

Avaliação de um bioestimulante no controlo de doenças do lenho da videira

Teresa Nascimento, Cecília Rego e Helena Oliveira

Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

INTRODUÇÃO

A quitosana é um bioestimulante obtido por desacetilação da quitina. Esta encontra-se no exoesqueleto de artrópodes, em particular de crustáceos, e nas paredes celulares dos fungos. As propriedades físicas e biológicas da quitosana possibilitam a sua aplicação em diversas áreas. Em agricultura, a quitosana pode ser utilizada como correctivo do solo, na preservação antimicrobiana de alimentos ou como revestimento protector em frutas e legumes, como biopesticida e, simultaneamente, como eliciador de mecanismos de defesa nas plantas (Shahidi, *et al.*, 1999; Bautista-Baños *et al.*, 2006). Sendo conhecida a acção da quitosana contra um elevado número de fungos, considerou-se que o produto poderia ter potencialidades para ser usado no controlo das doenças do lenho. Em resultado das prospeções realizadas em Portugal, verificou-se que os principais fungos envolvidos nas doenças do lenho da videira em Portugal são *Cylindrocarpon liriodendri* (ex-*C. destructans*, pé negro da videira) (Hallen *et al.*, 2006), *Phaeomoniella chlamydospora* (doença de Petri e esca), *Botryosphaeria* spp. (escoriose europeia e outras doenças do lenho), *Phomopsis* spp. (escoriose americana) *Eutypa* spp. (eutipiose) e *Fomitiporia* spp. (esca) (Oliveira *et al.*, 2004; Rego *et al.*, 2006a).

O presente estudo teve como objectivos a avaliação da eficácia da quitosana na inibição do crescimento micelial dos mais importantes fungos do lenho da videira, e do seu efeito em videiras envasadas, relativamente a *C. liriodendri* e *Pa. chlamydospora*, comparando-o com o proporcionado por fungicidas convencionais.



MATERIAL E MÉTODOS

Ensaios de inibição do crescimento micelial

■ Usaram-se isolados de *C. liriodendri*, *Pa. chlamydospora*, *Botryosphaeria* sp., *Phomopsis* sp., *Eutypa* sp. e *Fomitiporia* sp., obtidos a partir de materiais vitícolas doentes.

■ Incularam-se placas de Petri contendo PDA adicionado de quitosana (0,5% s.a.) a várias concentrações (50,0; 25,0; 5,0; 2,5 e 0,5 mg L⁻¹ de s.a.). Realizaram-se seis repetições por concentração e por espécie de fungo inoculado. Procedeu-se do mesmo modo no caso das testemunhas, tendo-se usado PDA como meio de cultura.

■ Procedeu-se ao cálculo das percentagens de inibição do crescimento micelial, que foram transformadas em valores "probit" e relacionadas com os logaritmos das concentrações de quitosana, através de regressão linear. Para cada recta de regressão foram determinados o coeficiente de determinação (r²), a equação da recta (Y = a + bX) e o valor de CE₅₀.

Ensaios *in vivo*

■ Utilizaram-se plantas de videira envasadas, da casta Castelão, na avaliação do efeito da quitosana em relação a *C. liriodendri* e *Pa. chlamydospora*.

■ Na obtenção de material vegetal, na produção de inóculo e na infestação do substrato, com cada um dos fungos, procedeu-se de acordo com Rego *et al.* (2006b).

■ Ensaíram-se quatro modalidades de tratamento (Quadro 1), em relação a cada um dos fungos em estudo. Os tratamentos com fungicidas foram feitos por imersão das raízes das plantas na calda respectiva, durante 50 min., e de seguida foram transplantadas para o substrato infestado por cada um dos fungos. No caso da quitosana, procedeu-se à sua aplicação por pulverização foliar após o transplante, e o tratamento foi repetido passados 8 dias. As plantas testemunha foram tratadas, em ambos os casos, com água destilada esterilizada. O ensaio decorreu em estufa de campo durante 3 meses.

Quadro 1 - Características dos fungicidas e da quitosana utilizados nos ensaios de eficácia biológica relativamente a fungos do lenho da videira

Nome da substância activa	Nome comercial	Teor em substância activa	Concentração do produto comercial na calda
tebuconazol	Folicur WG25	25 %	0,40 g L ⁻¹
ciprodinil + fludioxonil	Switch 62,5 WG	37,5 % ciprodinil + 25 % fludioxonil	1,00 g L ⁻¹
carbendazime + flusilazol	Escudo	10 g L ⁻¹ carbendazime + 5 g L ⁻¹ flusilazol	2,50 mL L ⁻¹
quitosana	Chitosan	0,5%	1,43 mL L ⁻¹

■ Terminado o ensaio, avaliou-se o nº total de raízes, a altura do lançamento maior a percentagem de reisolamento dos fungos inoculados.

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e compararam-se as médias recorrendo ao teste de Turkey HSD, com nível de significância de 0,05 (STATISTICA 6.0).

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela FCT/FEDER, no âmbito do projecto POCTI/AGR/46239/2002 e pela CUF - Adubos de Portugal.

REFERÊNCIAS

Bautista-Baños, S.; Hernández-Lauzardo, A.N.; Velázquez-del Valle, M.G.; Hernández-López, M.; Alt Barka, E.; Bosquez-Molina, E.; Wilson, C.L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25: 108-118.
Hallen, F.; Schreier, H.J.; Groenewald, J.Z.; Rego, C.; Oliveira, H.; Crous, P.W. 2006. *Neovectra liriodendri* sp. nov., the main causal agent of black foot disease of grapevines. *Studies in Mycology* 55: 227-234.
Oliveira, H.; Rego, C.; Nascimento, T. 2004. Decline of young grapevine caused by fungi. *Acta Horticulturae* 652: 295-304.
Rego, C.; Farropas, L.; Nascimento, T.; Cabral, A.; Oliveira, H. 2006b. Black foot of grapevine: sensitivity of *Cylindrocarpon destructans* to fungicides. *Phytopathologia Mediterranea* 45: 593-5100.
Rego, C.; Farropas, L.; Nascimento, T.; Oliveira, H. 2004. Avaliação da eficácia de fungicidas relativamente a *Cylindrocarpon destructans*. In *Actas do 4º Congresso da Sociedade Portuguesa de Fitopatologia*, Universidade do Algarve, Faro, 4-6 de Fevereiro, 201-204.
Rego, C.; Nascimento, T.; Cabral, A.; Oliveira, H. 2006a. Fungi associated with young vine decline in Portugal: results of nine years surveys. *IOBC/WPRS Bulletin* 29: 123-126.
Shahidi, F.; Arachchi, J.K.V.; Jeon, Y.J. 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology* 10: 37-51.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

■ A quitosana reduziu o crescimento micelial de todos os fungos em estudo (Fig. 1).

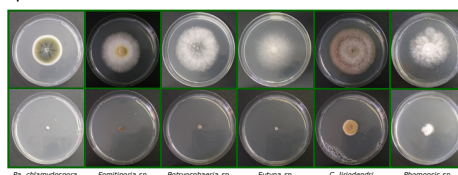


Fig. 1. Crescimento micelial dos fungos em estudo em PDA (testemunhas), e em PDA adicionado de quitosana a 50,0 mg L⁻¹ (concentração mais elevada).

Os valores de CE₅₀ foram mais baixos para *Pa. chlamydospora* (1,17 mg L⁻¹), *Fomitiporia* sp. (1,53 mg L⁻¹) e *Botryosphaeria* sp. (1,56 mg L⁻¹), do que para *Eutypa* sp. (3,26 mg L⁻¹), *Phomopsis* sp. (5,28 mg L⁻¹) e *C. liriodendri* (24,65 mg L⁻¹), revelando maior eficácia do produto em relação aos primeiros três fungos. No entanto, para todos os fungos, com excepção de *C. liriodendri*, obtiveram-se valores de CE₅₀ inferiores à concentração de campo (8,3 mg s.a. L⁻¹).

■ Nos ensaios *in vivo*, e no caso de *C. liriodendri*, a quitosana promoveu, de forma significativa, o crescimento das plantas, o nº total de raízes e reduziu a incidência da doença, em relação às plantas testemunha (Quadro 2). Estes resultados são comparáveis aos obtidos com os fungicidas utilizados e que até à data revelaram maior eficácia contra *C. liriodendri* (Rego *et al.*, 2004).

Quadro 2 - Influência de diferentes tratamentos em plantas de videiras da cultivar Castelão, crescendo em substrato infestado com *Cylindrocarpon liriodendri*

Tratamento	Altura do lançamento maior (mm)	Número total de raízes	Reisolamento (%)
água	105,90 a*	34,32 a	80,83 a
tebuconazol	106,40 ab	44,60 ab	43,33 ab
carbendazime + flusilazol	112,50 ab	51,30 bc	40,83 ab
ciprodinil + fludioxonil	141,00 ab	60,20 c	21,67 b
quitosana	136,90 b	46,35 b	32,05 b

* Em cada coluna, os valores médios afectados pela mesma letra não diferem significativamente entre si (α=0,05), segundo o teste de Tukey HSD.

A quitosana revelou eficácia *in vivo*, em relação a *C. liriodendri*, apesar dos resultados *in vitro* terem posicionado este fungo na situação menos favorável. Provavelmente, induziu mecanismos de defesa nas plantas, o que potenciou o efeito da quitosana.

Relativamente a *Pa. chlamydospora*, verificou-se redução significativa da incidência da doença, semelhante à registada para os fungicidas ensaiados (Quadro 3), não se tendo verificado diferenças significativas para os outros parâmetros em avaliação. Estes resultados não representam ineficácia dos produtos contra o patógeno, mas antes que as infecções produzidas por *Pa. chlamydospora*, a partir de inóculo existente no solo, são irregulares (18,3% de reisolamento da testemunha).

Quadro 3 - Influência de diferentes tratamentos em plantas de videira da cultivar Castelão, crescendo em substrato infestado com *Phaeomoniella chlamydospora*

Tratamento	Altura do lançamento maior (mm)	Número total de raízes	Reisolamento (%)
água	153,20 ab*	31,00 a	18,30 a
tebuconazol	120,80 a	37,70 a	6,70 ab
carbendazime + flusilazol	176,00 b	43,50 a	11,70 ab
ciprodinil + fludioxonil	184,90 b	45,50 a	3,70 b
quitosana	155,50 ab	47,30 a	3,30 b

* Em cada coluna, os valores médios afectados pela mesma letra não diferem significativamente entre si (α=0,05), segundo o teste de Tukey HSD.

■ Conclui-se que a quitosana pode constituir uma alternativa ou complementar o efeito de fungicidas convencionais, no controlo de fungos do lenho da videira.