

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTAGÔNICO DE ISOLADOS DE
Clonostachis rosea A *Botrytis cinerea* EM FOLHAS DESTACADAS DE
MORANGUEIRO, FRAMBOESEIRO .**

**ZAMBONI-PINOTTI, M. Margareth; VALDEBENITO -SANHUEZA, Rosa M.; SILVA-
RIBEIRO, Rute T. (margarethzp@zipmail.com.br; cnpuv, caixa postal 1513, 95200000, Vacaria, RS)**

INTRODUÇÃO

Testes para antagonismo em folhas crescendo sob condições controladas são a chave para a seleção de agentes de controle biológico (BETTIOL < 1991:227 apud ANDREW, 1985), consistem basicamente na pulverização do antagonista em folhas, inoculação do patógeno e posterior avaliação da doença (BETTIOL, 1991:227).

O trabalho que está sendo proposto obedecerá duas etapas: Na primeira etapa, o patógeno será inoculado antes da pulverização do antagonista. Na segunda etapa, o antagonista será pulverizado antes da inoculação do patógeno em folhas destacadas de culturas de morango, framboesa e amora, em condições controladas.

A utilização de Paraquat vem sendo adotada no momento de plaquear meio para a avaliação dos discos. Neste trabalho testamos um método alternativo a este meio seletivo, com índice zero de toxicidade, que consiste em congelar os discos de folhas. Os dois métodos serão utilizados para serem confrontados quanto a eficácia do processo de congelamento.

MATERIAI E MÉTODOS:

Os isolados de *Clonostachis rosea* GFO4 e GSAL selecionados, pertencentes a coleção Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, foram utilizados neste experimento. Os isolados GFO4 foram testados sob forma de suspensão de conídios e pó de micélio, resultantes de duas fermentações. Os isolados de GSAL foram testados sob forma de suspensão de conídios e pó de micélio resultante de uma fermentação.

Partiu-se da coleta de folhas jovens de morangueiro e framboeseiro, com pedúnculo e sadias. O pedúnculo, foi envolvido com algodão umedecido em água destilada e esterilizada. Para cada um dos 5 tratamentos mais testemunha, foram colhidas 5 folhas em três repetições. As folhas foram levadas para uma caixa de polietileno de 60cm X 40cm, forradas com três camadas de papel

toalha, cobertas por sombrite(tela que não retém a umidade nas folhas, provocada pelas inoculações posteriores), desinfetada com álcool 96°. As bandejas assim preparadas, receberam as folhas de cada cultura colocadas enfileiradas e identificadas por tratamento.

Inoculação: Os inóculos foram aplicados nas seguintes concentrações: As suspensões de conídios de GFO4 e GSAL em 10^6 UFC(Unidades Formadoras de Colônias). As suspensões de pó seco de micélio de GFO4 1ª fermentação, GFO4 2ª fermentação e GSAL com 80mg/l.

Primeira Etapa: Curativo: Todas as folhas das duas culturas, preparadas da forma citada anteriormente receberam inoculação de *Botrytis cinerea* na concentração de 10^6 conídios(Unidades Formadoras de Colônia, UFC). As bandejas cobertas por sacos plásticos foram levadas a BOD a 21°C, com fotoperíodo de 12 horas por 24 horas.

Após este tempo, cada fila de folhas das duas culturas foi pulverizada com os isolados de *Clonostachis rosea* correspondente, exceto a testemunha. A seguir as bandejas protegidas por sacos plásticos foram levadas a BOD em 21°C com fotoperíodo de 12 horas por 4 dias.

Segunda Etapa: Protetor: Nesta etapa repetiu-se todo o procedimento anterior, porém inoculando primeiro o antagonico *Clonostachis rosea*, seguido de *Botrytis cinerea*. Todas as condições anteriores foram respeitadas.

Para a avaliação das folhas quanto ao efeito de controle de *Botrytis cinerea* por isolados de *Clonostachis rosea* inoculados, procedeu-se primeiro a desinfecção das mesmas, colocando em álcool 96° por 1min, seguido de imersão em Hipoclorito 2,5% por 2 min, passando após este tempo por 3 enxágües em água destilada e esterilizada. A seguir as folhas foram cortadas com perfurador de 1,5cm de diâmetro($1,76 \text{ cm}^2$) em discos, sendo 5 discos de folhas por tratamento em 3 repetições, e, para 2 métodos seletivos: no primeiro, os discos foram congelados por 30min e colocados em placas esterilizadas com meio Ágar-água e no segundo os discos ao natural, foram colocados em meio Ágar-água e Paraquat 100ppm. Em ambos os métodos as placas foram levadas a BOD em 21° C com fotoperíodo de 12horas, por 7 dias.

A avaliação das colonizações tanto do patógeno como do hospedeiro, foi feita adaptando-se a metodologia descrita por DALL'ONDER (1997:36), estimando as áreas de discos colonizadas. Foi feita a observação da esporulação e/ou presença de micélio, adaptando metodologia de TATAGIBA citado por DALL'ONDER (1997:37). Para isto utilizou-se uma Lupa modelo Stemi SV6, MC80, possibilitando a centralização do disco e divisão por setores conforme o disco de DALL'ONDER(

1997:38). O experimento foi repetido para os isolados que apresentaram maior efeito antagônico nas duas culturas.

RESULTADOS E DISCUSÃO

Na etapa de protetor em morangos, o número de discos de folhas com *Botrytis*, em todos os tratamentos foram iguais entre si e superiores a testemunha, ou seja, controlaram o patógeno. Neste tratamento o método mais eficaz para detecção foi o de congelados. O número de discos com *Clonostachis r.* foram iguais entre si no controle do patógeno e não houve diferença entre métodos de detecção. Na etapa curativa de morangos, os únicos tratamentos que controlaram o patógeno foram GFO4con(100%), GFO4fer2 (100%) , e GSAL sem diferenças significativas entre eles; ou entre os métodos de detecção. O maior número de discos com *Clonostachis r.* e % de colonização foi observado em GSALcon, GFO4con. Estes tratamentos apresentaram o melhor resultado tanto em colonização quanto em controle do patógeno.

Em framboesa na etapa de proteção, todos os tratamentos exceto GFO4fer2, reduziram a quantidade de *Botrytis c.*, sendo que os que apresentaram os melhores desempenhos foram os tratamentos GFO4con e GSALcon, sem diferenças significativas entre eles e. Os métodos não apresentaram diferenças significativas entre si. O nº de discos com *Clonostachis r.* , foram maiores em GFO4con sendo GSAL superior a este em mais de 50%. Quanto aos métodos, o Paraquat aumentou a expressão de *Clonostachis r.*, em GFO4con ,mas não apresenta diferença significativa em GSALcon. Quanto a colonização o GSALcon foi superior a GFO4con.

Em framboesa na etapa curativa todos os tratamentos inibiram o patógeno, sendo o melhor GSALcon, porém sem diferença significativa com os demais exceto GFO4fer2. Os fungos foram obtidos com maior frequência nos discos congelados, porém no GSAL que é o melhor tratamento não houve diferenças entre métodos. Na avaliação dos discos com *Clonostachis r.* os tratamentos GSALcon e GFO4con foram mais frequentes diferenciando-se de todo o resto não havendo diferenças entre os métodos. Quanto a colonização, foi maior em congelados mas em GSALcon não houve diferenças significativas .

Tabela1: Avaliação de discos de *Botrytis cinerea*

Tratamentos	Tratamento Protetor	Tratamento Curativo
		Número de discos com <i>Botrytis</i>

Resumos do II Congresso Brasileiro de Agroecologia

	Morango	Framboesa	Morango	Framboesa
Tetemunha	2,083	1,964	1,668	2,118
GSALmic	0,433	0,845	1,233	0,433
GFO4fer1	0,273	0,607	0,921	0,551
GSALcon	0,273	0,273	0,129	0,129
GFO4fer2	0,129	1,233	0,0	0,227
GFO4con	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela2: Avaliação de discos com *Clonostachis rosea* em Morango

Tratamentos	Tratamento Protetor		Tratamento Curativo	
	Número de discos com <i>Clonostachis rosea</i>		Número de discos com <i>Clonostachis rosea</i>	
	Nº de discos	% de colonização	Nº de discos	% de colonização
GSALcon	4,355	99,99	4,655	99,99
GFO4con	4,487	86,28	3,806	95,58
GFO4fer2	4,467	35,48	2,479	51,51
GSALmic	3,688	32,86	0,796	17,95
GFO4fer1	3,458	65,82	0,676	9,87
Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela3 :Avaliação de discos com *Clonostachis rosea* em Framboesa

Tratamentos	Tratamento Protetor		Tratamento Curativo	
	Número de discos com <i>Clonostachis rosea</i>		Número de discos com <i>Clonostachis rosea</i>	
	Nº de discos	% de colonização	Nº de discos	% de colonização
GSALcon	4,655	38,72	3,806	22,12
GFO4con	2,218	14,36	3,251	18,72
GFO4fer2	0,871	1,80	1,497	6,98
GSALmic	0,433	4,92	0,551	6,05
GFO4fer1	0,273	3,20	0,129	0,73

Resumos do II Congresso Brasileiro de Agroecologia

Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0
------------	-----	-----	-----	-----

*Dados seguidos por letras iguais, não diferem entre si em Duncan 5%

Médias obtidas entre três repetições por tratamento, com 5 discos cada repetição

BIBLIOGRAFIA

DALL?ONDER, G. M; **Produção e eficiência de conideos e biomassa de Gliocladium roseum no controle de Botrytis cinérea em morangueiro**, 1997. Biblioteca setorial da Faculdade de Agronomia da UFRGS- CDU-634.71- p .6-39

Bettiol, **Controle biológico de doenças em plantas**, 1991. Jaguariúna- Embrapa-cnpda-p.388