A.L.B.; CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B.; MACHADO J. da C. **Resistência pós-colheita do pêsego (*Prunus persica* cv. Biuti) a *Monilinia fructicola*: indução de respostas bioquímicas pela aplicação de CaCl₂ no local da injúria.** Ciênc. e agrotec. v.23, n.4,p.864-874, 1999.

SOUZA, D.C; FAZZA, A.C; CAMARGO, L.A; MIO, L.M; ANGELI, S.S; AMORIM, L. **First report of *Monilinia laxa* causing brown rot on peaches in Brazil.** Phytopathology, Saint Paul, v.98, n.6, p. S 148 – S 149, 2008. Abstract.

STEVENS, C., KHAN, V.A., LU, J.Y., WILSON, C.L., PUSEY, L.P., KABWE, M.K., IGWEGBE, E.C.K., CHALUTZ, E. & DROBY, S. **The germicidal and hormetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeast microflora of peaches.** Crop Protection 17:75-84. 1998.

STROBEL, G. A.; Spang, S.; Kluck, K.; Hess, W. M.; Sears, J.; Livinghouse, T. **Synergism among volatile organic compounds resulting in increased antibiosis in *Oidium* sp.** FFMS Microbiological Letters, Oxford, v. 283, p. 140-145, 2008

TIAN, S.P.; BERTOLINI, P. **Effect of temperature during conidial formation of *Monilinia laxa* on conidial size, germination and infection of stored nectarines.** Journal of Phytopathology, v.147, p.635–641, 1999.

UENO, Bernardo. **Técnica: Fosfito+Fungicida defesa e proteção para o pêsego.** Campo & Negócios Hortifruti, Uberlândia, v. 123, n. 1, p. 72-73, 2015.

VILLARINO, M.; MELGAREJO, P.; CAL, A. de. **Growth and aggressiveness factors affecting *Monilinia* spp. survival peaches.** International Journal Of Food Microbiology, [s.l.], v. 224, p. 22-27, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.02.011>.

WATSON, W. A.; ZEHR, E. I.; GRIMES, L. W. **Influence of Temperature and Wetting Period on Inoculum Production by *Monilinia fructicola* in Peach Twig Cankers.** Plant Disease, v. 86, n.6, p. 666-668. 2002.

WELLER, D.M. **Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria.** Annual Review of Phytopathology, Paio Alto, v.26, p.379- 407, 1988.

ZANETTE, F.; BIASI, L.A. **Introdução à fruteiras de caroço.** In: Fruteiras decarço: uma visão ecológica MONTEIRO, L.B.; MAY -DE MIO, L.L.;SERRAT, B.M.; MOTTA, A.C.; CUQUEL, F.L. (editores) Curitiba: UFPR. Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, p. 1-3. 2004.

ZHOU, T; SCHNEIDER, K; LI, X. **Development of biocontrol agents from food microbial isolates for controlling post-harvest peach brown rot caused by *Monilinia fructicola*.** International Journal Of Food Microbiology, [s.l.], v. 126, n. 1-2, p. 180-185,15 ago. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.05.020>.