

**CONTROLE DO OÍDIO DA ABOBRINHA
COM ANTAGONISTAS E PRODUTOS
BIOCOMPATÍVEIS**

ANDIALE PINTO DOS SANTOS

2009

ANDIALE PINTO DOS SANTOS

**CONTROLE DO OÍDIO DA ABOBRINHA COM ANTAGONISTAS E
PRODUTOS BIOCAMPATÍVEIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador
Prof. Wagner Bettiol

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Santos, Andiale Pinto dos.

Controle do oídio da abobrinha com antagonistas e produtos biocompatíveis / Andiale Pinto dos Santos. – Lavras : UFLA, 2009.
55 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.
Orientador: Wagner Bettiol.
Bibliografia.

1. *Podosphaera fusca*. 2. Antagonistas. 3. Controle alternativo.
4. Controle Biológico. 5. *Cucurbita pepo* I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.6294

ANDIALE PINTO DOS SANTOS

**CONTROLE DO OÍDIO DA ABOBRINHA COM ANTAGONISTAS E
PRODUTOS BIOCAMPATÍVEIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 15 de junho de 2009

Prof. Eduardo Alves

UFLA

Prof. Lilia Aparecida Salgado de Moraes

CNPMA

Prof. Wagner Bettiol
EMBRAPA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

“A Deus meu criador por ter me guiado e protegido ao longo dessa jornada removendo todos os encaixos do meu caminho”

“À minha amada mãe Ana Maria Brito Pinto mulher guerreira e batalhadora, meu exemplo de vida e meu chão por ter me ajudado ao longo de todos esses anos.

“Aos meus queridos irmãos Robson, Anaceli, Anderson, Andréa e Junior, por todo apoio e carinho ao longo desses anos”

DEDICO

“A Michael Jackson (no coração) por ter alegrado a minha vida com suas músicas”

“As realizações sempre partem de sonhos e sonhos não tem limites, então deixe que aconteçam e que possamos comemorar novamente daqui a um ano”

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me guiado e protegido ao longo de toda a minha vida.

À Universidade Federal de Lavras por meio do Departamento de Fitopatologia pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação em Fitopatologia do qual tenho muito orgulho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais - FAPEMIG pela concessão da bolsa de mestrado.

À Embrapa Meio Ambiente por toda infra-estrutura fornecida para a realização dos experimentos.

Ao professor Wagner Bettiol pelo carinho, amizade, conselhos, orientação, convivência e pela confiança depositada em mim durante o curso.

Aos colegas, professores e funcionários do Departamento de Fitopatologia da UFLA pela amizade ao longo desses anos, companheirismo, conselhos e convivência em especial ao Eduardo Alves por tudo, Renata Canuto e seu esposo Paulo.

Ao prof. Paulo Mazzafera e Jullyana C. M. S. Moura da Unicamp pelo treinamento recebido, apoio e carinho.

Aos colegas, estagiários, pesquisadores e funcionários da Embrapa Meio Ambiente, que compartilharam comigo alegrias e tristezas ao longo de meus experimentos.

À minha mãe Ana Maria, que de forma incondicional, sempre me apoiou em tudo me ajudando a conquistar meus sonhos.

Aos meus irmãos, Anaceli, Andréa, Robson, Anderson, Romilson e Junior, por todo carinho e apoio ao longo da minha vida.

À Joselice L. L. da Fonseca e Suane C. Cardoso pela confiança depositada em mim ainda na iniciação científica e por ter me inserido no meio científico.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que eu chegasse até aqui, eu lhes deixo o meu carinho e eterno agradecimento.

Meu mais puro e sincero MUITO OBRIGADO!!!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURA.....	ii
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	2
2 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	6
CAPÍTULO 2 Bioagentes para o controle do oídio da abobrinha	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
2.1 Efeito de <i>Lecanicillium longisporum</i> (Vertirril®) no controle do oídio	14
2.2 Efeito de <i>Bacillus subtilis</i> (Serenade®) no controle do oídio.....	15
2.3 Efeito de <i>Bacillus pumilus</i> no controle do oídio.....	16
2.4 Efeito da mistura de <i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i> no controle do oídio.....	16
2.5 Efeito de agentes de controle biológico sobre a germinação dos conídios de <i>Podosphaera fusca</i>	17
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
3.1 Efeito de <i>Lecanicillium longisporum</i> no controle do oídio.....	19
3.2 Efeito de <i>Bacillus subtilis</i> QST 713 no controle do oídio.....	20
3.3 Efeito de <i>Bacillus pumilus</i> no controle do oídio.....	23
3.4 Efeito da mistura de <i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i> no controle do oídio	25

3.5 Efeito dos bioagentes sobre a germinação dos conídios de <i>Podosphaera fusca</i>	26
4 CONCLUSÃO.....	26
5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
CAPITULO 3 Produtos alternativos no controle do oídio da abobrinha	30
RESUMO	31
ABSTRACT	32
1 INTRODUÇÃO.....	33
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
2.1 Efeito do bicarbonato de potássio e de sódio no controle do oídio.....	37
2.2 Efeito do óleo fixo de sementes de nim (<i>Azadirachta indica</i>) no controle do oídio.....	38
2.3 Efeito do extrato de alho (<i>Allium sativum</i>) no controle do oídio.....	38
2.4 Efeito da quitosana no controle do oídio	39
2.5 Efeito dos produtos biocompatíveis na germinação de conídios do oídio.....	39
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
3.1 Efeito do bicarbonato de potássio no controle do oídio da abobrinha.....	41
3.2 Efeito do bicarbonato de sódio no controle do oídio da abobrinha	43
3.3 Efeito do óleo fixo de sementes de nim no controle do oídio.....	44
3.4 Efeito do extrato de alho no controle do oídio.....	45
3.5 Efeito da quitosana no controle do oídio	47
3.6 Efeito dos bioprodutos na germinação de conídios <i>Podosphaeres fusca</i>	48
4 CONCLUSÃO.....	47
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
CONSIDERAÇÕES FINAIS	51

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2	Bioagentes para o controle do oídio da abobrinha	
TABELA 1	Composição do leite pasteurizado homogeneizado tipo “B” jaguari ®.....	15
TABELA 2	Composição do meio de cultura líquido para cultivo de <i>Bacillus</i> sp.....	16
TABELA 3	Efeito do <i>Bacillus pumilus</i> , Serenade® (<i>Bacillus subtilis</i> isolado QST 713), Vertirril® (<i>Lecanicillium longisporum</i> cepa Esalq 1300) e do Nemix® (<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i>) na germinação dos conídios de <i>Podosphaera fusca</i> .da abobrinha Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.....	27
CAPITULO 3	Produtos alternativos no controle do oídio da abobrinha	
TABELA 1	Efeito do kaligreen®, bicarbonato de sódio, bicarbonato de potássio, quitosana, óleo fixo de sementes de nim e extrato de alho na germinação de conídios de <i>Podosphaera fusca</i> da abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 5%.....	46

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 2	Bioagentes para o controle do oídio da abobrinha	
FIGURA 1	Efeito do Vertirril® (<i>Lecanicillium longisporum</i>) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. As barras são valores médios, acompanhadas de seu desvio padrão. T1, T2 e T3 correspondem a <i>Lecanicillium</i> nas concentrações 10^5 , 10^6 e 10^7 ufc mL ⁻¹ em água, T4, T5 e T6 correspondem a <i>L. longisporum</i> nas concentrações de 10^5 , 10^6 e 10^7 ufc mL ⁻¹ em leite.....	20
FIGURA 2	Efeito do <i>Bacillus subtilis</i> estirpe QST 713 (Serenade®), sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey a 5%). As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.....	21
FIGURA 3	Efeito do <i>Bacillus subtilis</i> estirpe QST 713 (Serenade®), sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey a 5%). As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.....	22
FIGURA 4	Efeito do <i>Bacillus pumilus</i> CCMA 661 sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Tukey a 5%). As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.....	24
FIGURA 5	Efeito do Nemix® (<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i>) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-Knott a 5%). As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.....	25

CAPITULO 3	Produtos alternativos no controle do oídio da abobrinha	
FIGURA 1	Efeito do Kaligreen® sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a 5%).....	42
FIGURA 2	Efeito do bicarbonato de potássio (KHCO ₃) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a 5%). As barras são valores médios seguidos pelo erro padrão.....	43
FIGURA 3	Efeito do bicarbonato de sódio sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a a 5%). As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.....	43
FIGURA 4	Efeito do óleo de nim (MaxNeem®) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a 5%). As barras representam valores médios seguido do erro padrão.....	44
FIGURA 5	Efeito do extrato de alho (BioAlho®) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a 5%). As barras são valores médios acompanhados de seu erro padrão.....	45
FIGURA 6	Efeito do extrato de alho (BioAlho®) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por <i>Podosphaera fusca</i> em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a 5%). As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.....	45

FIGURA 7 Efeito da quitosana sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a 5%) de probabilidade. As barras são valores médios acompanhados de seu erro padrão..... 48

RESUMO

SANTOS, Andiale Pinto dos. **Controle do oídio da abobrinha com antagonistas e produtos biocompatíveis**. 2009. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*

A eficiência de antagonistas e de produtos biocompatíveis foram avaliados para o controle do oídio da abobrinha. Para tanto, sementes de abobrinha cv. Caserta foram semeadas em vasos plásticos de 5L contendo 25% de substrato à base de casca de *Pinus* + 75% de latossolo (v/v) e mantidas em casa de vegetação livre de inóculo do oídio. No estágio de primeira folha expandida, as plantas foram pulverizadas com os produtos e transferidas para casa de vegetação com alto potencial de inóculo do patógeno. 1) *Bacillus subtilis* QST 713 [1×10^9 ufc mL⁻¹, (Serenade®)] nas concentrações de 0%, 1%, 2% e 4%, diluídas em uma suspensão de leite a 10% e também nas concentrações de 10^8 , 10^7 , 10^6 e 0 ufc mL⁻¹, diluídas em água; 2) *Bacillus pumilus* CCMA-661 ($4,92 \times 10^9$ ufc mL⁻¹) nas concentrações de 0%, 1%, 2% e 4%, bem como o meio líquido para cultivo de *Bacillus*; 3) *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* [3,2 10^9 (Nemix®)] nas concentrações de 10^8 , 10^7 , 10^6 e 0 ufc mL⁻¹, diluídos em água; 4) *Lecanicillium longisporum* cepa ESALQ-1300 [1×10^8 conídios kg⁻¹, (Vertirril®)] nas concentrações de 10^7 , 10^6 e 10^5 ufc mL⁻¹, diluídos em leite a 10% e em água; 5) Óleo fixo de sementes de nim [0; 0,5%; 1%; 2% e 4%(v/v)]; 6) Extrato de alho [0%; 0,5%; 1%; 2%; 4%; 6%; 8% e 10% (v/v)]; 7) Kaligreen® [0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8, 1,5 e 3,0%(p/v)]; 8) Bicarbonato de sódio e bicarbonato de potássio [0; 0,5; 1 e 2%(p/v)]; 9) e quitosana (0; 25; 50; 100 e 200mg L⁻¹(p/v)]. As pulverizações foram realizadas semanalmente durante cinco semanas. As avaliações da severidade da doença foram realizadas semanalmente, estimando-se a porcentagem de tecido foliar coberto pelo patógeno. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Com os dados, foram calculadas as áreas abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), as quais foram submetidas à análise de variância e teste de médias ($p \leq 0,05$). *Bacillus subtilis* foi eficiente em controlar a doença nas concentrações de 4 e 2%, bem como a 10^8 e 10^7 ufc/mL; *Bacillus pumilus* e *Lecanicillium longisporum* não apresentaram efeito sobre a doença. Dos produtos biocompatíveis, o Kaligreen® a 1,5%, óleo de nim a 2% e o leite a 10% controlaram eficientemente o oídio da abobrinha.

Comitê orientador: Prof. Wagner Bettiol – Embrapa Meio Ambiente (Orientador); Prof. Eduardo Alves

ABSTRACT

SANTOS, Andiale Pinto dos. **Antagonists and biocompatible products for the control of zucchini squash powdery mildew**. 2009. 55p. Dissertation (Master of Science in Plant Pathology) – Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brazil*

Efficacy of antagonists and biocompatible products were evaluated for the control of zucchini squash powdery mildew. Seeds of zucchini squash cv. Caserta were sowed in plastic pots of 5L containing 25% of *Pinus* bark substrate and 75% of soil and keeping in greenhouse without inoculum of powdery mildew. On the stage of one expanded leaf the plants were sprayed with the products and transferred to greenhouse with high inoculum potential. 1) *Bacillus subtilis* QST 713 [1×10^9 ufc mL⁻¹, (Serenade®)] on concentration 0, 1, 2 and 4% in milk 10% and on concentration 10^8 , 10^7 , 10^6 and 0 ufc mL⁻¹ in water; 2) *Bacillus pumilus* CCMA-661 ($4,92 \times 10^9$ ufc mL⁻¹) on concentration 0%, 1%, 2% and 4% and liquid medium for *Bacillus* growth; 3) *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* [$3,2 \times 10^9$ (Nemix®)] on concentration 10^8 , 10^7 , 10^6 e 0 ufc/mL in water; 4) *Lecanicillium longisporum* cepa ESALQ-1300 [1×10^8 conidia kg⁻¹, (Vertirril®)] on concentration 10^7 , 10^6 e 10^5 (ufc mL⁻¹) in milk 10% and in water; 5) Fixed oil of seeds nim (0; 0,5%; 1%; 2% e 4%); 6) Garlic extract (0%; 0,5%; 1%; 2%; 4%; 6%; 8% e 10%); 7) Kaligreen® (0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8, 1,5 e 3,0%); 8) Sodium bicarbonate and potassium bicarbonate (0; 0,5; 1 e 2%); 9) and chitosan (0; 25; 50; 100 e 200mg L⁻¹). The pulverization was carried out once for week during five weeks. The avaliations of disease severity were carried out once for week estimating the percentage of leaf with pathogen. The experimental design was completely randomized with five replicates. With the data was calculated the area under of the disease progress the curve (AUDPC), which were subjected to analysis of variance and average test ($p \leq 0,05$). *Bacillus subtilis* was efficient to control the disease in concentrations of 4 and 2% and 10^8 e 10^7 ufc mL⁻¹; *Bacillus pumilus* and *Lecanicillium longisporum* no showed effect on the disease. The biocompatible products kaligreen® at 1,5%, nim oil at 2% and milk 10% effectively controlled powdery mildew in zucchini squash.

Advising Committee: Prof. Wagner Bettiol – Embrapa Meio Ambiente (Adviser); Prof. Eduardo Alves

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

Oídios são doenças de plantas causadas por fungos altamente evoluídos, sendo todos parasitas biotróficos obrigatórios, ou seja, só crescem no tecido vivo das plantas. Eles se situam entre os principais fitopatógenos, ocorrendo em todas as regiões do mundo e na maioria das espécies vegetais cultivadas. Embora raramente causem a morte das plantas, eles reduzem o potencial produtivo das culturas e podem afetar a qualidade do produto (Stadnik & Rivera, 2001). Os oídios, também conhecidos como cinza ou míldio pulverulento, são facilmente reconhecidos, pois formam colônias esbranquiçadas e de aspecto pulverulento na superfície das plantas, principalmente sobre a superfície das folhas.

O oídio da abobrinha, causado pelo fungo *Podosphaera xanthii* (syn. *P. fusca* (Castagne), é uma das principais doenças da cultura e de outras cucurbitáceas, principalmente em cultivo protegido. A doença ocorre em toda a parte aérea da planta, sendo mais abundante na superfície foliar. Os sintomas iniciam-se com um crescimento branco pulverulento, formado por micélio, conidióforos e conídios do fungo, ocupando pequenas áreas do tecido. A área afetada aumenta de tamanho e pode tomar toda a extensão do tecido devido à coalescência das manchas. Plantas atacadas perdem o vigor e a produção é prejudicada (Bettiol et al., 2005).

O controle dos oídios é realizado por meio do uso de variedades resistentes e de fungicidas. No caso dos fungicidas, apesar da eficiência, ocorrem diversos problemas relacionados com a seleção de linhagens resistentes do patógeno e com a contaminação ambiental do alimento e do aplicador. Os problemas com resistência são acentuados em cultivo protegido, principalmente para os fungicidas sistêmicos. Como a sociedade está exigindo uma produção de alimento que cause o menor impacto ambiental possível, se faz necessário o

desenvolvimento de alternativas aos fungicidas para o controle dos problemas fitossanitários.

Diversos produtos e técnicas são utilizados e pesquisados visando ao controle alternativo da doença. O uso do controle direto do patógeno pela ação de produtos de origem natural, de baixo impacto ambiental e inócuos ao homem e animais, está aumentando, principalmente em hortaliças e frutíferas (Venzon & Pallini, 2005). Produtos alimentares e aditivos de alimentos (lecitina de soja, glutamatos, bicarbonato de sódio, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido sórbico, polifosfato de sódio, éster de açúcar e leite entre outros) são pesquisados como alternativa viável para o controle de doenças de plantas, com resultados eficazes (Medeiros, 2006; Santos & Bettiol, 2008; Bizzi, 2006; Carneiro, 2003; Bettiol & Astiarraga, 1998).

O controle do oídio de diversas culturas com o uso de sais de fosfatos, é relatado para o controle do oídio da rosa (Reuveni et al., 1994), da nectarina, da manga e da uva (Reuveni et al., 1995). Também em pepino, o controle de oídio com a utilização de sais orgânicos e inorgânicos foi relatado por Reuveni et al. (1995) e Reuveni et al. (1996) em condições controladas. Sais como metabissulfito de sódio, carbonato de cálcio, ácido acético, ácido bórico e ácido ascórbico foram indicados para o controle de oídio por Bettiol (2003). Carneiro (2003) & Allan et al. (2006) verificaram que o óleo emulsionável de nim controlou o oídio do tomateiro e das cucurbitáceas, respectivamente.

Bettiol et al. (1999) descobriram o potencial do leite como alternativa para o controle do oídio da abobrinha. Posteriormente, foi comprovada a sua eficiência para o controle do oídio do quiabeiro (Bettiol & Astiarraga, 1999), da videira (Crisp et al., 2002), do trigo (Drury et al., 2003) e do eucalipto (Santos et al., 2003). Apesar de ter sido desenvolvido para a agricultura orgânica, também produtores convencionais vêm adotando este produto no controle de oídios. O leite é um produto alternativo de custo equivalente ou inferior aos dos fungicidas

recomendados (Crisp et al., 2004; Medeiros, 2006), encontrado em qualquer lugar do mundo, muitas vezes na própria propriedade, inócuo ao homem e ao ambiente e sem período de carência por ser um alimento. Bettiol et al. (2008) também demonstraram a eficiência do soro de leite para o controle de oídios.

Apesar da ampla utilização do leite e da sua eficiência no controle do oídio (Bettiol, 2003) e aos avanços em relação aos mecanismos de ação, atividade de frações e fontes do leite, os resultados não são conclusivos. Bettiol et al. (1999) sugeriram, como possíveis mecanismos de ação, a atividade germicida direta sobre o patógeno, indução de resistência do hospedeiro ou estímulo de potenciais antagonistas. Bettiol & Stadnik (2001) não encontraram resposta de indução de resistência, mas comprovaram a redução no desenvolvimento de colônias de oídio (número, tamanho e taxa de esporulação). Estes autores, assim como Crisp et al. (2004), comprovaram o potencial do leite no estímulo da microbiota epifítica. Estes últimos também observaram alterações na morfologia de hifas e conídios em videiras tratadas. Em relação à eficiência de frações do leite, até então, foi comprovada a atividade do soro, gordura e lactoferrina (Crisp et al., 2004).

Medeiros (2006) estudou os mecanismos de ação do leite no controle do oídio da abobrinha e verificou a formação de um filme na superfície das folhas, inibindo tanto a germinação, quanto a penetração do fungo. Além disso, verificou a pulverização de plantas de abobrinha com leite e estimulou o desenvolvimento de microrganismos epifíticos, envolvidos no controle do oídio. Estes atuaram concomitantemente ou após a germinação e penetração do patógeno em plantas tratadas com leite, foram observadas alterações sobre conídios e conidióforos e redução da germinação dos conídios, depositados na superfície foliar; aplicações de leite estimularam o desenvolvimento de leveduras sem atividade hiperparasítica detectável; as alterações sobre as estruturas do oídio, produzidas pelo leite, diferiram daquelas produzidas pelo

tratamento com fungicida; a exposição de conídios de oídio ao leite reduziu a sua germinação e a atividade foi maior à medida que se elevou a concentração de leite; a aplicação preventiva de leite não interferiu significativamente na germinação ou esporulação de *Podosphaera xanthii*; os leites cru ou pasteurizado foram eficientes no controle do oídio; a lactose foi uma das frações envolvidas no controle do oídio; os sais, na concentração equivalente a 30% daquela encontrada no leite, não foram os responsáveis pelo controle do oídio da abobrinha. Assim, os mecanismos de ação do leite podem ser explicados pela ação combinada de moléculas e microrganismos epifíticos.

O potencial de agentes de controle biológico, para o controle de oídio, é discutido por Bettiol & Stadnik (2001), os quais descrevem *Ampelomyces quisqualis*, *Verticillium lecanii*, *Ulocladium*, *Bacillus subtilis* e outros como antagonistas desse grupo de patógeno. Bettiol et al. (1997) verificaram que *B. subtilis* foi eficiente em controlar o oídio da abobrinha. Também Pertot et al. (2008) relataram controle do oídio em morango, com pulverizações com *A. quisqualis*, *B. subtilis* e *Trichoderma harzianum* T39. Szejnberg et al. (2004) e Bizi (2006) relataram o controle do oídio do pepino e do eucalipto com o fungo *Meira geulakonigii* e *Lecanicillium* sp., respectivamente.

Nesse contexto, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de agentes de controle biológico (*Bacillus subtilis*, *Bacillus Licheniformis*, *Bacillus pumilus* e *Lecanicillium longisporum*) e de produtos biocompatíveis (leite, óleo de nim, extrato de alho, quitosana, bicarbonato de sódio e de potássio) no controle do oídio da abobrinha.

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, E.J.; WILSON, M.J.; SEDDON, B.; PALOUKIDOU, E.; BOUQELLAH, N. Increased biocontrol efficacy of *Brevibacillus brevis* against cucurbit powdery mildew by combination with nim extracts. In: MEETING OF THE PHYTOPATHOGENS GROUP, 9., 2006, Belgium. **Resumos...** Belgium: Phytopathogens, 2006. p.52.

BETTIOL, W. Controle de doenças de plantas com agentes de controle biológico e outras tecnologias alternativas. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p.191-215.

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B. D. Controle de *Sphaerotheca fuliginea* em abobrinha com resíduo da fermentação glutâmica do melaço e produto lácteo fermentado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.431-435, jul./ago. 1998.

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B.D.; LUIZ, A.J.B. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. **Crop Protection**, Guildford, v.18, n8, p.489-492, Sept. 1999.

BETTIOL, W.; GARIBALDI, A.; MIGHELI, Q. *Bacillus subtilis* for the control of powdery mildew on cucumber and zucchini squash. **Bragantia**, Campinas, v.56, n.2, p.281-287, jul./dez. 1997.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M.A.B. Alguns métodos alternativos para o controle de doenças de plantas disponíveis no Brasil. In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J. de; PALLINI, A. (Ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa, MG: EPAMIG/CTZM, 2005. p.163-183.

BETTIOL, W.; SILVA, H.S.A ; REIS, R.C. Effectiveness of whey against zucchini squash and cucumber powdery mildew. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.117, n.1, p.82-84, June 2008.

BETTIOL, W.; STADNIK, M.J. Controle alternativo de oídios. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. p.165-192.

BIZI, R. M. **Alternativas de controle do mofo-cinzento e do oídio em mudas de eucalipto**. 2006. 80p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)–Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CARNEIRO, S.M.T.P.G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.29, n.3, p.262-265, jul./set. 2003.

CRISP, P.; SCOTT, E.; WICKS, T.; PALMER, L. Sustainable control of grapevine powdery mildew (*Uncinula necator*). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM FOR ORGANIC WINE GROWING, Stuttgart. **Resumos...** Stuttgart: Organic Europe, 2004. p.47-52.

CRISP, P.; SCOTT, E.S.; WICKS, T. Novel control of grapevine powdery mildew. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON GRAPEVINE POWDERY MILDEW AND DOWNY MILDEW, 4., 2002, Davis. **Resumos...** Davis: University of California, 2002. p.78-79.

DRURY, G.E.; KETTLEWELL, P.S.; JENKIMSON, P. The potential of milk and whey as fungicides against powdery mildew in wheat. **Tests of Agrochemicals and Cultivars**, London, v.24, n.3, p.26-27, Jan./Dec. 2003.

MEDEIROS, F.H.V. **Mecanismos de ação e atividade de frações do leite no controle biológico do oídio da abobrinha**. 2006. 64p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PERTOT, I.; ZASSO, R.; AMSALEM, L.; BALDESSARI, G. A.; ELAD, Y. Integrating biocontrol agents in strawberry powdery mildew control strategies in high tunnel growing systems. **Crop Protection**, Guildford, v.27, n.3/5, p.622-631, Mar./May 2008.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, F.L. Controlling powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber by foliar sprays of phosphate and potassium salts. **Crop Protection**, Guildford, v.15, n.1, p.49-53, Feb. 1996.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, R. Suppression of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) by foliar spray of phosphate and potassium salts. **Plant Pathology**, Oxford, v.44, n.1. p.31-39, Feb. 1995.

REUVENI, M.; REUVENI, R. Efficacy of foliar sprays of phosphates in controlling powdery mildews in field-grown nectarine, mango trees and grapevines. **Crop Protection**, Guildford, v.14, n.4, p.311-314, June 1995.

REUVENI, R.; REUVENI, M.; AGAPOV, V.; RAVIV, M. Effects of foliar sprays of phosphates on roses powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*). **Journal of Phytopathology**, Berlim, v.142, n.3-4, p. 331-337, Mar./Apr. 1994.

SANTOS, A.P. dos; BETTIOL, W. Potencial de *Lecanicillium longisporum* no controle do oídio da abobrinha. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.33, n.3, p.179, May/Jun. 2008. Suplemento.

SANTOS, C.A.G.; FURTADO, E.L.; SILVA, S.A. Controle de *Oidium* sp. Em mini-jardim clonal de eucalipto através de leite de vaca *in natura*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.29, n.1, p.51, jan. 2003. Suplemento.

STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 484p.

SZTEJNBERG, A.; PAZ, Z.; BOEKHOUT, T.; GAFNI, A.; GERSON, U. A new fungus with dual biocontrol capabilities: reducing the numbers of phytophagous mites and powdery mildew disease damage **Crop Protection**, Guildford, v.23, n.11, p.1125-1129, Nov. 2004.

VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa, MG: EPAMIG/CTZM, 2005.

CAPITULO 2

BIOAGENTES PARA O CONTROLE DO OÍDIO DA ABOBRINHA

RESUMO

O efeito de produtos comerciais, formulados à base de *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* e *Lecanicillium longisporum*, foi avaliado no controle do oídio da abobrinha. Sementes de abobrinha cv. Caserta foram semeadas em vasos plásticos contendo 25% de substrato comercial à base de casca de pinus + 75% de latossolo (v/v) e mantidos em casa de vegetação livre do inóculo do patógeno. Quando atingiram o estágio de primeira folha expandida, as plantas foram pulverizadas com os produtos biológicos e transferidas para casa de vegetação com alto potencial de inóculo de oídio a uma temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 60%. No primeiro ensaio avaliou-se a eficiência de um produto à base de *Bacillus subtilis* QST 713 [1×10^9 ufc mL^{-1} (Produto comercial Serenade®)] nas concentrações de 0%, 1%, 2% e 4%, diluídas em uma suspensão de leite de vaca a 10% e também nas concentrações de 10^8 , 10^7 , 10^6 e 0, diluídas em água. No segundo ensaio, avaliou-se a eficiência do caldo fermentado por *Bacillus pumilus* CCMA-661 [$4,92 \times 10^9$ ufc mL^{-1}] cultivada em meio líquido, nas concentrações de 0%, 1%, 2% e 4%, bem como o meio líquido usado para o cultivo da bactéria. No terceiro ensaio, avaliou-se o efeito de um produto à base da mistura de *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* [$3,2 \times 10^9$ ufc mL^{-1} (Produto comercial Nemix®)] nas concentrações de 10^8 , 10^7 , 10^6 e 0. No quarto ensaio avaliou-se o efeito de um produto à base de conídios viáveis de *Lecanicillium longisporum* cepa ESALQ-1300 [1×10^8 conídios kg^{-1} , (Produto comercial Vertirril®)] nas concentrações de 10^7 , 10^6 e 10^5 ufc mL^{-1} diluído em leite a 10%. Em todos os ensaios foram incluídos os tratamentos com leite a 10% e fungicida fenarimol (0,15ml L^{-1}). As pulverizações foram realizadas semanalmente, sendo o fungicida a cada 15 dias, durante cinco semanas. As avaliações da severidade da doença foram realizadas semanalmente, estimando-se a porcentagem de tecido foliar coberto pelo patógeno. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Com os dados foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) que foi submetido à análise de variância e teste de médias ($p \leq 0,05$). No ensaio com *Bacillus subtilis*, todos os tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha, sendo que as concentrações de 4 e 2%, bem como as de 10^8 e 10^7 ufc mL^{-1} do produto comercial foram as que melhor controlaram a doença. *Bacillus pumilus* e *Lecanicillium longisporum* não apresentaram efeito sobre a doença. Os resultados também comprovaram a eficiência do leite no controle do oídio.

Palavras-chave: *Podosphaera fusca*, antagonistas, controle alternativo, controle biológico, *Curcubita pepo*.

ABSTRACT

Efficacy of commercial products formulated with *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* and *Lecanicillium longisporum* was tested in greenhouse experiments for the control of powdery mildew on zucchini squash. Plants of zucchini squash cv. Caserta were grown in plastic pots containing 25% of commercial substrate *Pinus* bark and 75% of soil and kept in greenhouse without inoculum of pathogen. When reached the stage of one expanded leaf, the plants were sprayed with the biological products and transferred to greenhouse with high inoculum potential of powdery mildew, temperature $26 \pm 2^\circ\text{C}$ relative humidity 60%. On the first assay the efficacy of one product of *Bacillus subtilis* QST 713 [1×10^9 ufc mL^{-1} , (Serenade®)] on concentrations 0, 1, 2 and 4%, and on concentrations 10^8 , 10^7 , 10^6 and 0 ufc mL^{-1} . On the second assay the efficacy of *Bacillus pumilus* CCMA-661 [$4,92 \times 10^9$ ufc mL^{-1}] on concentrations 0%, 1%, 2% and 4% of liquid medium formulated by *Bacillus pumilus*. On the third assay the effect of one product *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* [$3,2 \times 10^9$ ufc mL^{-1} (Nemix®)] on concentrations 10^8 , 10^7 , 10^6 and 0 ufc mL^{-1} . On the fourth assay the effect of one product of *Lecanicillium longisporum* cepa ESALQ-1300 [1×10^8 conidios kg^{-1} , (Vertiril®)] on concentrations 10^7 , 10^6 and 10^5 ufc mL^{-1} . All the products were sprayed once a week. Additional treatments were fungicides (fenarimol 0.15 ml L^{-1}) sprayed every 15 days and milk applied once a week and water as a control treatment. Severity of the powdery mildew was visually evaluated on individual leaves at weekly intervals and the area under disease progress curve (AUDPC) was calculated. The analysis of variance and test of averages ($p \leq 0,05$) were performed. Experiments were set up in a randomized design with five replicates by treatment. Each replication consisted of one pot containing one plant. The temperatures in the greenhouse during the experiments varied between $26^\circ \pm 2^\circ\text{C}$. *B. subtilis* in the concentrations 2 and 4% and 10^8 and 10^7 ufc mL^{-1} was effective for the control of powdery mildew. *Bacillus pumilus* and *lecanicillium longisporum* were not effective in the control of powdery mildew. The results improved the efficacy of milk on the powdery mildew control.

Key words: *Podosphaera fusca*, antagonist, alternative control, biological control, *Curcubita pepo*.

1 INTRODUÇÃO

O controle biológico com antagonistas é uma alternativa atrativa e com grande potencial de uso. Espécies de *Bacillus* oferecem uma vantagem em relação a outros bioagentes de controle por produzirem endósporos que resistem a altas temperaturas e podem ser facilmente industrializados, além de sobreviverem às condições ambientais adversas, podendo melhorar a nutrição das plantas, pela solubilização de fósforo e disponibilização de nutrientes. Alguns isolados de *Bacillus subtilis* são relatados como promotores de crescimento de plantas ou antagonistas em vários patossistemas (Correa & Bettiol, 2008; Maffia et al., 2008; Korsten et al., 2006). Esse antagonismo pode ser por competição por nutrientes ou por espaço, por meio da colonização de estruturas do patógeno ou pelo mecanismo de indução de resistência. Entretanto, o mecanismo mais importante é a antibiose, haja visto que *Bacillus* spp. são produtores de diversas substâncias que inibem outros microrganismos (Bettiol et al., 2005). Bettiol et al. (1997) verificaram que *B. subtilis* foi eficiente em controlar o oídio da abobrinha, o mesmo ocorrendo com Pertot et al. (2008) no controle do oídio em morango.

Sadfi-Zouaoui et al. (2006) relataram controle de *Botrytis cinerea* do tomate com isolados de *B. subtilis* e *B. licheniformis* isoladas do solo. Segundo esses autores, o potencial antagonístico dessas bactérias pode está relacionado com sua habilidade em produzir antibióticos e uma variedade de enzimas extracelulares com atividade hidrolítica tais como quitinases, glucanases e proteases.

Os produtos comerciais Serenade® e Sonata ®, formulados à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus*, respectivamente, são registrados para o controle de oídio de diversas culturas (Edgecomb & Manker, 2008). O Vertirril® é um produto biológico produzido e comercializado no Brasil,

formulado à base de conídios viáveis do fungo *Lecanicillium longisporum* é indicado para o controle biológico da cochonilha ortézia dos citros, porém, alguns autores relataram o potencial desse fungo em controlar o oídio do eucalipto e do pepino, respectivamente (Bizi, 2006; Kim et al., 2008). Entretanto, necessitam ser testados e desenvolvidos no Brasil, pois podem representar uma alternativa para os agricultores para o controle do oídio de diversas culturas. O potencial de *Verticillium lecanii* no controle do oídio é discutido por Bettioli & Stadnik (2001).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de produtos biológicos à base de *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis* e *Lecanicillium longisporum* no controle do oídio da abobrinha.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Em todos os ensaios, foram utilizadas sementes de abobrinha cv. Caserta (Sakata® Seed Sudamerica Ltda), de hábito de crescimento determinado, suscetível ao oídio. As sementes foram semeadas em vasos plásticos de 5L, contendo uma mistura de 25% de substrato comercial à base de casca de pinus (Multiplant®) + 75% de latossolo e mantidas em casa de vegetação, livre de inóculo do oídio, sem controle de temperatura e umidade até atingirem o estágio de primeira folha expandida. Nesse estágio, as plantas foram pulverizadas com os produtos e transferidas para casa de vegetação com alto potencial de inóculo, com sistema de ar forçado e temperaturas de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de 60%, irrigadas diariamente com água de poço não clorada. Para a manutenção do alto potencial de inóculo, plantas doentes foram mantidas na casa de vegetação de forma que o sistema de circulação dispersasse os conídios do oídio pelas plantas saudáveis uniformemente e de forma natural, assemelhando-se ao máximo à infecção que ocorre em estufas comerciais ou no campo de cultivo. As mesmas eram removidas da casa de vegetação, logo que os primeiros sintomas da infecção por oídio eram observados nas plantas dos experimentos. A severidade da doença foi determinada durante semanalmente, estimando-se a porcentagem de tecido foliar coberto pelo patógeno (Bettioli et al., 1999), a partir do aparecimento das primeiras colônias na superfície da folha. Os valores das porcentagens foram transformados em área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Shaner & Finney, 1977) e realizadas análise de variância e testes de médias ($p \leq 0,05$).

2.1 Efeito de *Lecanicillium longisporum* (Vertirril®) no controle do oídio

Plantas de abobrinha no estágio de primeira folha expandida foram pulverizadas semanalmente com uma pistola de pintura, acoplada a um

compressor de ar, a uma pressão de 10 lb pol⁻² nas duas faces da folha com *Lecanicillium longisporum* cepa ESALQ-1300 (Vertirril®, Itaforte Bioprodutos Ltda, Brasil), nas concentrações de 10⁷, 10⁶ e 10⁵ conídios mL⁻¹, suspensos em leite de vaca pasteurizado tipo B a 10%, (Tabela 1) e nas mesmas concentrações em água. Esses tratamentos foram comparados com o leite de vaca pasteurizado tipo B a 10% pulverizado semanalmente e o fungicida fenarimol (Rubigan® Cross Link Consultoria e Comercio Ltda, Brasil) na concentração de 0,15ml L⁻¹, pulverizado uma vez a cada 15 dias, bem como com a testemunha (água). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições, sendo cada repetição composta por um vaso com uma planta. Os vasos foram remanejados de posição juntamente com as pulverizações.

TABELA 1 Composição do leite pasteurizado tipo “B” Jaguari®

Quantidade por porção (200ml)		% VD (*)
Valor calórico	160,0 kcal	6%
Carboidratos	11,0 g	3%
Proteínas	7,0 g	14%
Gorduras totais	9,0 g	11%
Gorduras saturadas	6,0 g	24%
Gorduras trans	0 g	0%
Fibra alimentar	0 g	0 %
Cálcio	290,0 mg	36%
Sódio	120,0 mg	5%
Ferro	0,1mg	1%

*Valor de referência para uma dieta de 2.000 calorias.

2.2 Efeito de *Bacillus subtilis* (Serenade®) no controle do oídio

Seguindo metodologia descrita anteriormente, bem como as condições de experimentação, avaliou-se o efeito de um produto comercial à base de *Bacillus subtilis* estirpe QST 713 contendo 1x10⁹ ufc mL⁻¹ (Serenade® AgraQuest Inc., USA) nas concentrações de 0, 1, 2 e 4% (v/v), diluídos em leite

de vaca pasteurizado tipo B a 10% no controle do oídio. Avaliou-se também o produto nas concentrações de 0, 10^6 , 10^7 e 10^8 ufc mL⁻¹, diluído em água.

2.3 Efeito de *Bacillus pumilus* no controle do oídio

Para avaliar o efeito de *Bacillus pumilus* o isolado CCMA – 661, pertencente à coleção de culturas da Embrapa Meio Ambiente, foi multiplicado em meio líquido (Tabela 2), e o caldo fermentado foi diluído em leite de vaca pasteurizado tipo B a 10% nas concentrações de 0, 1, 2 e 4% (v/v) e o meio líquido utilizado para o cultivo da bactéria foram pulverizados semanalmente para o controle do oídio da abobrinha. A condução do experimento e as avaliações foram semelhantes às descritas anteriormente.

TABELA 2 Composição do meio de cultura líquido utilizado para cultivo de *Bacillus pumilus*.

Reagente	Quantidade (g/L)
Extrato de leveduras (yeast extract)	13,3
Açúcar cristal (sugar)	10
Fosfato de potássio monobásico (KH ₂ PO ₄)	4,9
Sal de cozinha (NaCl)	2,5
Sulfato de magnésio (MgSO ₄)	0,25
Sulfato de manganês (MnSO ₄)	0,10

2.4 Efeito da mistura de *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* no controle do oídio

Estudou-se o efeito de um produto comercial (Nemix® Chr. Hansen Ind. and Com. Ltda, Brasil) à base de *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* contendo $3,2 \times 10^9$ ufc g⁻¹ nas concentrações de 0, 10^6 , 10^7 e 10^8 ufc mL⁻¹, diluído em água, pulverizado semanalmente para o controle do oídio da abobrinha, utilizando-se as mesmas metodologias descritas anteriormente.

2.5 Efeito de agentes de controle biológico sobre a germinação dos conídios de *Podosphaera fusca*

Plantas de abobrinha cv. Caserta foram cultivadas conforme descrito anteriormente em vasos plásticos de 1L, mantidas em casa de vegetação livre de inóculo de oídio à temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$. No estágio de primeira folha expandida foram pulverizadas com os produtos: 1) *B. pumillus* CCMA-661 (0, 1, 2 e 4%) diluídos em leite 10% e o meio líquido para cultivo de *Bacillus*; 2) *B. subtilis* estirpe QST 713 (0, 1, 2 e 4% ufc mL^{-1}), diluído em leite 10% e 10^6 , 10^7 e 10^8 ufc mL^{-1} , diluído em água; 3) *B. subtilis* + *B. licheniformis* (10^8 ; 10^7 e 10^6 ufc mL^{-1}), diluído em água; 4) *L. longisporum* cepa ESALQ-1300 na concentração de 10^7 conídios mL^{-1} , diluído em leite 10% e em água. Duas horas após a pulverização, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de $9,6 \times 10^5$ conídios mL^{-1} de *P. fusca*. O inóculo foi obtido de plantas de abobrinha cv. Caserta em ativa esporulação e os esporos coletados com pincel de pintura de cerdas macias e água. Decorridas 12h da inoculação coletaram-se 5 discos/tratamento das folhas cotiledonares com furador metálico de 110 mm de diâmetro (\emptyset) e processados de acordo com protocolo adaptado de Stadnik & Buchenauer (2000). Os discos foram acondicionados imediatamente, após a coleta em placas de petri tampadas, contendo 5ml de etanol:ácido acético glacial [3:1(v/v)] para fixação e clareamento dos tecidos e mantidos em capela com fluxo ligado por 24h. Decorrido esse tempo os discos foram transferidos para placas de petri contendo uma solução de lactoglicerol 1:1:1 (v/v) [ácido láctico, glicerol e água] para conservação dos tecidos e montados em lâminas para microscopia, as estruturas do fungo sobre os discos foram coradas com azul de algodão em lactofenol a 0,1% (v/v) e observadas em microscópio óptico (Dilux 22-Leitz wetzlar Germany) com objetiva de 25x. Avaliou-se a germinação de todos os conídios presentes em cada disco, considerando como germinados

todos os conídios com tubo germinativo formado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo que cada disco constituiu uma unidade experimental. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott ($p \leq 0,05$), usando o software SASM®.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito de *Lecanicillium longisporum* no controle do oídio

Pulverizações com *Lecanicillium longisporum* não reduziram a severidade do oídio da abobrinha (Figura 1). A mistura de leite de vaca a 10% e diferentes concentrações do antagonista não promoveram acréscimo no controle da doença. Não houve diferença estatística entre as diferentes concentrações de *L. longisporum* e o tratamento controle, pulverizado apenas com água destilada autoclavada (Tukey a 5%). Estes resultados convergem com os de Bizi (2006) que observou uma redução de apenas 33,9% na severidade do oídio de plantas de eucalipto, tratadas com esse fungo. Kim et al. (2009, 2007), trabalhando com plantas de pepino, observaram que pulverizações com um produto comercial (Vertalec®), formulado à base de conídios viáveis do mesmo fungo controlou o oídio dessa cultura, reduzindo a produção de conídios. Os autores verificaram não houve diferença entre o número de pulverizações de Vertalec® (uma ou duas vezes por semana) no controle do oídio. Como *L. longisporum* necessita de alta umidade do ar para se desenvolver, possivelmente a baixa umidade relativa do ar no período dos experimentos tenha sido limitante para o seu desenvolvimento e, conseqüentemente, para reduzir a severidade do oídio. É importante salientar que esse fungo é comercializado como inseticida biológico, recomendado para o controle biológico da cochonilha ortézia em citros. De acordo com Bettioli & Stadnik (2001), para a maioria dos antagonistas a exigência de alta umidade relativa tem sido o fator limitante para o sucesso no controle. Assim, quando as condições ambientais são ideais para o desenvolvimento do oídio (baixa umidade do ar) não o são para o crescimento do antagonista. O alto potencial de inóculo do oídio no período dos experimentos pode ter sido outro fator limitante para o antagonista.

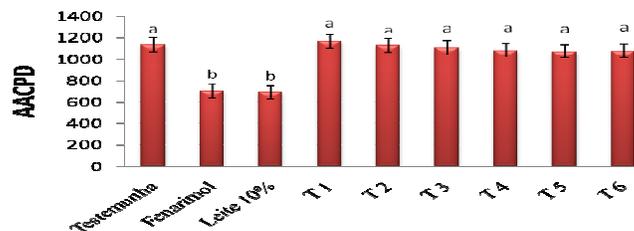


FIGURA 1 Efeito do Vertirril® (*Lecanicillium longisporum*) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podospaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão. T1 (*L. longisporum* 10^5 em água), T2 (*L. longisporum* 10^6 em água), T3 (*L. longisporum* 10^7 em água), T4 (*L. longisporum* 10^5 em leite a 10%), T5 (*L. longisporum* 10^6 em leite 10%) T6 (*L. longisporum* 10^7 em leite 10%)

3.2 Efeito do *Bacillus subtilis* QST 713 no controle do oídio

Pulverizações com o produto comercial Serenade® à base de *Bacillus subtilis* QST 713 nas concentrações de 1, 2 e 4% (Figura 2) e 10^8 e 10^7 ufc mL⁻¹ (Figura 3) controlaram eficientemente o oídio da abobrinha, promovendo redução na área abaixo da curva de progresso da doença, diferindo estatisticamente da testemunha. O controle foi diretamente proporcional à concentração do produto pulverizado. No primeiro ensaio (Figura 2) em que se avaliou o efeito do Serenade®, nas concentrações de 1, 2 e 4%, combinado com leite de vaca, observou-se que as maiores concentrações do produto promoveram maior redução na AACPD e na severidade da doença. A concentração do produto a 2% proporcionou 88,7% de controle, enquanto que a 4% o controle foi de 93,8% da doença, sendo essas concentrações mais eficientes que o fungicida padrão utilizado com 62,6% de controle. Por sua vez, a concentração de 1% não diferiu estatisticamente do tratamento químico. No segundo ensaio, onde se avaliou o efeito do mesmo produto nas concentrações 0, 10^6 , 10^7 e 10^8 ufc mL⁻¹, foi verificado que a concentração 10^8 ufc mL⁻¹ proporcionou o maior controle da

doença, diferindo de todos os demais tratamentos. Nessa concentração o controle foi de 89,5%, portanto, mais eficiente que as concentrações de 1 e 2%. Na concentração de 10^7 ufc mL⁻¹, o controle foi de 61,1%, sendo mais eficiente que a concentração de 1% respectivamente, não diferindo, no entanto, dos tratamentos com leite e fungicida. A baixa eficiência do fungicida padrão, no segundo ensaio, provavelmente se deve à perda de sua eficiência pela seleção de isolados resistentes do patógeno devido aos sucessivos ciclos secundários de infecção e a forte pressão de inóculo, existente no interior da casa de vegetação. Esse fato também foi verificado por Mattos (2007) e Medeiros (2006) trabalhando com o mesmo fungicida.

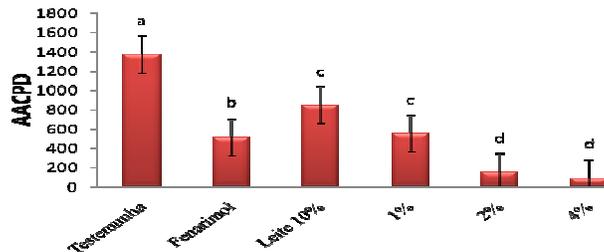


FIGURA 2 Efeito do *Bacillus subtilis* estirpe QST 713(Serenade®), sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podospheara fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.

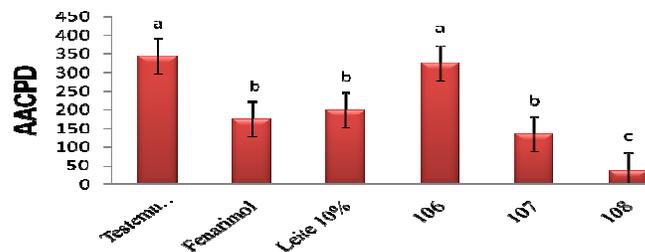


FIGURA 3 Efeito do *Bacillus subtilis* estirpe QST 713(Serenade®), sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo (Tukey 5%). As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.

A combinação de leite com a bactéria proporcionou um acréscimo no controle da doença. Em contrapartida, Serenade® na concentração 10^6 ufc mL⁻¹ não diferiu estatisticamente da testemunha, indicando que pulverizações com concentrações menores que 10^7 ufc mL⁻¹ do produto não reduz a severidade da doença. As espécies de *Bacillus* são conhecidas pela sua ação antagônica a diversos fitopatógenos. Edgecomb & Manker (2006), trabalhando com a mesma estirpe de *Bacillus*, spp, relataram controle do oídio das cucurbitáceas, uva, alface e pimentão entre outras culturas. Segundo Stadnik & Talamini (2004), *Bacillus subtilis* é usado com sucesso há vários anos no Chile, para controlar o oídio e a podridão cinzenta da uva, e também, menos frequentemente, em outras culturas. Os autores sugerem que a bactéria atua de forma preventiva, interferindo na aderência do patógeno na folha e no seu desenvolvimento posterior. Korsten et al. (2006) estudando o modo de ação de *B. subtilis* contra *Colletotrichum gloeosporioides*, observaram por meio de microscopia eletrônica de varredura que a bactéria age diretamente contra o patógeno, inibindo a germinação dos conídios, colonizando suas hifas e destruindo o crescimento dos patógenos por meio da perfuração das membranas do tubo germinativo e do micélio. Além disso, seus metabólitos ativam o sistema de defesa da planta.

Jourdan et al. (2006) relataram que lipopeptídeos, produzidos por *B. subtilis*, estão envolvidos com a indução de resistência (ISR) em feijão. Edgecomb & Manker (2008) indicam que o *B. subtilis* QST 713 age colonizando a filosfera e competindo com os patógenos por nutrientes e espaço, prevenindo o ataque e a penetração do patógeno. Além disso, age por antibiose, produzindo metabólitos como os lipo-peptídeos (iturinas, agrastatinas/plipastatinas e surfactinas), que inibem a germinação de esporos, o crescimento do tubo germinativo e destrói as membranas dos patógenos. Por exemplo, para *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructicola* e *Alternaria brassicicola*, as iturinas apresentam EC₅₀ abaixo de 15 ppm, 30 ppm e 5 ppm (50% inibição da germinação dos esporos), respectivamente. No entanto, como nos ensaios realizados não foi testada a ação da cultura pura de *B. subtilis*, torna-se necessária a realização de novos ensaios para comprovar seu efeito sobre o oídio da abobrinha.

3.3 Efeito de *Bacillus pumilus* no controle do oídio

Bacillus pumilus CCMA 661 não foi eficiente no controle do oídio da abobrinha (Figura 4). Este fato é verificado pelo efeito do meio líquido para cultivo do *Bacillus* o qual proporcionou 90,4% de controle em relação à testemunha, sendo mais eficiente que o fungicida padrão utilizado com 73% e o leite com 86,8% de controle. O meio de cultura, por ser rico em nutrientes, pode ter proporcionado um ambiente propício para o estabelecimento de uma microbiota especializada que atuou no controle do oídio, por meio de ação direta de metabólitos produzidos ou por competição por espaço e/ou alimento.

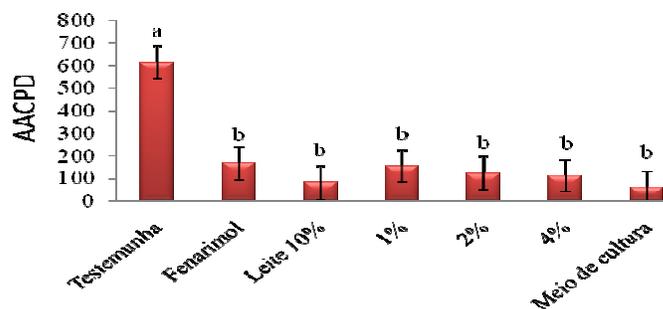


FIGURA 4 Efeito do *Bacillus pumilus* CCMA 661 sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podospaera fusca* em abobrinha, nas concentrações de 1, 2 e 4% (v/v) diluídas em água. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.

O meio de cultura, por levar em sua fórmula sulfatos de magnésio ($MgSO_4$) e manganês ($MnSO_4$), cloreto de sódio ($NaCl$) e fosfato de potássio monobásico (K_3HPO_4), relatados por diversos autores como sais eficientes no controle do oídio (Reuveni et al., 1994, 1995, 1996; Homma et al., 1981) pode ter proporcionado controle da doença, agindo diretamente nos conídios de *P. fusca*, causando lise da parede celular e murchamento dos conídios, devido à diferença de potencial osmótico, induzindo algum tipo de resistência na planta ou, até mesmo, impossibilitando a fixação e desenvolvimento dos conídios na superfície das folhas. Como nos ensaios realizados não foi possível avaliar o mecanismo de indução de resistência, nem a ação da cultura pura de *B. pumilus*, torna-se necessária a realização de novos ensaios para comprovar o efeito do antagonista sobre o oídio da abobrinha, assim como outros experimentos visando elucidar os possíveis mecanismos de ação do meio de cultura. Os resultados obtidos diferem das afirmações de Edgecomb & Mankey (2008), os quais indicam que *B. pumilus* é eficiente para o controle de oídios de diversas

culturas. Possivelmente, o efeito de isolados seja responsável pelos resultados conflitantes.

3.4 Efeito da mistura de *B. subtilis* + *B. licheniformis* no controle do oídio

Pulverizações com o produto Nemix®, contendo uma mistura de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* na concentração de 10^6 ufc mL^{-1} , controlou a doença do mesmo modo que o fungicida padrão utilizado (Figura 5). No entanto, não foi observada diferença estatística entre as concentrações maiores que 10^6 conídios mL^{-1} do produto e a testemunha pelo teste de Scott-Knott a 5%. A concentração de 10^6 ufc mL^{-1} controlou respectivamente 52,2% da doença, não diferindo estatisticamente do fungicida com 49,7% e do leite de vaca a 10% com 42,4% de controle respectivamente. As concentrações 10^7 e 10^8 ufc mL^{-1} não diferiram da testemunha. O Nemix® é um condicionador de solos recomendado para o controle de nematóides, composto por bactérias do gênero *Bacillus* que colonizam a rizosfera e se alimentam dos exsudados radiculares, digerindo-os e devolvendo alguns minerais à planta na forma inorgânica (Agrosafra Semente, 2007).

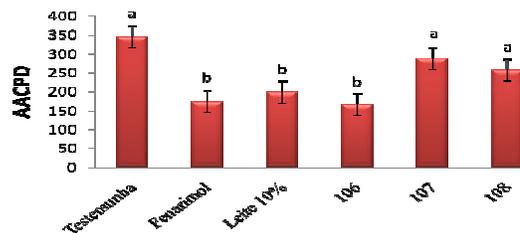


FIGURA 5 Efeito do *B. subtilis* + *B. licheniformis* (Nemix®) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%. As barras são valores médios acompanhadas de seu erro padrão.

3.5 Efeito dos bioagentes sobre a germinação dos conídios de *P. fusca*.

Todos os agentes de controle biológico testados promoveram algum tipo de inibição da germinação dos conídios de oídio, sendo que a maior porcentagem de inibição da germinação dos conídios de *Podosphaera fusca* está relacionada com o meio de cultura líquido para cultivo de *Bacillus* o qual promoveu 54% de inibição, seguido dos tratamentos com Nemix® nas concentrações de 10^7 e 10^8 ufc mL⁻¹ apesar dessas concentrações do Nemix® não terem mostrado efeito algum em reduzir a severidade do oídio estes resultados sugerem que o antagonista nessas concentrações atua diretamente nos conídios do oídio inibindo sua germinação através da síntese de substâncias inibitórias, tendo um efeito protetor atuando antes da instalação da infecção no campo de cultivo (Tabela 3). Sereande® na concentração de 4% inibiu 40,5% da germinação dos conídios. A porcentagem de inibição foi diretamente proporcional a concentração do produto. Serenade® [*Bacillus subtilis* estirpe QST 713] a 4% inibiu 40,54% dos conídios e as concentrações de 2 e 1% inibiram cada uma 22,5% e 22,9% respectivamente. Estes resultados indicam que a bactéria atua diretamente sobre os conídios de *Podosphaera fusca* inibindo sua germinação através da produção de substâncias inibitórias ou por competição por nutrientes e espaço. Edgecomb & Manker (2008) trabalhando com o mesmo isolado sugeriram que a bactéria atua colonizando a filosfera e competindo com os patógenos por nutrientes e espaço, prevenindo o ataque e a penetração do patógeno. Além disso, age por antibiose produzindo metabólitos como os lipo-peptídeos (iturinas, agrastatinas/plipastatinas e surfactinas), que inibem a germinação de esporos, o crescimento do tubo germinativo e destrói as membranas dos patógenos. Korsten et al, 2006, estudando o modo de ação de espécies de *Bacillus* verificaram que *Bacillus subtilis* age, diretamente sobre *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de abacate, produzindo metabólitos inibitórios, voláteis, sideroforos e enzimas “in vitro”. Estes resultados indicam

que para alguns dos antagonistas a inibição da germinação dos conídios de *P. fusca* é importante no controle da doença. O leite de vaca a 10% promoveu a germinação dos conídios do patógeno, estes resultados corroboram com os obtidos por Medeiros (2006) e Mattos (2007). O fungicida utilizado atua por contato assim como o *Lecanicillium longisporum* diluído em leite e em água.

TABELA 3 Efeito do *Bacillus pumilus* CCMA 661, *Bacillus subtilis* QST 713 (Serenade®), *Lecanicillium longisporum* (Vertirril®) e da mistura de *Bacillus subtilis* + *Bacillus licheniformis* (Nemix®) sobre a germinação dos conídios de *Podosphaera fusca* em discos foliares de abobrinha.

Tratamento	% inibição
Fenarimol	-18,9b
Leite 10%	-7,5b
<i>Bacillus subtilis</i> 1%	22,9a
<i>Bacillus subtilis</i> 2%	22,5a
<i>Bacillus subtilis</i> 4%	40,54a
<i>Bacillus pumilus</i> 1%	27,2a
<i>Bacillus pumilus</i> 2%	34,8a
<i>Bacillus pumilus</i> 4%	17,5a
Meio de cultura	54,0a
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i> 10 ⁶	24,2a
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i> 10 ⁷	47,1a
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus licheniformis</i> 10 ⁸	47,1a
<i>Lecanicillium longisporum</i> 10 ⁷	5,0b
<i>Lecanicillium longisporum</i> 10 ⁷ + leite 10%	-0,7b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-Knott 5%).

4 CONCLUSÃO

Bacillus subtilis QST 713, nas concentrações de 2 e 4% (v/v) e 10^8 ufc mL⁻¹, constitui uma alternativa viável para o controle do oídio da abobrinha, podendo ser utilizado sozinho em pulverizações foliares ou em combinação com o leite de vaca a 10%.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROSAFRA SEMENTES. **Nemix**. 2007. Disponível em:
<<http://www.agrosafra.agr.br/site/produtos/biologicos/nemix/index.htm>>.
Acesso em: 5 maio 2008.
- BETTIOL, W.; GARIBALDI, A.; MIGHELI, Q. *Bacillus subtilis* for the control of powdery mildew on cucumber and zucchini squash. **Bragantia**, Campinas, v.56, n.2, p.281-287, jul./dez. 1997.
- BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M.A.B. Alguns métodos alternativos para o controle de doenças de plantas disponíveis no Brasil. In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J. de; PALLINI, A. (Ed.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa, MG: EPAMIG/CTZM, 2005. p.163-183.
- BETTIOL, W.; STADNIK, M.J. Controle alternativo de oídios. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. p.165- 192.
- BIZI, R.M. **Alternativas de controle do mofo-cinza e do oídio em mudas de eucalipto**. 2006. 80p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)– Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- CORREA, E.B.; BETTIOL, W. Controle da podridão de raiz e promoção de crescimento em alface hidropônica com bactérias gram-positivas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.34, p. 165, fev. 2008. Suplemento.
- EDGECOMB, D.W.; MANKER, D.C. *Bacillus subtilis* QST 713, use in integrated pest management. In: MEETING OF THE PHYTOPATHOGENS GROUP, 9., 2006, Belgiu. **Resumos...** Belgium: Phytopathogens, 2006. p.76.
- EDGECOMB, D.W.; MANKER, D.C. Serenade® (*Bacillus subtilis* strain QST 713) and Sonata® (*Bacillus pumilus* strain QST2808), new biological tools for integrated and organic disease control programs. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v.34, p.196-199, fev. 2008. Suplemento.
- HOMMA, Y.; ARIMOTO, Y.; MISATO, T. Effect of sodium bicarbonate on each growth stage cucumber powdery mildew fungus (*Sphaerotheca fuliginea*) in its life cycle. **Journal of Pesticides Science**, Nagoya, v.6, n.2, p.201-209, June 1981.

JOURDAN, E.; ONGENA, M.; ADAM, A.; THONART, P. PGPR-Induced systemic resistance: activity of amphiphilic elicitors and structural analogues on different plant species. In: MEETING OF THE PHYTOPATHOGENS GROUP, 9., 2006, Belgium. **Resumos...** Belgium: Phytopathogens, 2006. p.24.

KIM, J.J.; GOETTEL, M.S.; GILLESPIE, D.R. Evaluation of *Lecanicillium longisporum*, vertalec for simultaneous suppression of cotton aphid, *Aphis gossypii*, and cucumber powdery mildew, *Sphaerotheca fuliginea*, on potted cucumbers. **Biological Control**, Orlando, v.45, n.5, p.404-409, June 2009.

KIM, J.J.; GOETTEL, M.S.; GILLESPIE, D.R. Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. **Biological Control**, Orlando, v.40, n.3, p.327-332, Mar. 2007.

KORSTEN, L.; HAVENGA, W.; ZEEMAN, K. Mode of action of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent of avocado post-harvest diseases. In: MEETING OF THE PHYTOPATHOGENS GROUP, 9., 2006, Belgium. **Resumos...** Belgium: Phytopathogens, 2006. p.52.

KORSTEN, L.; HAVENGA, W.; ZEEMAN, K.; REGNIER. Mode of action of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent of fruit diseases. In: MEETING OF THE PHYTOPATHOGENS GROUP, 9., 2006, Belgium. **Resumos...** Belgium: Phytopathogens, 2006. p.20.

MATTOS, L.P.V. **Potencial do hidrolisado de peixe para o controle de fitopatógenos**. 2007. 59p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MEDEIROS, F.H.V. **Mecanismos de ação e atividade de frações do leite no controle biológico do oídio da abobrinha**. 2005. 64p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PERTOT, I.; ZASSO, R.; AMSALEM, L.; BALDESSARI, G. A.; ELAD, Y. Integrating biocontrol agents in strawberry powdery mildew control strategies in high tunnel growing systems. **Crop Protection**, Guildford, v.27, n 3-5. p. 622-631, Mar./May 2008.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, F.L. Controlling powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber by foliar sprays of phosphate and potassium salts. **Crop Protection**, Guildford, v.15, n.1, p.49 -53, Feb. 1996.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, R. Suppression of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) by foliar spray of phosphate and potassium salts. **Plant Pathology**, Oxford, v.44, n.1, p.31-39, Feb. 1995.

REUVENI, R.; REUVENI, M.; AGAPOV, V.; RAVIV, M. Effects of foliar sprays of phosphates on roses powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*). **Journal of Phytopathology**, Berlim, v.142, n.3-4, p. 331-337, Mar./Apr. 1994.

SADFI-ZOUAOU, N.; ESSGHAIER, B.; HAJLAOUI, M.R.; ACHBANI, H.; BOUDANOUS, A. Ability of the antagonistic bacteria *Bacillus cinerea* on fresh-market tomatoes. In: MEETING OF THE PHYTOPATHOGENS GROUP, 9., 2006, Belgium. **Resumos...** Belgium: Phytopathogens, 2006. p.11.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildew ingresistance in knox wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v.67, n.12, p.1051-1056, Dec. 1977.

STADNIK, M. J.; BUCHENAUER, H. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Cambridge, v.57, n.1, p.25-34, July 2000.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. Legislação e uso de produtos fitossanitários naturais em países do cone sul. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. p.63-82.

CAPÍTULO 3

PRODUTOS ALTERNATIVOS PARA O CONTROLE DO OÍDIO DA ABOBRINHA

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes produtos alternativos (óleo de nim, extrato de alho, bicarbonato de sódio, bicarbonato de potássio e quitosana) no controle do oídio da abobrinha. Sementes de abobrinha cv. Caserta foram semeadas em vasos plásticos de 5L, contendo 25% de substrato à base de casca de pinus + 75% de solo (v/v) e mantidos em casa de vegetação livre do inóculo de oídio. Quando atingiram o estágio de primeira folha expandida, foram pulverizadas com os produtos e transferidas para casa de vegetação com alto potencial de inóculo de oídio a uma temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 60%, durante cinco semanas. Avaliou-se o efeito da pulverização semanal do: 1) óleo fixo de sementes de nim a 0; 0,5%; 1%; 2% e 4% (v/v); 2) extrato de alho a 0%; 0,5%; 1%; 2%; 4%; 6%; 8% e 10% (v/v); 3) Kaligreen® a 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,5 e 3,0% (p/v); 4) bicarbonato de sódio e bicarbonato de potássio a 0; 0,5; 1 e 2% (p/v); e 5) quitosana a 0; 25; 50; 100 e 200mg L⁻¹ (p/v). Em todos os ensaios foram utilizados como tratamentos padrão o leite de vaca a 10% e fungicida fenarimol a 0,15ml L⁻¹, pulverizado a cada 15 dias. As pulverizações e avaliação da severidade da doença foram realizadas semanalmente durante cinco semanas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Com os dados foram calculadas as áreas abaixo da curva do progresso da doença, as quais foram submetidas à análise de variância e teste de médias ($p \leq 0,05$). Bicarbonato de potássio (Kaligreen®) a 1,5%, óleo de nim a 2% e leite a 10% controlaram eficientemente o oídio da abobrinha. Por outro lado, quitosana não foi eficiente em controlar a doença.

Palavras-chave: *Podospaera fusca*, antagonistas, controle alternativo, controle biológico, *Curcubita pepo*.

ABSTRACT

The work objective evaluated the effect of different alternatives products (nim oil, garlic extract, sodium bicarbonate, potassium bicarbonate and chitosan) for the powdery mildew control on zucchini squash. Seeds of zucchini squash cv. Caserta were sowed in plastic pots containing 25% of *Pinus* bark substrate + 75% of soil and keeping in a greenhouse without powdery mildew inoculum. On the stage first leaf expanded the plants were sprayed with the products and transferred to greenhouse with high potential inoculum of powdery mildew inoculum for temperature $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and UR 60%, for Five weeks. Evaluated the effect of week spray of: 1) Fixed nim oil 0; 0,5%; 1%; 2% and 4%; 2) Garlic extract 0%; 0,5%; 1%; 2%; 4%; 6%; 8% and 10% ; 3) Kaligreen® 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8, 1,5 and 3,0%; 4) Sodium bicarbonate and potassium bicarbonate 0; 0,5; 1 and 2%; 5) Chitosan 0; 25; 50; 100 and 200mg L⁻¹. Additional treatments were fungicides (fenarimol 0.15 ml L⁻¹) sprayed every 15 days and milk applied once a week and water as a control treatment. Severity of the powdery mildew was visually evaluated on individual leaves at weekly intervals and calculated area under disease progress curve (AUDPC) which had been submitted the analysis of variance and test of averages ($p \leq 0,05$). Experiments were set up in a randomized design with five replicates per treatment. Each replication consisted of one pot containing one plant. The temperatures in the greenhouse during the experiments varied between $26^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Kaligreen® (1.5%), nim oil (2%) and milk (10%) were effective to control of powdery mildew in zucchini squash. Forthermore, chitosan and garlic extract were not effective in the control of powdery mildew.

Key words: *Podosphaera fusca*, antagonist, alternative control, biological control, *Curcubita pepo*.

1 INTRODUÇÃO

As doenças conhecidas como oídio atacam diversas culturas em todo o mundo causando grandes perdas nas lavouras, sobretudo em cultivo protegido onde as condições favoráveis e a seleção de raças, resistentes do patógeno dificultam seu controle (Stadnik & Rivera, 2001). Com a restrição ao uso de fungicidas devido à resistência pelo patógeno, à fitotoxidade e aos efeitos residuais que são maléficos à natureza, devem-se buscar medidas alternativas de controle, tais como o uso de produtos naturais eficientes e de baixo impacto ambiental. Os resultados alcançados nessa linha de pesquisa são promissores para uma utilização prática no controle de fitopatógenos em diversas culturas (Moreira et al., 2002). Diversos trabalhos, utilizando substâncias inorgânicas, óleos essenciais e extratos vegetais de plantas medicinais, foram realizados, visando comprovar a ação direta na inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios de patógenos causadores de doenças em partes aéreas. Como exemplos desses defensivos naturais no controle de fitopatógenos, tem-se o controle da mancha-marrom (*Bipolaris sorokiniana*) em trigo, utilizando extrato aquoso de *Artemisia camphorana*; do oídio (*Oidium lycopersici*) do tomateiro, com óleo emulsionável de *Azadirachia indica*; do óleo essencial de tomilho a 0,3% na redução da severidade da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhigi*) em plantas de soja; do oídio do tomateiro com o uso de extratos de *Reynoutria sachalinensis* (Pajot et al., 2001; Carneiro, 2003; Franzener et al., 2003; Konstantinidou-Doltsinis et al., 2006).

Faoro et al. (2008) verificaram que pulverizações com quitosana e benzothiadiazole (um análogo do ácido salicílico) induziram resistência sistêmica adquirida (SAR) em plantas de cevada (*Hordeum vulgare*) contra oídio (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*).

Dentre os principais produtos alternativos testados, alguns são compostos de um ou vários sais de potássio, fosfato, sódio, silício, cal, argila e materiais antitranspirantes (Ziv & Zitter, 1992; Reuveni et al., 1995; Garibaldi et al., 1994; Marco et al., 1994), bicarbonato de sódio (Homma et al., 1981); biofertilizantes (Bettiol, 1996; Bettiol et al., 1998; Ishida et al., 2001); extratos de planta (Pasini et al., 1997; Stadnik et al., 2003) e óleos vegetais e sintéticos (Pasini et al., 1997), sendo que a combinação de mais de um método alternativo pode ter efeito aditivo ou sinérgico como foi observado por Ziv & Zitter (1992).

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do óleo fixo de sementes de nim (*Azadirachta indica*), do extrato de alho (*Allium sativum*), da quitosana e de sais de potássio e de sódio no controle do oídio da abobrinha.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Em todos os ensaios foram utilizadas sementes de abobrinha cv. Caserta (Sakata® Seed Sudamerica Ltda), de hábito de crescimento determinado, suscetível ao oídio. As sementes foram semeadas em vasos plásticos de 5L contendo uma mistura de 25% de substrato comercial à base de casca de pinus + 75% de latossolo e mantidas em casa de vegetação livre de inóculo do oídio, sem controle de temperatura e umidade. Quando atingiram o estágio de primeira folha expandida, as plantas foram pulverizadas com os produtos e transferidas para casa de vegetação com alto potencial de inóculo, com sistema de ar forçado e temperaturas de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 60% e irrigadas diariamente com água de poço não clorada. Para a manutenção do alto potencial de inóculo, plantas doentes foram mantidas na casa de vegetação de forma que o sistema de circulação dispersasse os conídios do oídio pelas plantas saudas uniformemente e de forma natural, assemelhando-se ao máximo à infecção que ocorre em estufas comerciais ou no campo de cultivo. Essas eram removidas da casa de vegetação, logo que os primeiros sintomas da infecção por oídio eram observados nas plantas dos experimentos. A severidade da doença foi determinada semanalmente, estimando-se a porcentagem de tecido foliar coberta pelo patógeno (Bettioli et al., 1999), a partir do aparecimento das primeiras colônias na superfície da folha. Os valores da porcentagem de área foliar foram transformados em área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Shaner & Finney, 1977) e com esses dados foram realizadas análise de variância e testes de médias ($p \leq 0,05$).

2.1 Efeito do bicarbonato de potássio e de sódio no controle do oídio

Plantas de abobrinha no estágio de primeira folha expandida foram pulverizadas semanalmente com uma pistola de pintura, acoplada a um

compressor de ar, a uma pressão de 10 lb pol⁻², com bicarbonato de potássio Kaligreen® (Toagosei Chemical Industry Co. Ltd. Japão) nas concentrações de 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8, 1,5 e 3,0% (p/v) e com bicarbonato de potássio (KHCO₃) e bicarbonato de sódio (NaHCO₃) nas concentrações de 0,5; 1 e 2% (p/v) diluídos em água. Como tratamentos complementares, foram avaliados o leite de vaca tipo B (Tabela 1) a 10% pulverizado semanalmente, o fungicida fenarimol (Rubigan® Cross Link Ltda, Brasil) a 0,15ml L⁻¹ a cada 15 dias e água. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições, sendo cada repetição composta por um vaso com uma planta. Os vasos foram remanejados de posição, juntamente com as pulverizações. A condução do experimento e as avaliações foram semelhantes às descritas anteriormente.

2.2 Efeito do óleo fixo de sementes de nim (*Azadirachta indica*) no controle do oídio

Seguindo metodologia descrita anteriormente, estudou-se o efeito de um produto comercial à base de óleo fixo de sementes de nim (Produto formulado MaxNeem®) nas concentrações de 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0% (v/v), diluído em água adicionando à solução 2 gotas de detergente neutro, segundo metodologia adotada por Medice (Comunicação pessoal, 2008). A condução do experimento, bem como os tratamentos complementares e as avaliações foram semelhantes às descritas anteriormente.

2.3 Efeito do extrato de alho (*Allium sativum*) no controle do oídio

Estudou-se o efeito do extrato de alho (BioAlho® Tec San Industria e Comercio Ltda, Brasil) nas concentrações de 0; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8 e 10% (v/v), diluídos em água, adicionando à solução 2 gotas de detergente neutro, segundo metodologia adotada por Medice (Comunicação pessoal, 2008). O experimento foi dividido em dois ensaios não simultâneos. Inicialmente, avaliou-se o efeito

das concentrações de 0,5; 1; 2 e 4% (v/v) e no segundo as de 6, 8 e 10% (v/v). A condução do experimento, bem como os tratamentos complementares e as avaliações, foram semelhantes às descritas anteriormente.

2.4 Efeito da quitosana no controle do oídio

Estudou-se o efeito da quitosana nas concentrações de 0 mg; 25 mg; 50 mg; 100mg e 200mg L⁻¹ (p/v). A condução do experimento, bem como os tratamentos complementares e as avaliações, foram semelhantes às descritas anteriormente.

2.5 Efeito dos produtos biocompatíveis na germinação de conídios do oídio

Plantas de abobrinha cv. Caserta foram produzidas conforme descrito anteriormente em vasos plásticos de 1L e mantidas em casa de vegetação sem inóculo de oídio. Quando atingiram o estágio de primeira folha definitiva, as plantas foram pulverizadas com pulverizador manual com os seguintes produtos: 1) Bicarbonato de potássio [0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 e 1,5% (p/v), produto comercial Kaligreen®]; 2) Bicarbonato de sódio e potássio [0,5; 1 e 2% (p/v)]; 3) Óleo fixo de sementes de nim [0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0% (v/v), produto comercial MaxNeem®]; 4) Extrato de alho [0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10% (v/v), produto comercial BioAlho®]; 5) Quitosana [25; 50; 100 e 200 mg L⁻¹ (p/v)]. Duas horas após a pulverização, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de 9,6x10⁵ conídios/ml de *Podosphaera fusca* e mantidas em casa de vegetação sem inóculo de oídio a uma temperatura de 26 ± 2°C. O inóculo foi obtido de plantas de abobrinha cv. Caserta em ativa esporulação. Os esporos foram coletados com um pincel de pintura de cerdas macias e água. Decorridos 12h da inoculação, foram coletados cinco discos/tratamento das folhas cotiledonares de cada planta com um furador metálico de 110 mm de diâmetro (Ø) e processados de acordo com protocolo adaptado de Stadnik & Buchenauer (2000). Os discos

foram acondicionados imediatamente após a coleta em placas de petri, tampadas de 5cm de Ø, contendo 5 ml de uma solução de etanol:ácido acético glacial [3:1, (v/v)], com a parte adaxial para cima para fixação e clareamento dos tecidos e mantidos em capela com fluxo ligado por 24h. Decorrido esse tempo, os discos foram transferidos para placas de petri de igual diâmetro, contendo uma solução de lactoglicerol 1:1:1 (v/v) [ácido láctico:glicerol: água] para conservação dos tecidos. Os discos foram montados em lâminas para microscopia e as estruturas do fungo sobre as folhas foram coradas com corante azul de algodão em lactofenol a 0,1% (v/v) e observadas em microscópio óptico (Dilux 22-Leitz wetlzar Germany) com objetiva de 25x. Avaliou-se a germinação de todos os conídios presentes em cada disco. Considerou-se como germinados todos os conídios com tubo germinativo formado. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo que cada disco constituiu uma unidade experimental. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-knott ($p \leq 0,05$), usando o software SASM®.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito de bicarbonato de potássio no controle do oídio da abobrinha

O produto Kaligreen® à base de bicarbonato de potássio nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,4; 0,8, 1,5 e 3,0% (p/v) reduziram a AACPD causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha, diferindo estatisticamente da testemunha (Figura 1) concentrações de 1,5 e 0,8% controlaram a doença com 87,4% e 85,1%, respectivamente, comparado à testemunha, sendo tão eficientes quanto o fungicida padrão utilizado, que apresentou 81% de controle. Pulverizações com bicarbonato de potássio (Kaligreen®) na concentração de 3,0% provocaram fitotoxicidade às plantas. Todavia, concentrações menores promoveram controle da doença, igualando-se ao leite de vaca, cujo efeito foi demonstrado no ensaio e está de acordo com Bettiol et al. (1999) e Medeiros (2006). Na concentração de 0,1; 0,4 e 0,2% o controle foi de 64,2%, 67,5% e 71%, respectivamente, não diferindo do leite de vaca a 10%. Estes resultados corroboram com os obtidos por diversos autores, como Reuveni et al. (1996), os quais verificaram que pulverizações com sais e fosfatos de potássio controlaram o oídio do pepino, sugerindo que sais e fosfatos de potássio podem ser utilizados como fungicidas biocompatíveis e, possivelmente, como fertilizantes foliares para o controle da doença em casa de vegetação. Também Kanto et al. (2006) verificaram que pulverizações com silicato de potássio líquido controlou o oídio do morango. Para Liang et al. (2005), a redução de doenças de plantas, devido ao silicato de potássio, é resultado de um efeito osmótico na germinação dos esporos na superfície da folha. Por outro lado, Reuveni et al. (1995) propuseram que os sais podem induzir resistência em plantas. No presente estudo, não foi realizado ensaio visando elucidar o possível fenômeno de indução de resistência pelo Kaligreen® em plantas de abobrinha. Novas pesquisas devem ser realizadas com o intuito de elucidar os possíveis mecanismos de ação do bicarbonato de

potássio (Kaligreen®). Segundo o boletim técnico, disponibilizado pela Toagosei Co, Ltda, o bicarbonato de potássio do produto controla o oídio por ação de contato com o fungo. O produto contém bicarbonato de potássio micro-encapsulado, que é o seu princípio ativo e o contato direto com o patógeno é absolutamente necessário para o controle, pois o balanço do íon potássio nas células do fungo é quebrado, as paredes das células são colapsadas, as células sofrem um encolhimento/murchamento e o fungo é destruído. (Toagosei, 2009). Pulverizações com o sal puro de bicarbonato de potássio (KHCO_3) nas concentrações de 1% e 2% controlaram, respectivamente, 42,8% e 30,5% da doença, diferindo estatisticamente da testemunha (Figura 2). A concentração de 0,5% não controlou a doença. O fungicida padrão utilizado não diferiu da testemunha, possivelmente devido à seleção de isolados resistentes, pois o mesmo vem sendo utilizado na casa de vegetação a longo período. O tratamento com leite de vaca foi o que promoveu maior controle (64,2%) diferindo de todos os tratamentos (Figura 2). O Kaligreen® é um produto comercial, contendo em sua formulação 82% de bicarbonato de potássio e de ação comprovada no controle do oídio, sendo registrado em diversos países (McGrath & Shishkoff, 1999). A baixa eficiência do sal de potássio puro, em relação ao produto comercial, possivelmente se deve a algum componente presente na formulação do produto do Kaligreen® não divulgado pela empresa.

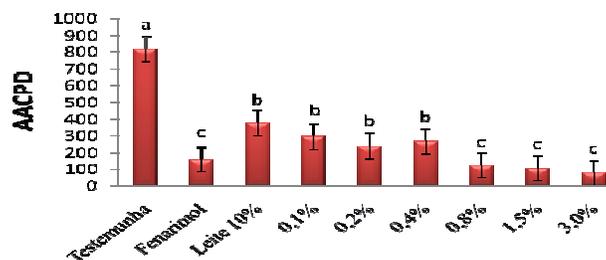


FIGURA 1 Efeito do Kaligreen® sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 5%. As barras representam valores médios seguidos pelo erro padrão.

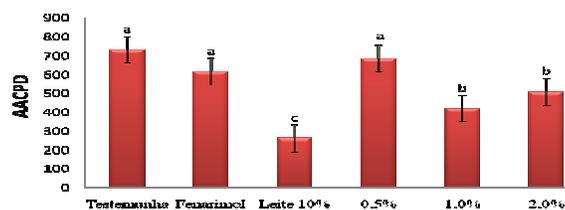


FIGURA 2 Efeito do bicarbonato de potássio sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-knott a 5% de probabilidade. As barras representam valores médios seguidos pelo erro padrão.

3.2 Efeito do bicarbonato de sódio no controle do oídio

Bicarbonato de sódio controlou o oídio da abobrinha, diferindo estatisticamente da testemunha para todas as concentrações. Porém, não houve diferença estatística entre elas (Figura 3). O controle da doença nas concentrações de 2%, 1% e, 0,5% foram de respectivamente 48,1%, 42,9% e, 41,7%. O fungicida não promoveu controle da doença e o leite foi o que

proporcionou melhor controle com 64,2%. O efeito do bicarbonato de sódio foi inferior ao verificado para o bicarbonato de potássio formulado no produto comercial Kaligreen®. O alto potencial de inóculo do oídio, no período do experimento, pode ter interferido na eficiência do sal.

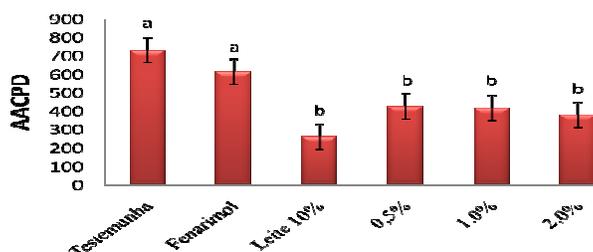


FIGURA 3 Efeito do bicarbonato de sódio sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podospheara fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-knott a 5% de probabilidade. As barras são valores médios acompanhados de seu erro padrão.

3.3 Efeito do óleo fixo de sementes de nim no controle do oídio

O óleo fixo de sementes de nim controlou eficientemente o oídio da abobrinha, sendo que o efeito foi diretamente proporcional à concentração do óleo (Figura 4). Na concentração de 4%, o controle foi de 99,2%, seguido das de 1, 2 e 0,5% com 97,5%, 97,8 e 91,9%, respectivamente. O óleo de nim foi tão eficiente quanto o fungicida padrão utilizado (fenarimol), que promoveu 87,2% de controle da doença. As diferentes concentrações do óleo de nim não diferiram entre si. Novamente foi demonstrado o efeito do leite no controle da doença (73,2%). O provável efeito do óleo fixo de sementes de nim está relacionado com a presença da substância azadiractina, a qual é relatada como inseticida e fungicida natural (Martinez, 2002). Medice (2007) verificou que óleo de nim a

1% inibiu a germinação de *Phakopsora-pachyrhiz* e reduziu a severidade da ferrugem em casa de vegetação. Carneiro et al. (2007) também verificaram a eficiência do óleo e do extrato de folhas de nim contra o oídio (*Erysiphe polygoni*) do feijoeiro em casa de vegetação. Os autores verificaram que, após a segunda pulverização, o óleo de nim a 0,25% e 0,5% apresentou redução de 79% na severidade da doença, semelhante ao fungicida, sendo que o extrato de folhas não controlou a doença em ambas as concentrações.

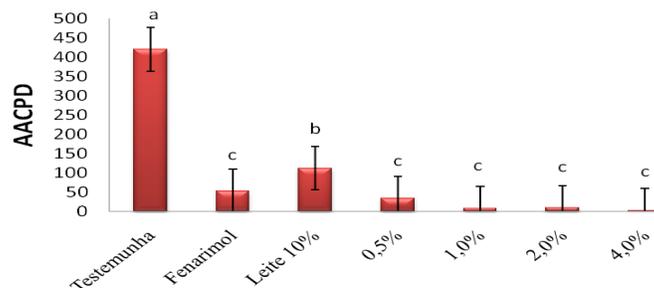


FIGURA 4 Efeito do óleo de nim (MaxNeem®) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott 5%). As barras representam valores médios seguido do erro padrão.

3.4 Efeito do extrato de alho no controle do oídio

Os resultados obtidos nos ensaios utilizando extrato de alho nas diferentes concentrações mostraram que este apresentou efeito positivo no controle do oídio da abobrinha. Concentrações inferiores a 1% não tiveram efeito sobre o patógeno e não diferiram da testemunha. No primeiro ensaio, no qual avaliou-se concentrações menores do extrato de alho [0,5; 1; 2 e 4%], a porcentagem de controle foi de 69,8% para a concentração de 4%, e de 73,2% para o fungicida e

48,9% para a concentração de 2% e 17,6% para a concentração de 1%. O leite proporcionou um controle de 87,2% da doença (Figura 5). Novamente o tratamento com leite foi o mais eficiente, comparado com a testemunha.

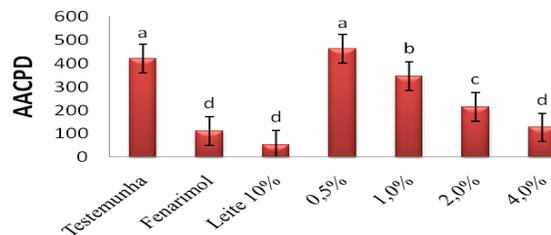


FIGURA 5 Efeito do extrato de alho (BioAlho®) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para o oídio da abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a 5%). As barras são valores médios acompanhados de seu erro padrão.

No segundo ensaio, no qual se avaliou concentrações maiores do extrato de alho [6; 8 e 10%], observou-se um decréscimo na porcentagem de controle da doença, com o aumento da concentração do extrato de alho (Figuras 6B). O extrato de alho a 10%, 8% e 6%, controlou respectivamente, 48,1%; 42,9% e, 41,7% da doença, sendo que o fungicida não diferiu da testemunha. O efeito do fungicida foi menor que o observado no primeiro ensaio. Os resultados demonstram que o efeito é dependente da concentração do produto e, que a partir de determinada concentração o extrato de alho aumenta a doença. Souza et al. (2007), trabalhando com extrato de alho para o controle do *Fusarium proliferatum* nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 2,5%, 5,0% e 10,0%, verificaram que a partir da concentração de 2,5%, o extrato de alho reduziu a incidência do *F. proliferatum* e aumentou a germinação das sementes.

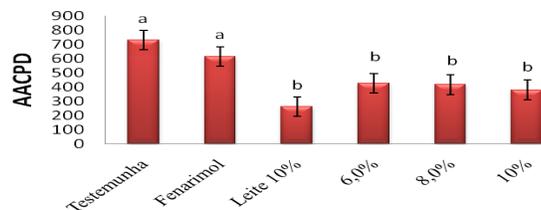


FIGURA 6 Efeito do extrato de alho (BioAlho®) sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott 5%). As barras são valores médios acompanhados de seu erro padrão.

3.5 Efeito de quitosana no controle do oídio

Quitosana nas concentrações de 25, 50, 100 e 200 mg L⁻¹ não apresentou efeito sobre o oídio da abobrinha (Figura 7). O resultado verificado no ensaio pode ser devido à qualidade da quitosana. Esses resultados diferem dos observados por Faoro et al. (2008) observaram que quitosana reduziu 55,5% da infecção de oídio e induziu resitência (SAR) em plantas de cevada tratadas com quitosana. Muñoz et al. (2007), trabalhando com quitosana nas concentrações de 1; 1,5; 2 e 2,5% contra *Colletotrichum* sp do tomate, observaram uma redução no crescimento micelial desse fungo em testes realizados “in vitro”, diretamente proporcional a concentração da quitosana. Os autores verificaram também uma redução no tamanho das lesões de frutos tratados com solução de quitosana. Camili et al. (2007) trabalhando com quitosana para o controle de *Botrytis cinerea* em uva “Itália” verificou que quitosana nas concentrações de 1,5 e 2,0% (v/v) quando empregada após a inoculação de *Botrytis cinerea* reduziu significativamente o índice de doença no entanto, quando os cachos foram tratados antes da inoculação, não houve efeito significativo do tratamento sobre o desenvolvimento da doença. No entanto, Pinto (2008) trabalhando com as mesmas concentrações de quitosana visando o controle do *Fusarium* sp do

crisântemo verificou que as diferentes concentrações do polissacarídeo incorporado ao substrato de cultivo não promoveu redução da supressividade da doença. Novos ensaios devem ser realizados visando verificar o efeito de concentrações maiores do produto sobre o oídio da abobrinha e possíveis respostas de indução de resistência nas plantas.

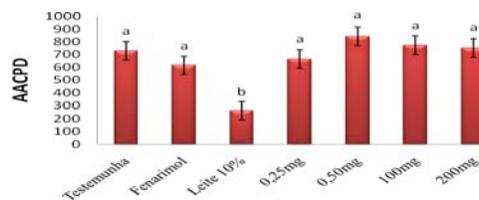


FIGURA 7 Efeito da quitosana sobre a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) causada por *Podosphaera fusca* em abobrinha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si (Scott-knott a 5%). As barras são valores médios acompanhados de seu erro padrão

3.6 Efeito dos bioprodutos na germinação de conídios de *Podosphaera fusca*

Todos os produtos estudados apresentaram alguma ação sobre a germinação dos conídios de *P. fusca*. A análise dos dados pressupõe que os produtos alternativos age diretamente nos conídios do patógeno inibindo sua germinação. Os melhores resultados foram observados para o óleo fixo de sementes de nim a 1%, 2%, 4% com 91,3%, 88%, 86,1% de inibição respectivamente e, extrato de alho a 8% com 89,7% e 10% com 94,9% de inibição, seguido dos tratamentos com Kaligreen® a 1,5% (78,6%) e 0,8% (63,2%), extrato de alho a 0,5% e 4% com 65,6% e 81,67% de inibição. O tratamento com Kaligreen® inibiu a germinação dos conídios, sendo que esse sal parece atuar por contato agindo diretamente sobre os conídios do patógeno, danificando-os, ocasionando uma diferença de potencial osmótico acarretando

lise da parede celular e murchamento dos conídios. Bicarbonato de sódio a 1 e 2% inibiu 52,3% e 54,6% da germinação, a concentração de 0,5% potencializou a germinação. No tratamento com bicarbonato de potássio a porcentagem de inibição da germinação foi inversamente proporcional a concentração do sal. Maiores concentrações apresentaram menor porcentagem de inibição. Os resultados indicam que os produtos apresentam importantes efeitos sobre a germinação dos conídios.

TABELA 1 Efeito dos produtos alternativos na germinação de conídios de *Podosphaera fusca* discos foliares de abobrinha.

Tratamentos	% de inibição
Fenarimol	-18,9c
Leite 10%	-7,5c
Bicarbonato de potássio (KHCO ₃) 0,5%	58,6a
Bicarbonato de potássio (KHCO ₃) 1%	58,2a
Bicarbonato de potássio (KHCO ₃) 2%	35,3b
Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) 0,5%	-2,5c
Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) 1%	52,3a
Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) 2%	54,6a
Extrato de alho 0,5%	65,6a
Extrato de alho 1%	30,3b
Extrato de alho 2%	37,2b
Extrato de alho 4%	61,7a
Extrato de alho 6,0%	43,3b
Extrato de alho 8%	89,7a
Extrato de alho 10%	94,9a
Kaligreen® a 0,2%	9,6c
Kaligreen® a 0,4%	40,6b
Kaligreen® a 0,8%	63,2a
Kaligreen® a 1,0%	34,2b
Kaligreen® a 1,5%	78,6a
Kaligreen® a 3,0%	24,5b
Óleo de nim 0,5%	62,5a
Óleo de nim 1%	91,3a
Óleo de Nim 2%	88,0a
Óleo de Nim 4%	86,1a
Quitosana 0,25mg L ⁻¹	40,1b
Quitosana 0,50mg L ⁻¹	40,0b
Quitosana 100mg L ⁻¹	21,2b
Quitosana 200mg L ⁻¹	47,3a

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 5%.

4 CONCLUSÃO

Óleo fixo de sementes de nim, extrato de alho e Kaligreen® constituem uma alternativa viável para o controle do oídio da abobrinha.

Novos ensaios visando elucidar melhor os mecanismos de ação desses produtos assim como o fenômeno de indução de resistência deverão ser realizados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BETTIOL, W. Productos alternativos para el control del oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) de la calabaza. In: CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGIA, 8., 1996, Córdoba. **Anais...** Córdoba: Sociedad Española de Fitopatología, 1996. p.232.

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B. D. Controle de *Sphaerotheca fuliginea* em abobrinha com resíduo da fermentação glutâmica do melaço e produto lácteo fermentado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.431-435, jul./ago. 1998.

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B.D.; LUIZ, A.J.B. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew *Sphaerotheca fuliginea* in greenhouse conditions. **Crop Protection**, Guildford, v.18, n8, p.489-492, Sept. 1999.

CAMILI, E. C.; BENATO, E. A.; PASCHOLATI, S. F.; CIA, P. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinérea*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.3, p.215-221, Jul./Sept. 2007.

CARNEIRO, S.M.T.P.G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M.E.C.; GOMES, J.C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.1, p.34-39, jan./mar. 2006.

CARNEIRO, S.M.T.P.G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.29, n.3, p.262-265, jul/set. 2003.

FAORO, F; MAFFI, D.; CANTU, D.; IRITI, M. Chemical-induced resistance against powdery mildew in barley: the effects of chitosan and benzothiadiazole. **BioControl**, Dordrecht, v.53, n.2, p.337-401, Apr. 2008.

FRANZENER, G.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorate*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.25, n.2, p.503-507, jul./dez., 2003.

GARIBALDI, A.; ALOI, A.; MINUTO, A. Osservazioni sull'attività di prodotti fosfatici nei riguardi di *Eryshiphe* sp su pomodoro in coltura protetta. **ATTI Gionaté Fitopatologiche**, New York, v.3, n.3, p.245-250, Mar.1994.

HOMMA, Y.; ARIMOTO, Y.; MISATO, T. Effect of sodium bicarbonate on each growth stage cucumber powdery mildew fungus (*Sphaerotheca fuliginea*) in its life cycle. **Journal of Pesticides Science**, Nagoya, v.6, n.2, p.201-209, June 1981.

ISHIDA, A.K.N.; BETTIOL, W.; SOUZA, R.M. Controle de oídio (*Sphaerotheca fuliginea* (Shlecht. Et. Fr.) Poll.) da abobrinha com extratos aquosos de material orgânica. **Ciência e Agrotécologia**, Lavras, v.25, n.5, p. 1229-1234, set/out. 2001.

KANTO, T.; MIYOSHI, A.; OGAWA, T.; MAEKAWA, K.; AINO, M. Suppressive effect of liquid potassium silicate on powdery mildew of strawberry in soil. **Journal General Plant Pathology**, Amsterdam, v.72, n.3, p.137-142, June 2006.

KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS, S.; MARKELLOU, E.; KASSELAKI, A.M.; FANOURAKI, M.N.; KOUMAKI, C.M; SCHMITT, A.; LIOPA-TSAKALIDIS, A.; MALATHRAKIS, N.E. Efficacy of Milsana, a formulated plant extract from *Reynoutria sachalinensis*, against powdery mildew of tomato (*Leveillula taurica*). **Biocontrol**, Dordrecht, v.51, n.3, p.375-392, June 2006.

LIANG, Y. C.; SUN, W. C.; SI, J.; RÖMHELD, V. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant Pathology**, Oxford, v.54, n.5, p. 678-685, Oct. 2005.

MARCO, S.; ZIU, O.; COHEN, R. Suppression of powdery mildew in squash by applications of whitewash, clay and antitranspirant materials. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.22, n.1, p.19-29, Jan. 1994.

MARTINEZ, S.S. **O Nim–Azadiractina indica**: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: IAPAR, 2002. 142p.

McGRATH, M.T.; SHISHKO, N. Evaluation of biocompatible products for managing cucurbit powdery mildew. **Crop Protection**, Guildford, v.18, n.7. p.471-478, Aug. 1999.

MEDEIROS, F.H.V. **Mecanismos de ação e atividade de frações do leite no controle biológico do oídio da abobrinha**. 2006. 64p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MEDICE, R.; ALVES, E.; MAGNO JÚNIOR, R.G.; ASSIS, R.T.; LEITE LOPES, E.A.G. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.1 p.83-90, jan./fev. 2007.

MOREIRA, L.M.; MAY-DE-MIO, L.L.; ALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; LIMA, M.L.R.Z.; POSSAMAI, J.C. Controle em pós-colheita de *Monilia fructícola* em pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.3, p.395-398, maio/jun. 2002.

MUÑOZ, Z.; MORET, A.; GARCÉS, S. Assessment of chitosan for inhibition of *Colletotrichum* sp. on tomatoes and grapes. **Crop Protection**, Guildford, v.28, n.1, p.36-40, Jan. 2009.

PAJOT, E.; CORRE, D. L.; SILUÉ, D. Phytogard® and DL-β-AMINO BUTYRIC (BABA) induce resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce (*Lactuca sativa* L.). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, n.8, p.861-869, Oct. 2001.

PASINI, C.; D'AQUILA, F.; CURIR, P.; GULIINO, M. L. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses. **Crop Protection**, Guildford, v.16, n.3, p.251-256, May 1997.

PINTO, Z. V. **Desenvolvimento de substrato supressivo à murcha do crisântemo causada por *Fusarium oxysporum***. 2008. 123p. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita”, Botucatu.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, F.L. Controlling powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber by foliar sprays of phosphate and potassium salts. **Crop Protection**, Guildford, v.15, n.1, p.49 -53, Feb. 1996.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, R. Suppression of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) by foliar spray of phosphate and potassium salts. **Plant Pathology**, Oxford, v.44, n.1, p.31-39, Feb. 1995.

REUVENI, M.; REUVENI, R. Efficacy of foliar sprays of phosphates in controlling powdery mildews in field-grown nectarine, mango trees and grapevines. **Crop Protection**, Guildford, v.14, n.4, p.311-314, June 1995.

REUVENI, R.; REUVENI, M.; AGAPOV, V.; RAVIV, M. Effects of foliar sprays of phosphates on roses powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*). **Journal of Phytopathology**, Berlim, v.142, n.3-4, p. 331-337, Mar./Apr. 1994.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildew ingresistance in knox wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v.67, n.4, p.1051-1056, Sept.1977.

SOUZA, A.E.F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferectum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, n.6, p.465-471, nov/dez. 2007.

STADNIK, M. J.; BUCHENAUER, H. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.57, n.1, p.25-34, July 2000.

STADNIK, M. J.; BETTIOL, W.; SAITO, M. L. Bioprospecting for plant and fungus extracts with systemic effect to control the cucumber powdery mildew. **Journal of Plant Disease and Protection**, Stuttgart, v.110, n.4, p. 383-393, Jul./Aug. 2003

STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2001. 484p.

TOAGOSEI CO. **Kaligreen**: potassium bicarbonate soluble powder for control of powdery mildew. USA Pt. 5123950. Disponível em: <[http://www.montereychemical.com/label/Kaligreen\(Toagosei\).pdf](http://www.montereychemical.com/label/Kaligreen(Toagosei).pdf)>. Acesso em: 25 maio 2009.

ZIV, O.; ZITTER, T.A. Effect of bicarbonates and film-forming polymers on cucurbit foliar diseases. **Plant Disease**, Saint Paul, v.76, n.5, p.513-517, May 1992.

CONSIDERAÇÕES

Pulverizações semanais de folhas de abobrinha com suspensões de *Bacillus subtilis* (Serenade®) a 2 e 4%, assim como óleo de nim, bicarbonato de potássio (Kaligreen®) e extrato de alho são uma alternativa viável para controle do oídio da abobrinha.

Todos esses produtos apresentaram eficiência semelhante ao leite e ao fungicida fenarimol no controle da doença.

Entretanto, é importante a continuidade de estudos para melhorar o entendimento sobre os mecanismos de ação, frequência de aplicação e viabilidade econômica desses produtos.