

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO-PR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA-PPGA
MESTRADO

**EFEITO DA QUITOSANA NO CONTROLE DE
DOENÇAS E NO DESENVOLVIMENTO DE
PLÂNTULAS DE VIDEIRA (*Vitis vinifera*).
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

ALINE JOSÉ MAIA

GARAPUAVA-PR

2009

ALINE JOSÉ MAIA

**EFEITO DA QUITOSANA NO CONTROLE DE DOENÇAS E NO
DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE VIDEIRA (*Vitis vinifera*).**

Dissertação de mestrado apresentado à
Universidade Estadual do Centro-Oeste, do
Programa de Pós-Graduação em
Agronomia – Mestrado, área de
concentração em Produção Vegetal.

Professor Dr. Renato Vasconcelos Botelho
Orientador

Professora. Dra. Cacilda Márcia D. Rios Faria
Co-orientadora

GARAPUAVA-PR

2009

ALINE JOSÉ MAIA

**EFEITO DA QUITOSANA NO CONTROLE DE DOENÇAS E NO
DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE VIDEIRA (*Vitis vinifera*).**

Dissertação de mestrado apresentado à
Universidade Estadual do Centro-Oeste, do
Programa de Pós-Graduação em
Agronomia – Mestrado, área de
concentração em Produção Vegetal.

Aprovada em 15 de outubro de 2009.

Professor Dr. Erasmo José Paioli Pires - Instituto Agronômico de Campinas (IAC)

Professor Dr. David de Souza Jaccoud Filho - Universidade Estadual de Ponta Grossa
(UEPG)

Professor Dr. Renato Vasconcelos Botelho
Orientador

Professora. Dra. Cacilda Márcia D. Rios Faria
Co-orientadora

GARAPUAVA-PR

2009

Aos meus pais, João Carmo e Alice, pelo incentivo, apoio, dedicação, sendo o alicerce de
minha vida, presente nas horas mais precisas desta caminhada, tornando-se possível
mais esta conquista.

Ao meu esposo, Reinaldo, por sua dedicação e paciência em muitos dias de preparação deste
experimento não medindo esforços para me ajudar, um verdadeiro companheiro.

DEDICO

Ao meu irmão, Felipe, pelo apoio e amizade sincera.
As minhas sobrinhas queridas, Maria Alice e Yasmin
com amor e carinho,

OFEREÇO

“Os que confiam no Senhor, são como os montes de Sião, que
não se abala, mas permanecem para sempre.”

Salmo 125:1

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por estar sempre ao meu lado dando paciência, força e acima de tudo persistência para vencer mais esta etapa.

A **Universidade Estadual do Centro Oeste, UNICENTRO**, em especial ao departamento de Agronomia juntamente com a comissão do curso em Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade do curso de mestrado.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Pessoal - CAPES**, pela concessão da bolsa de mestrado no decorrer desta obra.

Em especial ao Prof. Dr. **Renato Vasconcelos Botelho**, orientador e amigo, por caminhar comigo nesta jornada, dando o apoio, a compreensão, o respeito e acima de tudo a dedicação e confiança que depositara em mim desde os anos de graduação.

A Prof. Dra. **Cacilda Márcia Duarte Rios Faria** por sua amizade, atenção e pelos seus ensinamentos como co-orientadora.

A todos os **professores** que forneceram seus conhecimentos, ajudando na construção e conclusão desta obra.

Aos **amigos** e **colegas**, pelas construções nesta obra, principalmente no auxílio nas instalações dos experimentos e execução das análises.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para que eu pudesse chegar ao fim desta obra.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	III
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. JUSTIFICATIVA	2
3. OBJETIVO	3
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
4.1. Descrição das cultivares	3
4.1.1. Cultivar Cabernet Sauvignon	4
4.1.2. Cultivar Merlot	4
4.1.3. Cultivar Isabel	4
4.2. Doenças da videira	5
4.2.1. Míldio (<i>Plasmopara viticola</i> (Berkeley & M. A. Curtis) Berleses & de De Toni, 1888)	5
4.2.1.1. Etiologia	5
4.2.1.2. Sintomas	5
4.2.1.3. Epidemiologia	6
4.2.1.4. Controle	6
4.2.2. Antracnose (<i>Elsinoe ampelina</i> (Shear fase conidial de <i>Sphaceloma ampelinum</i> De Bary = <i>Gloeosporium ampelophagum</i> (Pass.))	7
4.2.2.1. Etiologia	7
4.2.2.2. Sintomas	7
4.2.2.3. Epidemiologia	8
4.2.2.4. Controle	8
4.2.3. Doenças da madeira ou Declínio da videira (<i>Botryosphaeria</i> sp.)	8
4.2.3.1. Etiologia	8
4.2.3.2. Sintomas	9
4.2.3.4. Epidemiologia	9
4.2.3.5. Controle	10
4.2.4. Podridão-da-uva-madura (<i>Glomerella cingulata</i> (Stoneman) Spauld & Schrenk (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Sacc.))	10
4.2.4.1. Etiologia	10
4.2.4.2. Sintomas	10
4.2.4.3. Epidemiologia	10
4.2.4.4. Controle	11
4.3. USO DA QUITOSANA NO CONTROLE ALTERNATIVO DE FITOPATÓGENOS	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
CAPÍTULO 1 - INFLUÊNCIA DA QUITOSANA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>BOTRYOSPHAERIA</i> SP., AGENTE CAUSAL DO DECLÍNIO DA VIDEIRA E <i>GLOMERELLA CINGULATA</i> AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO-DA-UVA-MADURA	19
RESUMO	19
ABSTRACT	20
CHITOSAN INFLUENCE ON MYCELIAL GROWTH OF <i>BOTRIOSPHAERIA</i> SP, GRAPEVINES DECLINE CAUSAL AGENT AND <i>GLOROMELLA CINGULATA</i>, GRAPEVINES PUTRIDITY CAUSAL AGENT	20
3.1. INTRODUÇÃO	21

3.2. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
3.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO 2 - QUITOSANA COMO OPÇÃO DE CONTROLE DO MÍLDIO PARA A VITICULTURA SUSTENTÁVEL	28
RESUMO	28
ABSTRACT	29
1.1. INTRODUÇÃO	30
1.2. MATERIAL E MÉTODOS	31
1.2.1.. Efeito da quitosana no controle de <i>Plasmopora viticola</i> em estacas enraizadas de videiras cv. Cabernet Sauvignon	31
1.2.2. Controle de <i>Plasmopora viticola</i> em mini-estacas enraizadas de videiras cv. Merlot e Cabernet Sauvignon	32
1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Error! Bookmark not defined.
CAPÍTULO 3 - AÇÃO DE QUITOSANA NO DESENVOLVIMENTO DE PLASMAPARA VITICOLA E ELSINOE AMPELINA, IN VITRO E EM VIDEIRAS CV. ISABEL	41
RESUMO	41
2.1. INTRODUÇÃO	43
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	44
2.2.1. Produtos utilizados para o controle dos patógenos.	44
2.2.2. Efeito das diferentes concentrações de quitosana no crescimento micelial de <i>Elsinoe ampelina</i>	44
2.2.3. Efeito das diferentes concentrações de quitosana na germinação de esporos de <i>Plasmopara viticola e Elsinoe ampelina</i>	45
2.2.4. Efeito da quitosana no controle de doenças na cultivar Isabel.	46
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
2.3.1. Efeito das diferentes concentrações de quitosana no crescimento micelial de <i>Elsinoe ampelina</i>	47
2.3.2. Efeito das diferentes concentrações de quitosana na germinação de esporos de <i>Plasmopara viticola e Elsinoe ampelina</i>	48
2.3.4. Efeito da quitosana no controle de doenças na cultivar Isabel.	51
2.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS	56

RESUMO

MAIA, A.J. Efeito da quitosana no controle de doenças e no desenvolvimento de plântulas de videira (*Vitis vinifera*).

Este trabalho teve por objetivo avaliar diferentes concentrações de quitosana no controle de doenças fúngicas e no desenvolvimento vegetativo de plântulas de videira das cvs. Cabernet Sauvignon e Merlot. Os experimentos foram realizados no Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro Oeste – Campus CEDETEG, Guarapuava-PR. No experimento instalado no ano de 2007, as estacas foram plantadas em vasos de plástico rígido, tendo como substrato areia e mantidas em casa de vegetação sob sistema de nebulização. Após 60 dias deu-se início as aplicações de quitosana, nas doses de 0; 20; 40 e 80 mg L⁻¹ em intervalos de 12 dias. As plantas foram inoculadas com suspensão de esporos de *Plasmopora viticola* na quantidade de 1x10⁶ esporângios mL⁻¹ sete dias após a nona aplicação de quitosana. Com o aparecimento dos primeiros sintomas, a severidade do míldio foi avaliada em 8 folhas por planta, previamente identificadas, utilizando-se uma escala com notas de um a doze que corresponde de 0 % a 100 % da área foliar lesionada. A avaliação foi realizada aos 28 dias após a inoculação. Houve efeito linear negativo em função das doses de quitosana para a cv. Cabernet Sauvignon. O decréscimo observado foi de 76,8 % na dose de 80 mg L⁻¹). Para os ensaios realizados no ano seguinte utilizou estacas pré-enraizadas plantadas em vasos contendo como substrato areia e Plantmax[®], e a cada sete dias foram pulverizadas com soluções aquosas nas seguintes concentrações de quitosana: 0, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹. Metade do número total de plantas foi inoculada com suspensão de esporos de *P. viticola*, 48 horas após a segunda aplicação de quitosana. Com o início dos primeiros sintomas, após dez dias de inoculação, avaliações da severidade foram realizadas a cada dois dias. A quitosana a 160 mg L⁻¹ reduziu a severidade do míldio em 70,2 % e 79,1 % nas cultivares Merlot e Cabernet Sauvignon, respectivamente. Para o grupo de plantas que não foi inoculado, após 60 dias em casa de vegetação, foi avaliada a variável massa de raízes e folhas secas, comprimento médio de raízes e área foliar. Não houve diferença significativa entre os tratamentos no desenvolvimento de plantas. Outros experimentos, *in vitro*, e em condições de campo foram realizados com as mesmas concentrações de quitosana. O teste de crescimento micelial foi realizado para os fungos fitopatogênicos *Elsinoe ampelina*, *Botryosphaeria* sp. e *Glomerella cingulata* e o teste de germinação para *Elsinoe ampelina* e *Plasmopara viticola*. Verificou-se redução no crescimento micelial de *E. ampelina*. A maior dose de 160 mg L⁻¹ reduziu em 57 % o desenvolvimento do fungo, 192 horas após incubação. Para os patógenos

Botryosphaeria sp. e *G. cingulata*, houve redução no desenvolvimento do fungo em 30 e 40 %, após 48 horas de incubação, respectivamente na mesma concentração. Nos testes de germinação, a dose de 160 mg L⁻¹ de quitosana reduziu a germinação de esporos de *E. ampelina* em aproximadamente 98 % e 60 % para *P. viticola*, não diferindo dos tratamentos com calda bordalesa e mancozeb. Nos ensaios a campo as doses de quitosana a 80 e 160 mg L⁻¹ mostraram um decréscimo na severidade de antracnose entre 93 e 81 %. Para o míldio, a concentração de 160 mg L⁻¹ reduziu em aproximadamente 81 % a severidade da doença. Conclui-se que a quitosana tem potencial no controle de doenças fúngicas da videira.

Palavras-chaves: agroecologia, controle alternativo, uva, fitopatologia.

ABSTRACT

MAIA, A.J. Effect of chitosan in the control of diseases and the development of grapevines (*Vitis vinifera*)

This research aimed to evaluate different chitosan concentrations on the control of grapevines fungal diseases and vegetative development of cv. Cabernet Sauvignon and Merlot. The experiments were carried out in Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná. In 2007, the experiment consisted in cuttings planted in vases, with sand as substrate and kept in greenhouse under misty system irrigation. After sixty days, chitosan was sprayed, in 12 days intervals. Chitosan concentrations were 0, 20, 40 and 80 mg L⁻¹. Plants were inoculated in a suspension of *Plasmopora viticola* (1x10⁶ sporangia mL⁻¹) spores, seven days after the ninth chitosan spray. As the first symptoms onset, mildew severity was evaluated on 8 previously identified leaves per plant, using a diagrammatic scale of grades from one to twelve, which corresponds to 0 % to 100 % of injured foliar area. Evaluation was done 28 days after inoculation. There was a negative linear effect on chitosan doses for cv. Cabernet Sauvignon. Decrease was 76.8 % on the highest chitosan dose (160 mg L⁻¹). In the following year experiments, pre-rooted cuttings planted in vases containing substrate (sand and Plantmax[®]) were used, and cuttings were sprayed each seven days with aqueous solutions and the following chitosan concentrations: 0, 20, 40, 80 and 160 mg L⁻¹. Half of total number of plants was inoculated with *Plasmopara viticola* spores suspension, 48 hours after the second chitosan spray. As the first symptoms onset, ten days after inoculation, severity evaluations were performed each two days. Chitosan dose of 160 mg L⁻¹ reduced the mildew severity by 70.24 % and 79.1 % in cultivars Merlot and Cabernet Sauvignon, respectively. Sixty days after planting, plants that were not inoculated, were evaluated for the following variables: dry roots and leaves weight, roots length and foliar area. There were not significant differences among treatments in plant development. Other experiments, *in vitro* and in field conditions were carried out on the same chitosan concentrations. The mycelial growth test was conducted to *Elsinoe ampelina*, *Botryosphaeria* sp and *Glomerella cingulata* and the germination test for *Elsinoe ampelina* e *Plasmopara viticola*. There was a decrease in *E. ampelina* mycelial growth. The highest chitosan concentration (160 mg L⁻¹) decreased in 57 % the fungus developmen, 192 hours after incubation. There was a development decrease by 30 and 40 %, for *Botryosphaeria* sp and *Glomerella cingulata*, 48 hours after incubation, respectively for the same chitosan concentration. In germination tests, the 160 mg L⁻¹ chitosan

dose reduced the spore germination of *E. ampelina* in approximately 98 % and 60 % for *P. viticola*, not differing from treatments with Bordeaux mixture and mancozeb. In field conditions experiments, the highest chitosan doses (80 and 160 mg L⁻¹) presented a decrease in anthracnose severity among 93 and 81 %. For downy mildew, 160 mg L⁻¹ concentration decreased the disease by approximately 81 %. It was possible to conclude that chitosan has a great potential in grapevines fungal diseases control.

Keywords: agroecology, alternative control, grape, phytopathology.

1. INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil a viticultura ocupa uma área de aproximadamente de 73.917 ha, com uma produção anual de 1.189.964 toneladas. As principais regiões produtoras são: o Nordeste (Ceará, Pernambuco e Bahia), o Sudeste (Minas Gerais e São Paulo) e o Sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), sendo que o maior volume de produção está concentrado no Rio Grande do Sul, representando 58,82 % da produção nacional (Agriannual, 2007).

As cultivares de *Vitis vinifera*, Merlot, juntamente com Cabernet Sauvignon e Cabernet Franc, constituem-se em importantes uvas viníferas para a elaboração dos melhores vinhos tintos finos do Sul do Brasil. São consideradas uvas de alta qualidade, porém, em geral são bastante sensíveis às doenças (Sônego & Garrido, 2003).

Muitos são os fatores a serem manejados para se obter a máxima produtividade de um vinhedo. Um desses fatores é o controle das doenças, que se constitui num dos maiores problemas para obtenção de melhores produções, tanto no aspecto quantitativo como qualitativo da uva (Sônego et al., 2005).

Para o controle destas doenças, têm sido utilizados, tradicionalmente, produtos químicos, que podem atingir 30 % do custo de produção da uva. O uso inadequado dos produtos sistêmicos pode favorecer o aparecimento de populações resistentes. *Botrytis cinerea* (Persoon, 1784) e *Uncinula necator* ((Schweinitz) Burrill, 1892) em videiras apresentaram problemas de resistência a fungicidas inibidores da demetilação (DMI) (Holloman et al., 1990).

Por outro lado, o processo produtivo agrícola sofre pressão da sociedade pela produção de alimentos de forma sustentável e sem resíduos (Stadinik & Talamini, 2004), motivando o desenvolvimento de sistemas de produção que abdicuem do uso de produtos químicos, como no caso de produção orgânica, ou que os minimizem, como no caso da Produção Integrada de Frutas (PIF) (Valdebenito-Sanhueza, 2003).

Considerando estes fatos, faz-se necessária a utilização de métodos alternativos no controle de doenças, destacando-se a indução de resistência em plantas (Bonaldo et al., 2005) e a utilização de substâncias naturais bioativas com atividade antimicrobiana (Camili et al., 2007).

Dentre estas alternativas que vem sendo estudadas encontra-se a quitosana. Esta substância é um polímero policatiônico β -1,4 ligado à D-glucosamina definido como um diacetilato de quitina, sendo um polissacarídeo natural extraído da casca ou exoesqueleto de crustáceos como camarão, caranguejo, lagosta e de plantas como as algas marinhas (Tan et al., 1996). Oh et al. (1998) sugeriram que a quitosana tem atividade antifúngica e a ativação

das respostas de defesa da planta, como a produção de enzimas. Resultados positivos com o uso de quitosana foram reportados para o controle de *B. cinerea* em uvas e morangos (Ait Barka et al., 2004; Bhaskara Reddy, 2000) e *Puccinia arachidis* Spegazzini, 1884 em amendoim (Sathiyabama & Balasubramanian, 1998).

Poucas são as pesquisas sobre o efeito da quitosana no desenvolvimento de plantas. No entanto, Ait Barka et al. (2004), com o objetivo de avaliar o potencial da quitosana no desenvolvimento vegetativo *in vitro* de plântulas de videira, verificaram aumento no comprimento dos brotos e peso de raízes e brotos secos ao adicionarem 1,75% (v/v) de chitogel, em meio de cultura.

Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da quitosana sobre *Plasmopora viticola*, *Elsinoe ampelina*, *Botryosphaeria* sp. e *Glomerela cingulata*, além de avaliar seu efeito no desenvolvimento de plântulas de videira cvs. Cabernet Sauvignon e Merlot (*Vitis vinifera*).

2. JUSTIFICATIVA

O fungicida mais utilizado no controle de doenças da videira é a calda bordalesa, fungicida a base de cobre. Entretanto, assim como todos os cúpricos, tem o inconveniente de poder causar fitotoxidez nas partes jovens da planta, além de comprometer o sistema de sustentação, devido a sua ação corrosiva. Em função destas características, os cúpricos são recomendados apenas após a frutificação. Outros fungicidas sintéticos são utilizados, em larga escala, na viticultura para o controle destas doenças, tais como: metalaxyl, cymoxanil e tiofanato metílico (Amorim & Kuniyuki, 2005).

A utilização de fungicidas, ademais do significativo incremento que conferem à produção, pode causar sérios danos ao ambiente, bem como a seleção de fitopatógenos resistentes a alguns princípios ativos utilizados. Além disso, a sociedade tem exigido cada vez mais alimentos com qualidade, levando pesquisadores a buscarem medidas alternativas no manejo fitossanitário, preservando os agroecossistemas pelo uso adequado dos recursos naturais e privilegiando a saúde humana.

Uma opção no manejo que pode ser realizado é o controle de doenças pela utilização de compostos naturais ou biodegradáveis e não-tóxicos. Dentre essas substâncias, encontra-se a quitosana, que pode contribuir para o controle ou prevenção de algumas molestias. Produtos comerciais com quitosana entre seus constituintes, estão disponibilizados no mercado, como o Fish Fértil Quitosana[®] e Elexa[®].

Devido à grande variabilidade de organismos fitopatogênicos e diferentes formas de respostas, tanto dos patógenos, quanto das plantas ao polissacarídeo, estudos são necessários para esclarecer os mecanismos de ação envolvidos, e assim poder auxiliar na otimização da eficácia do produto no controle das doenças, tornando-se uma alternativa promissora para a produção orgânica e produção integrada.

3. OBJETIVO

Este trabalho objetivou determinar o efeito *in vitro* e *in vivo* da quitosana sobre *Plasmopora viticola*, *Elsinoe ampelina*, *Botryosphaeria* sp. e *Glomerella cingulata*, além de avaliar seu efeito no desenvolvimento de plântulas de videira cvs. Cabernet Sauvignon e Merlot (*V. vinifera*).

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4. 1. Descrição das cultivares

A *Vitis vinifera* L. é a espécie mais cultivada no mundo, produzindo uvas para mesa, vinho, passas e outros derivados. São consideradas uvas de alta qualidade, porém, em geral são bastantes sensíveis às doenças fúngicas que atacam a videira. As principais cultivares de uvas finas para vinho cultivadas no Brasil são: Carbenet Sauvignon, Carbenet Franc e Merlot (Camargo, 2003).

Os vinhos finos brasileiros são produzidos a partir de uvas da espécie *V. vinifera* L enquanto os vinhos comuns para mesa são produzidos a partir de videiras de origem americana (*Vitis. labrusca* L) (Garrido et al., 2004). Estas videiras são também conhecidas como uvas rústicas pela sua capacidade de produzir bem, mesmo em cultivos com controle fitossanitário reduzido, pois apresentam tolerância a doenças, tais como o oídio, o míldio e a antracnose, que impediriam a produção de viníferas em tais condições (Pommer et al., 2003). Destaca-se, entre estas, as cultivares Isabel como uva para a elaboração de vinho, Niágara Branca e Rosada, como uvas para consumo *in natura* (Protas et al., 2006).

4.1.1. Cultivar Cabernet Sauvignon

É uma cultivar de renome internacional para a produção de vinhos tintos de alta qualidade. Sua introdução é recente no Rio Grande do Sul, surgindo nos registros de uvas vinificadas no Estado a partir da safra de 1983. Adapta-se bem às condições ambientais do Estado, porém, em anos com invernos amenos tem brotação irregular e deficiente. É menos produtiva que as cultivares Merlot e Cabernet Franc (Camargo, 2003).

4.1.2. Cultivar Merlot

A cultivar Merlot, juntamente com as cultivares Cabernet Sauvignon e Cabernet Franc, constituem-se importantes e tradicionais viníferas para a elaboração dos melhores vinhos tintos finos do Sul do Brasil. É uma cultivar produtiva, sendo bastante requerida pelo setor industrial brasileiro, a exemplo do que vem acontecendo em outros países vitícolas. Pode ser utilizada para a elaboração de vinhos varietais ou para cortes com outros vinhos tintos. Apresenta suscetibilidade ao míldio, inclusive nas inflorescências (Camargo, 2003).

Produz cachos pequenos a médios, cônicos e compactos. As bagas são pequenas com peso entre 1,5 a 2,5 g, arredondadas, de textura mediana, pretas. Resistem razoavelmente bem às podridões da uva madura (Pommer et al., 2003).

4.1.3. Cultivar Isabel

A uva Isabel é a cultivar de videira mais difundida na Região Vitícolas da Serra Gaúcha, utilizada para vinhos, geléias, sucos ou para mesa. Apresenta certo potencial de acúmulo de açúcar na baga, origina um vinho típico colonial com aroma foxado, mas não aporta muita cor ao vinho. É uma cultivar da espécie *Vitis labrusca*, originária dos Estados Unidos. Apresenta relativa susceptibilidade ao míldio da videira (*Plasmopara viticola*), a requeima (*Alternaria* sp) e à ferrugem (*Phakopsora euvtis*). Comporta-se bem em relação à antracnose (*Elsinoe ampelina*) e ao oídio (*Uncinula necator*) (Camargo, 2004).

Os cachos são médios, cônicos e pouco compactos, pesando em média de 200 a 250 g. As bagas são médias, arredondadas, de cor preta-azulada, coberta de abundante pruína (Pommer et al., 2003)

4.2. Doenças da videira

Nas regiões vitícolas brasileiras, as doenças constituem-se num dos maiores entraves para a cultura. As doenças fúngicas são as mais prevalentes e causam os maiores danos e quando não se realizam medidas de controle, podem acarretar perdas totais da produção.

Entre as principais doenças que causam prejuízos a cultura da videira na região sul do Brasil, destaca-se a antracnose, o míldio, o oídio, a escoriose, o mofo-cinza, a podridão-amarga, a podridão-da-uva-madura, a mancha-das-folhas, as murchas vasculares, as podridões de raízes, a podridão-de-armillariella entre outras. A antracnose, o míldio, o declínio da videira e a podridão-da-uva-madura são os objetos de estudo deste trabalho (Gallotti et al., 2002).

4. 2.1. Míldio (*Plasmopara viticola* (Berkeley & M. A. Curtis) Berleses & de De Toni, 1888).

O míldio é uma doença causada por *Plasmopara viticola* (Berkeley & M.A.Curtis) Berleses. & De Toni. Doença também conhecida como peronospora, mufa ou mofo e causa sérios prejuízos à viticultura em regiões com alta precipitação pluvial, principalmente no final da primavera e verão. Em regiões com orvalho intenso, a doença é importante, podendo a produção ser perdida totalmente quando não forem efetuadas medidas de controle preventivo. Pode também causar efeito negativo na produção futura por enfraquecer a planta, devido à desfolha. Geralmente as cultivares de videiras européias (*Vitis vinifera* L) são mais suscetíveis ao míldio do que as americanas (*Vitis labrusca* L) (Gallotti et al., 2002).

4.2.1.1. Etiologia

O agente causal do míldio é *Plasmopara viticola*. Os esporangióforos formam na sua extremidade esporângios hialinos, elipsóides sendo que cada esporângio contém de 1 a 10 zoósporos biflagelados com dimensões de 6 a 8 x 4 a 5 µm possibilitando sua movimentação em meio líquido (Sônego et al., 2003).

4.2.1.2. Sintomas

O míldio afeta todas as partes verdes da planta. Nas folhas, na face superior aparecem manchas amarelas, translúcidas contra a luz do sol com aspecto encharcado, denominadas de

"manchas de óleo". Em umidade relativa alta acima de 95 %, surge a esporulação branca do patógeno na parte inferior da mancha. A seguir, a área afetada fica necrosada, podendo causar a queda da folha. Nas inflorescências infectadas ocorre o escurecimento da ráquis, podendo ainda haver esporulação do patógeno, seguido pelo secamento e queda dos botões florais. Quando o patógeno ataca as bagas mais desenvolvidas, estas são infectadas pelos pedicelos e o patógeno se desenvolve no interior da baga, tornando-as escuras, duras, com superfícies deprimidas, provocando a queda das mesmas. Este sintoma nesta fase de desenvolvimento é denominado de "míldio larvado" ou grão preto (Pommer et al, 2003).

4.2.1.3. Epidemiologia

A temperatura ideal para o desenvolvimento do patógeno situa-se entre 20 a 25 °C, e a umidade ótima acima de 95 %, sendo necessária a presença de água livre por um período mínimo de 2 horas para haver novas infecções. A estrutura de resistência formada ao final do período de crescimento é denominada de oósporos sendo o principal meio de sobrevivência do patógeno no inverno em regiões de clima temperado persistindo, no solo e em folhas mortas. Quando o solo atinge uma temperatura de 10 °C e, ocorre chuva superior a 10 mm os oósporos germinam, formando os macrosporângios, os quais contem os zoósporos que são responsáveis por infectar o órgão vegetativo (Sônego & Garrido, 2003).

4.2.1.4. Controle

O método de controle mais freqüentemente utilizado pelos produtores é a aplicação de fungicidas de contato e sistêmicos. Fungicidas cúpricos não são recomendados no período da floração, porque o cobre causa fitotoxicidade às flores e nas brotações novas. O fosfito de potássio tem demonstrado eficácia no controle de *P. viticola*. (Sônego et al., 2005).

Outras medidas que contribuem para o controle, mas não substituem os fungicidas são: evitar plantio em baixadas e em solos mal drenados, pois estes favorecem a produção de inoculo primário e secundário responsáveis pelas infecções; adubações devem seguir as recomendações técnicas da análise de solo, evitando adubações nitrogenadas em excesso que favorecem o crescimento vegetativo e maior suscetibilidade dos tecidos verdes da planta às doenças; utilizar espaçamento e poda adequados para melhor arejamento da planta, pois o sistema de sustentação muito baixo cria microclima favorável ao patógeno (Garrido & Sônego, 2007).

4.2.2. Antracnose (*Elsinoe ampelina* (Shear fase conidial de *Sphaceloma ampelinum* De Bary = *Gloeosporium ampelophagum* (Pass.))

A antracnose da videira (*Elsinoe ampelina* (Shear fase conidial de *Sphaceloma ampelinum* De Bary = *Gloeosporium ampelophagum* (Pass.)) também é conhecida como variola, negrão, varola ou olho-de-passarinho. É uma doença originária da Europa e típica de regiões chuvosas e úmidas, ocorrendo em todas as regiões vitícolas brasileiras principalmente no sul do Brasil (Sônego et al., 2005). Os prejuízos causados pela antracnose são tão severos que acabam comprometendo não só a produção do ano como também as produções futuras (Sônego et al, 2003).

4.2.2.1. Etiologia

O agente causal desta doença é o fungo *Elsinoe ampelina*, que é um ascomiceto e a fase assexuada é *Sphaceloma ampelinum*, que são unicelulares, hialinos, oblongos a ovóides, curtos e cilíndricos medindo 2,5 x 5,5 µm, formados sobre conidióforos sobre uma base estromática dentro do acérvulo (Gallotti, 2002).

4.2.2.2. Sintomas

O fungo pode infectar todas as partes verdes da planta, sendo mais prejudiciais no desenvolvimento inicial da planta (Sônego et al., 2005). Nas folhas, pedicelos e nervuras, inicialmente aparecem pequenas manchas castanho-escuras, levemente deprimidas, com a paralisação do crescimento causam o encarquilhamento da folha. As áreas afetadas tornam-se necrosadas, podendo ocorrer à perfuração do tecido foliar (Sônego & Garrido, 2003).

No pecíolo se observam cancos profundos de contorno irregular e bem definido; nas pontas dos brotos surgem lesões que coalescem, dando a impressão de queimaduras similares a injúrias causados por granizo. Após o desenvolvimento dos cachos, o ataque pode ocorrer no pedúnculo e nas bagas, aparecendo lesões arredondadas, necróticas, deprimidas, de coloração castanho-escura e circundadas por um halo pardo-avermelhado, dando um aspecto de “olho-de-passarinho” (Amorim & Kuniyuki, 2005).

4.2.2.3. Epidemiologia

O fungo pode se desenvolver em temperaturas de 2 °C a 32 °C, com temperatura ótima de entre 24 a 26 °C. Períodos chuvosos prolongados, umidade relativa alta, uma lâmina de água livre sobre os tecidos suscetíveis durante no mínimo 12 horas que favorecem o desenvolvimento da doença (Sônego et al., 2005).

O fungo sobrevive de um ano para outro nas lesões dos sarmentos e gavinhas, bem como nos restos de culturas no solo, na forma de escleródios que são a principal forma de sobrevivência do fungo, os quais em condições ideais de temperatura e umidade produzem conídios e mais raramente, ascósporos (Amorim & Kuniyuki, 2005).

4.2.2.4. Controle

As medidas culturais e os fungicidas recomendados para o controle da antracnose da videira. Os fungicidas utilizados são: captan, folpet, dithianon, ziram, clorotalonil, tiofanato metílico, difenoconazole tem mostrado fitotoxicidade em cultivares americanas e imibenconazole (Sônego & Garrido, 2003)

4.2.3. Doenças da madeira ou Declínio da videira (*Botryosphaeria* sp.)

Conforme Sônego et al. (2003), a morte descendente da videira é uma doença que vem aumentando no Rio Grande do Sul e em outros estados do Brasil. Esta doença resulta da interação de fatores bióticos e abióticos que produzem degeneração geral e gradual (Gallotti et al., 2002).

Dependendo da região pode-se encontrar uma ou outra espécie do agente causal, não sendo, portanto causada por apenas uma agente etiológico. Um dos principais agentes causais do declínio ou morte descendente da videira identificados no Brasil é *Botryosphaeria* spp., encontrada em São Paulo e Nordeste.

4.2.3.1. Etiologia

O fungo na sua fase imperfeita *Botryosphaeria* sp., produz picnídios que aparecem agrupados no tecido morto do caule. Seus conídios são hialinos, unicelulares, cilíndrico, com parede espessa e lisa, extremidades arredondadas as quais são observadas no ostíolo na

forma de uma massa branca brilhante sob condições de alta umidade (Sônego & Garrido, 2003).

4.2.3.2. Sintomas

Sintomas de declínio nas plantas aparecem cerca de 2 a 4 anos após infecção (Sônego et al., 2005) sendo bastante genéricos, caracterizados pelo retardamento da brotação na primavera, encurtamento dos internódios e, deformação e descoloração dos ramos. As folhas são menores, apresentando deformações e cloroses, com pequenas necroses nas margens, podendo murchar e cair. Ocorre uma redução drástica do vigor, superbrotamento, seca de ramos e a morte da planta (Garrido & Sônego, 2007).

De acordo com Sônego et al. (2003), verifica-se frutificação irregular e com menor número de bagas. Cancros formados nos ramos velhos e frutificação do fungo nestes locais são características importantes para diagnóstico do agente envolvido no declínio. O corte transversal do ramo afetado mostra a extensão da doença, exibindo uma área da madeira escura morta não funcional em forma de “Vê”, contrastando com a parte ainda viva. O fungo ao infectar as gemas causa escurecimento.

A doença se desenvolve lentamente nas videiras e nenhum sintoma é visto no primeiro ou segundo ciclo de crescimento após infecção. Após o terceiro ou quarto ciclo os cancros podem ser observados e acompanhados pela manifestação dos sintomas das folhagens. Vários anos podem se passar antes de atingir áreas do tronco. Pelo seu lento desenvolvimento, o impacto econômico não é sentido até que a videira atinja a fase adulta (Sônego et al., 2005).

4.2.3.4. Epidemiologia

A infecção ocorre por ferimentos da poda, além disso, o estresse hídrico e desequilíbrio nutricional favorecem o desenvolvimento da doença. Os fungos se desenvolvem numa ampla faixa de temperatura, sendo a temperatura ótima para o desenvolvimento é de 25 °C, e favorecido por alta umidade. A germinação de esporos ocorre dentro dos vasos condutores, usualmente a 2 mm ou menos da superfície do ferimento. O micélio prolifera lentamente dentro dos vasos e depois de algum tempo no lenho (Sônego et al., 2005).

4.2.3.5. Controle

Como medidas gerais de controle recomendam-se: utilizar material sadio; na poda, retirar e destruir o material, desinfetar as ferramentas, proteger os ferimentos da poda, eliminar os esporões que não brotaram pulverizar as plantas durante o repouso com calda bordalesa (Sônego & Garrido, 2003).

4.2.4. Podridão-da-uva-madura (*Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld & Schrenk (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.)).

Segundo Gallotti et al. (2002), a podridão-da-uva-madura causa sérios danos à viticultura, por afetar os frutos, manifestando-se nas variedades viníferas, americanas e híbridas, porém com maiores problemas nas viníferas.

4.2.4.1. Etiologia

A podridão-da-uva-madura é causada pelo fungo *Glomerella cingulata*, forma sexuada de *Colletotrichum gloeosporioides*, o qual produz acérvulos subepidêmicos alinhados em círculo. Os conídios são halianos, com gútula, variando de 12 a 21 x 3,5 a 6 µm arredondados nas terminações e ligeiramente curvados. O peritécio é subsférico com ascos subclavados, medindo 42 a 60 x 10 a 12 µm, com ascósporos que medem 12 a 24 x 4 a 6 µm (Sônego & Garrido, 2003).

4.2.4.2. Sintomas

O fungo incide preferencialmente sobre os cachos, atacando as bagas, que passam a ter manchas pardo-avermelhadas e, geralmente, murcham nas partes afetadas. Com a evolução da doença, aparece a frutificação do fungo, que é mucilaginosa e quase sempre de cor rosada, o que permite a diferenciação entre a podridão-da-uva-madura e a podridão-amarga (Garrido & Sônego, 2007).

4.2.4.3. Epidemiologia

Temperaturas entre 25 °C e 30 °C e alta umidade são condições favoráveis para a ocorrência e desenvolvimento da doença. A penetração ocorre através da cutícula depois da formação do apressório por parte do tubo germinativo oriundo do conídio (Gallotti et al., 2002).

A adubação nitrogenada em excesso e fermentos nas bagas favorecem a infecção e o desenvolvimento da doença. A infecção pode ocorrer desde a floração até a colheita. No final, da floração, ou em bagas jovens, o fungo penetra na cutícula e permanece quiescente até o início da maturação da uva quando os sintomas tornam-se visíveis (Sônego et al., 2005).

4.2.4.4. Controle

O controle da doença deve incluir práticas culturais e pulverizações com fungicidas. A remoção e queima dos frutos mumificados e de restos culturais ajudam a reduzir o inóculo no parreiral. O controle químico deve ser realizado em condições favoráveis a ocorrência da doença, utilizando-se produtos registrados para a cultura (Garrido & Sônego, 2007).

A presença de insetos no vinhedo ocasiona fermentos nas bagas que podem aumentar a severidade da doença nos frutos. Outras medidas são recomendadas como: evitar o excesso de adubação nitrogenada; poda verde para favorecer o arejamento dos cachos e penetração dos fungicidas (Sônego & Garrido, 2003).

4.3. USO DA QUITOSANA NO CONTROLE ALTERNATIVO DE FITOPATÓGENOS

A preocupação com o meio ambiente e com a presença de resíduos de agrotóxicos nos alimentos e a exigência cada vez maior do consumidor em adquirir alimentos saudáveis, obtidos a partir de práticas com baixo impacto ambiental. O que tem levado os pesquisadores a buscarem medidas alternativas para o controle de doenças em plantas, destacando-se a indução de resistência em plantas (Bonaldo et al., 2005) e a utilização de substâncias naturais bioativas com atividade antimicrobiana (Camili et al., 2007).

Dentre estas alternativas que vem sendo estudadas encontra-se a quitosana. Esta substância é um polímero policatiônico β -1,4 ligado à D-glucosamina definido como um diacetilato de quitina, sendo um polissacarídeo natural extraído da casca ou exoesqueleto de crustáceos como camarão, caranguejo, lagosta e de plantas como as algas marinhas, e na parede celular fungos *Aspergillus niger* Van Tieghem, 1867 e *Penicillium notatum* Westling, 1911 (Tan et al., 1996).

Oh et al. (1998) sugeriram que a quitosana tem um duplo efeito na interação patógeno-hospedeiro, ou seja, a atividade antifúngica e a ativação das respostas de defesa da planta, como a produção de enzimas. Bautista-Baños et al. (2003) verificaram, em testes *in*

vitro, efeito fungicida da quitosana a 2 e 3 % sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, assim como o controle da antracnose em frutos de mamão quando tratados com 1,5% de quitosana. Resultados positivos com o uso de quitosana também foram reportados para o controle de *Botrytis cinerea* em uvas e morangos (Ait Barka et al., 2004; Bhaskara Reddy, 2000) e para *Puccinia arachidis*, em amendoim (Sathiyabama & Balasubramanian, 1998).

Devido à habilidade da quitosana em formar películas semipermeáveis sobre produtos vegetais, *in natura*, está contribuindo para aumentar a vida de prateleira e a manutenção das características qualitativas, pois esta camada na superfície modifica a atmosfera interna e diminuir o desenvolvimento de microrganismos (Botrel et al., 2007). Por isso, a quitosana tem sido aplicada na pós-colheita de frutos. Este polímero pode retardar a severidade de doenças causada por diferentes patógenos, em frutos como: mamões, tomates, pepinos, maçãs, uvas. Entre os mecanismos de ação envolvidos encontram-se o efeito direto sobre o fitopatógeno, a indução de mecanismos de resistência no hospedeiro, e a prevenção de contaminações, quando utilizada para recobrir ferimentos (El Ghaouth et al., 1994; Ben-Shalon et al., 2003; Liu et al., 2007).

Camili et al. (2007), com o objetivo de avaliar o efeito da quitosana na proteção pós-colheita de cachos de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea* e, seus efeitos sobre o desenvolvimento do patógeno, *in vitro*, verificaram que o crescimento micelial do fungo foi completamente inibido pelas concentrações de 0,5 a 2,0 % de quitosana durante o período de incubação de cinco dias a 22 ± 1 °C. Resultados semelhantes, também foram obtidos por El Ghaouth et al. (1992) quando trataram frutos de morango com soluções de quitosana a 10 mg L^{-1} , e posterior inocularam com *B. cinerea* e *Rhizopus stolonifer* verificaram que houve diminuição na incidência destas doenças. Este resultado foi atribuído ao efeito fungistático da quitosana sobre o patógeno, demonstrado pelos testes *in vitro*, onde o polissacarídeo reduziu a germinação de esporos e o crescimento micelial, principalmente de *B. cinerea* e, o polissacarídeo não aumentou a atividade de enzimas peroxidases nos frutos (Bassetto, 2006).

Romanazzi et al. (2002) observaram redução na incidência e severidade do Mofo Cinzento causado por *B. cinerea* em uvas, quando a quitosana 10 mg mL^{-1} foi aplicada na forma de gotas sobre ferimentos, preventivamente à inoculação. Liu et al. (2007) obtiveram resultados semelhantes quando a mesma dose de quitosana foi aplicada na forma de gotas sobre ferimentos em tomates, à inoculação com *Penicillium expansum* e *B. cinerea*.

Vários trabalhos realizados *in vitro* demonstram o efeito fungistático da quitosana. Maia et al. (2007) verificaram que a quitosana na dose de $9,0 \text{ mL L}^{-1}$ reduziu o crescimento fúngico de *Colletotrichum gloeosporioides*. Cia (2005) verificou que além da inibição do

crescimento micelial nas concentrações de 0,25 a 4 %, a quitosana suprimiu a germinação de conídios de *C. gloesporioides*, agente causal da antracnose do mamão.

Liu et al. (2007) verificaram total inibição do crescimento micelial de *B. cinerea* quando utilizou 5 % de quitosana. A total inibição da germinação de esporos quando utilizaram 0,5 e 1 % de quitosana, para *P. expansum* e *B. cinerea* respectivamente. Di Piero & Garda (2008) observaram redução do crescimento micelial do fungo *C. lindemuthianum*, a partir de 1 mg L⁻¹ de quitosana quando colocada em meio BDA (ágar-batata-dextrose). Muñoz et al (2009) verificaram que quitosana a 2 % reduziu em 63 % o crescimento micelial de *Colleotrichum* sp..

Segundo Benhamou (1996), a aplicação de quitosana não é somente eficaz na inibição ou retenção do crescimento do patógeno, mas também em induzir mudanças na morfologia, na estrutura e na desorganização molecular da célula do fungo.

Além da atuação como fungicida natural, outra característica da quitosana é o potencial de ativar enzimas (Bautista-Baños et al., 2006) e compostos fenólicos (Benhamou et al., 1996) relacionadas com o mecanismo de defesa das plantas.

A quitosana também pode induzir a atividade da enzima fenilalanina amônia liase (PAL) e respostas biológicas, como a produção e acúmulo de fitoalexinas em milho e videira, (Vander et al., 1998; Romanazzi et al., 2006). Aziz et al. (2006) obtiveram a máxima indução na atividade das enzimas quitinases e β -1,3-glucanase quando utilizaram 300 mg mL⁻¹ de oligômeros de quitosana em videiras cv. Chandonnay.

Diante do exposto, a utilização de quitosana como medida alternativa aos fungicidas sintéticos, será promissora no controle de fitopatógenos, na agricultura orgânica, sem causar danos a saúde humana, pois a quitosana tem diversas aplicações na indústria farmacêutica, como fibra dietética, na biomedicina, como suturas cirúrgicas, implantes dentários, reconstituição óssea, lentes de contato, encapsulamento de materiais (Rinaudo & Domard, 1989).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. BASF-The chemical Company, São Paulo, 505-516p, 2007.

AIT BARKA, E.; EULLAFFROY, P.; CLÉMENT, C.; VERNET, V. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. **Plant Cell Reports**, Heidelberg, v.22, n. 8, p. 608-614, 2004.

AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da Videira. Cap70. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.) (2005) **Manual de Fitopatologia. Doenças das Plantas Cultivadas**. 4ª. Ed. São Paulo SP. Ceres. v2, p.639-651, 2005.

AZIZ, A.; TROTEL-AZIZ, P.; DHUICQ, L.; JEANDET, P.; COUDERCHET, M.; VERNET, G. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. **Phytopathology**, Saint Paul, v.96, n.11, p.1188-1194, 2006.

BASSETTO, E. Quantificação de danos ao longo da cadeia produtiva de pêssegos e avaliação de métodos alternativos de controle de doenças pós-colheita. Piracicaba, 2006. 126f. Tese (Doutorado em fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LOPEZ, M.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, Guildford, v.22, n. 9, p. 1087-1092, 2003.

BAUTITA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LOURENÇO, A.N.; VELÁS-DEL VALLE, M.G.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BARKA, E.A.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, Guildford, v. 25, n. 2, p. 108-118, 2006.

BENHAMOU, N. Elicitor-induced plant defenses pathways. **Trends in Plant Science**, London, v. 1, n. 7, p. 233-240, 1996.

BEN-SHALOM, N.; ARDI, R.; PINTO, R.; AKI, C.; FALLIK, E. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. **Crop Protection**, London, v.22, n.2, p. 285–290, 2003.

BHASKARA REDDY, M.V; BELKACEMI, K.; CORCUFF, R.; CASTAIGNE, F.; ARUL, J. Effect of pre-harvest chitosan sprays on pos-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam v. 20, n.1, p 39-51, 2000.

BHASKARA REDDY, M.V., ARUL, J., ANGERS, P., COUTURE, L., Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed Quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.47, n. 3, p.1208–1216, 1999.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: Noções básicas e perspectivas. In: **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, Piracicaba, 263p, 2005.

BOTREL, D.A; SOARES, N.F.F.; GERALDINE, R. M.; PEREIRA, R.M.; FONTES, E.A.F. Qualidade de alho (*Allium sativum*) minimamente processado envolvido com revestimento comestível antimicrobiano. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.27, n.1, p.32-38, 2007.

CAMARGO, U. A. Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado- Porta-enxertos e cultivares de videira. **Embrapa Uva e Vinho**, Sistema de Produção n. 4, 2003. Disponível em: <<http://www.sistemadeproducao.cnptia.embrapa.br/uva>. Acesso em: 15 maio 2008.

CAMARGO, U. A. Isabel precoce: Alternativa para a viticultura brasileira. **Comunicado Técnico**, Bento Gonçalves, n. 54, p. 1-6, 2004.

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 cinerea*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, p. 215-221, 2007.

CHEAH, L. H.; PAGE, B.B.C.; SHEPHERD, R. Chitosan coating for inhibition of *sclerotinia* rot in carrots. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v.25, p.89:92, 1997.

CIA, P. Avaliação de agentes bióticos e abióticos na indução de resistência e no controle pós-colheita da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamão (*Carica papaya*).2005. 187 f. **Tese** (Dourado em Fitopatologia) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroiz” ESALQ, Piracicaba, 2005.

DAYKIN, M.E.; MILHOLLAND, R.D. Ripe rot of muscadine grape caused by *Colletotrychum gloeosporioides* and its control. **Phytopathology**, v.17, n.6, p. 710-14, 1984.

DI PIERO, M.D.; GARDA, M.V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanases em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v.43, n.9, p.1121-1128, 2008.

EL-GHAOUTH, E.A.; ARUL, J.; WILSON, C.; BENHAMOU, N. Ultrastructural and cytochemical aspects of the effect of chitosan on decay of bell pepper fruit. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.44, n.6, p.417-422, 1994

EL-GAOUTH, A.; ARUL, J.; GRENIER, J.; ASSELIN, A. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, St. Paul, v. 82, n. 4, p. 398-402, 1992.

GALLOTTI, G.J.M.; JÚNIOR, A.G.; SÔNEGO, O.R. Controle das doenças de plantas da videira. Cap15. In: Laércio Zambolim.../et al./ **Controle de doenças de plantas frutíferas-Viçosa**, v.2, p.939-985, 2002.

GARRIDO, R.L.; SÔNEGO, R.O. Manejo de Doenças de videira. Cap4. In: NEF/UFLA (org) Manejo integrado de doenças de fruteiras. **Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, 2007. Lavras, p.65-86, 2007.

GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.R.; GOMES, V.N. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no Estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira** v.29, n.3, p.322-324, 2004.

HOLLOMAN, D.W.; BUTTERS, J.A.; HARGREAVES, J.A. Resistance to sterol biosynthesis-inhibiting fungicides: current status and biochemical basis. **American Chemical Society**, Washington, ACS Symposium Series, n. 421, p.199-214, 1990.

LIU, J.; TIAN, S.; MENG, X.; XU, Y. Effects of chitosan on control of postharvest disease and physiological response of tomato fruit. **Postharvest Biology and Tecnology**, Amsterdam, v. 44, n.3, p.300-306, 2007.

MAIA, A.J.; LEITE, C.D.; UBER, S.C.; BOTELHO, R.V.; DE MORAIS, L.K.; FARIA, C.M.D.R. Efeito da quitosana *in vitro* para o controle da antracnose do caqui (*Colletotrichum gloeosporioides*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, v.32, 2007, Maringá-PR. **Fitopatologia Brasileira** (Suplemento), 2007, 201p.

MIELE, A.; MIOLO, A. O sabor do vinho/ Alberto Miele, Adriano Miolo. – Bento Gonçalves: Vinícola Miolo: Embrapa Uva e Vinho, 2003, 136p.

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

OH, S.K.; CHO, D.; YU, S.H. Development of integrated pest management techniques using biomass for organic farming (I). Suppression of late blight and fusarium wilt of tomato by chitosan involving both antifungal and plant activating activities. **Korean Society of Plant Pathology**, Suwon, v.14, p.278–285. 1998.

PERUCH, L.A.M.; MEDEIROS, A.M.; BRUNA, E.D.; STADINIK, M. Biomassa cítrica, extrato de algas, calda bordalesa e fosfitos no controle do míldio da videira, cv. Niágara Branca. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.2, p.143-148, 2007.

POMMER, C.V.; TERRA, M.M.; PIRES, E.J. Cultivares, melhoramento e fisiologia – Cultivares de videira. Cap. 4 In: POMMER, C.V. Ed. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**/editado por C.V. POMMER. Porto Alegre: Cinco Continentes, p109-294, 2003.

PROTAS, J.F.S.; CAMARGO, U.A.; MELLO, L.M.R. Vitivinicultura brasileira: regiões tradicionais e pólos emergentes. **Informe agropecuário**. v.27, n.234, p.7-15, 2006.

RINAUDO, M.; DOMARD, A. Solution properties of chitosan. In: SKJAK-BRAE, G.; ANTHONSEN, T.; SANDFORD, P. Chitin and Chitosan. Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications. **London and New York: Elsevier**, p. 71-86, 1989.

ROMANAZZI, G.; GABLER, F.M.; SMILANICK, J.L. Preharvest chitosan and postharvest UV irradiation treatments suppress gray mold of table grapes. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n.4, p.445-450, 2006.

ROMANAZZI, G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; DI VENERE, D.; SALERNO, M. Effect of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. **Journal of Food Science**, Chicago, v.67, p.1862–1867, 2002.

SATHIYABAMA, M.; BALASUBRAMANIAM, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**, London, v.17, n. 4, 307-313, 1998.

SANTOS, J.E. dos; SOARES, J da P.; DOCKAL, E.R.; FILHO, S.P.C.; CAVALHEIRO, E.T.G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros**, São Carlos, v.13, n.4, 2003.

SÔNIGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; JUNIOR GRIGOLETTI, A. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. **Circular Técnico Embrapa Uva e Vinho**, 2005. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/circular/cir056.pdf>>. Acesso em: 16 jul. 2008.

SÔNIGO, O. R.; GARRIDO, L. R. Uvas para Processamento Fitossanidade. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2003, p.188.

STADINIK, M.J.; TALAMINI, V. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA-UFSC, 293p., 2004.

TAN, S.C.; TAN, T.K.; WONG, S.M.; KHOR, E. The chitosan yield of Zygomycetes at their optimum harvesting time. **Carbohydrate Polymers**, London, v.30, n.4, p.239–242, 1996.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M. Produção integrada de maçãs no Brasil. **Embrapa Uva e Vinho**, 2003. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/>>. Acesso em: 15 agos. 2008.

VANDER, P.; VARUM, K.M.; DOMARD, A.; EL-GUEDDARI, N.E.; MOERSCHBACHER, B.M. Comparison of the ability partially N-acetylated chitosans and chitooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves. **Plant Physiology**, Urbana, IL, v.118, p.1353–1359, 1998.

YOSHIHIKO, O.; MAYUMI, S.; TAKAHIRO, A.; HIROYUKI, S.; YOSHIHIRO, S.; ICHIRO, N.; TETSUAKI, T. Antimicrobial activity of chitosan with different degrees of acetylation and molecular weights. **Biocontrol Science**, v.8, p.25-30, 2003

CAPÍTULO 1 - INFLUÊNCIA DA QUITOSANA NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Botryosphaeria* SP., AGENTE CAUSAL DO DECLÍNIO DA VIDEIRA E *Glomerella cingulata* AGENTE CAUSAL DA PODRIDÃO-DA-UVA-MADURA

RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da quitosana sobre o crescimento micelial de *Botryosphaeria* sp., agente causal do declínio da videira e *Glomerella cingulata*, agente causal da podridão-da-uva-madura. Os isolados fúngicos foram cedidos pela Embrapa Uva e Vinho. Adicionaram ao meio BDA às doses de 0, 10, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹ de quitosana. Em seguida, estes meios foram autoclavados, e vertidos em placas de Petri de 70 mm de diâmetro. Posteriormente inocularam-se os fungos a partir de discos de 8 mm de diâmetro colocados no centro da placa. Tais placas foram incubadas em câmara de crescimento (BOD) a 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 16 horas de luz. O delineamento experimental adotado para o experimento foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 4 repetições. O crescimento micelial foi avaliado às 48, 96 e 144 horas após incubação, por meio da medição do diâmetro da colônia de *Botryosphaeria* sp. e para *Glomerella cingulata* foram feitas mais duas avaliações adicionais às 192 e 240 horas após repicagem. Para *Botryosphaeria* sp. houve efeito quadrático em função das doses de quitosana, sendo que para o tratamento a 160 mg L⁻¹ a inibição foi de 30 % após 48 horas de incubação. Para *G. cingulata* houve efeito quadrático em função das doses de quitosana, nos diferentes períodos de avaliação, sendo que a maior concentração inibiu o crescimento micelial do fungo entre 41 e 56 %.

Palavras-chave: doenças fúngicas, videira, *Vitis*, controle alternativo.

ABSTRACT

CHITOSAN INFLUENCE ON MYCELIAL GROWTH OF *Botryosphaeria* sp, GRAPEVINES DECLINE CAUSAL AGENT AND *Glomerella cingulata*, GRAPEVINES PUTRIDITY CAUSAL AGENT

This research aimed to evaluate the chitosan effect on the mycelial growth of *Botryosphaeria* sp, grapevines decline causal agent and *Glomerella cingulata*, grapevines putridity causal agent. The isolated fungi were provided by Embrapa Uva e Vinho. Chitosan doses of 0, 10, 20, 40, 80 and 160 mg L⁻¹ were added in PDA growth medium. In the sequence, these growth mediums were autoclaved and poured in 70 mm-diameter glass petri dishes. Afterwards, the fungi were inoculated from 8 mm-diameter discs put in the center of the dish. Those dishes were incubated in a growth camera (BOD) at 25 ± 1°C and 16 hours of photoperiod. The adopted experimental design was completely randomized, with 5 treatments and 4 replications. The mycelial growth was evaluated 48, 96 and 144 hours after the incubation, by the *Botryosphaeria* sp colony diameter measuring, and for *Glomerella cingulata* there were two additional evaluations, 192 and 240 hours after the replication. There was square effect due to chitosan doses for *Botryosphaeria* sp, considering that the highest chitosan concentration inhibited the fungal mycelial growth among 41 and 56%.

Keywords: fungal diseases, grapevines, *Vitis*, alternative control.

3.1. INTRODUÇÃO

No Brasil, as doenças e pragas representam uma séria ameaça à viticultura, constituindo-se, em determinadas regiões, em fator limitante a sua exploração econômica. Desta forma, os métodos de controle, além de necessários, assumem particular importância visto que precisam ser eficazes e eficientes e devem ainda manter um custo de produção competitivo no mercado (Farjado, 2003).

O número de casos de declínio e morte de plantas de videira tem aumentado de forma acentuada nos últimos anos, causando grande redução de produtividade (Garrido et al., 2004). Segundo Kuhn (1981), dentre os principais agentes causais associados a este problema, encontram-se os fungos que causam apodrecimento do tronco e ramos como *Botryosphaeria* sp., *Eutypa lata* (Persoon) Tulasne & C. Tulasne 1863, *Phomopsis viticola* (Saccardo) Saccardo 1880 e *Stereum* sp. Hill ex Persoon 1794. A podridão-da-uva-madura causada pelo fungo *Glomerella cingulata*, tem causado perdas expressivas na produção de uva para processamento. Caso medidas adequadas de controle não sejam tomadas as perdas podem chegar a 100 %, comprometendo toda a produção (Garrido & Sônego, 2009).

Para o controle destas doenças recomenda-se a rotação de fungicidas sintéticos. No entanto, a consciência ambiental, no que diz respeito à segurança alimentar leva as pessoas a questionarem a agricultura moderna, aumentando a demanda pela produção orgânica, a qual preserva os agroecossistemas pelo uso adequado dos recursos naturais e obtém alimentos de melhor qualidade (Schifferstein & Oude Ophuis, 1998).

Considerando estes fatos, faz-se necessário a utilização de métodos alternativos para o controle destas doenças. Neste contexto, o uso de quitosana para o controle de patógenos vem sendo demonstrado em vários trabalhos. Este composto é um polímero policatiônico β -1,4 ligado à D-glucosamina definido como um diacetilato de quitina, sendo um polissacarídeo natural extraído da casca ou exoesqueleto de crustáceos como camarão, caranguejo, lagosta e da parede celular de alguns fungos como *Rhizopus nigricans* (Khor, 2001). Oh et al. (1998), têm sugerido que a quitosana tem um duplo efeito na interação patógeno-hospedeiro, atuando diretamente sobre o patógeno ou ativando os mecanismos de defesa das plantas. Bhaskara Reddy et al (1999), verificaram que a quitosana protegeu tomate, pepino, ervilha, melão, morango, alface contra mofos pulverulentos. Cheah et al. (1997), observaram que 2 e 4 % de solução de quitosana inibiram o crescimento de *Sclerotinia* sp. no armazenamento de cenouras.

Neste sentido, o objetivo do trabalho foi de avaliar o efeito de doses crescentes de quitosana sobre o crescimento micelial dos fungos *Botryosphaeria* sp., e *Glomerella Cingulata*.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Para este experimento foram utilizados isolados dos fungos *Botryosphaeria* sp e *Glomerella cingulata* provenientes da micoteca da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves-RS. Como fonte de quitosana foi utilizada o produto comercial Fish Fértil Quitosana® (20g L⁻¹ de quitosana).

Para realização do experimento, *in vitro*, adicionaram-se ao meio de cultivo batata-dextrose e ágar (BDA) as doses de 0, 10, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹ de quitosana. Em seguida, os meios foram autoclavados durante 20 minutos, a 120 °C e pressão de 1 atm e, vertidos em placas de Petri de 70 mm de diâmetro. Inocularam-se os fungos a partir de discos de 8 mm de diâmetro colocados no centro de cada placa de Petri. As placas foram armazenadas em câmara de crescimento a 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 16 horas. O crescimento micelial foi avaliado a cada dois dias após repicagem, por meio da medida do diâmetro em mm da colônia de *Botryosphaeria* sp. e *Glomerella cingulata*.

O delineamento experimental para os dois ensaios foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos, cinco repetições. A parcela experimental constituída por uma placa de Petri. Os resultados foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial ao nível de 5 % probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para *Botryosphaeria* sp. houve efeito quadrático no crescimento micelial em função das doses de quitosana. A dose de 160 mg L⁻¹ inibiu em 37 % o crescimento do fungo após 48 horas de incubação (Figuras 1 e 2). Para *Glomerella cingulata* houve efeito quadrático em função das concentrações de quitosana, em todos os períodos de avaliação, sendo que a maior concentração inibiu entre 41 e 56 % o crescimento micelial em relação ao tratamento testemunha (Figuras 3 e 4).

De acordo com Leite et al. (2007), a quitosana teve efeito sobre o crescimento de *Fusicoccum amygdali*, isolado de ameixeira, a partir da dose 3,0 mL L⁻¹. Bautista-Baños et al. (2003) verificaram em testes *in vitro* efeito fungicida da quitosana a 2 e 3 % sobre o fungo

Colletotrichum gloeosporioides, assim como o controle da antracnose em frutos de mamão quando tratados com 1,5 % de quitosana. Resultados positivos com o uso de quitosana também foram reportados para o controle de *Botrytis cinerea* em uva e morango (Ait Barka et al., 2004; Bhaskara Reddy, 2000) e *Puccinia arachidis* em amendoim (Sathiyabama & Balasubramanian, 1998).

Camili et al. (2007), verificaram o efeito inibidor da quitosana na proteção pós-colheita de cachos de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea* e seu efeito sobre o desenvolvimento do patógeno, *in vitro*, observaram que o crescimento micelial do fungo foi completamente inibido pelas concentrações de quitosana a 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 % num período de incubação de cinco dias a 22 ± 1 °C. El Gaouth et al. (1992) demonstraram que soluções de quitosana a 10 mg L^{-1} , diminuíram a incidência de doenças em frutos inoculados com *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer*.

Neste trabalho, constatou-se que as diferentes concentrações de quitosana reduziram o crescimento micelial de *Botryosphaeria* sp. e *Glomerella cingulata* em todos os períodos de avaliações. Pesquisas em campo devem ser realizadas para elucidar a ação da quitosana, e futura indicação do produto para o controle das doenças em pomares agroecológicos.

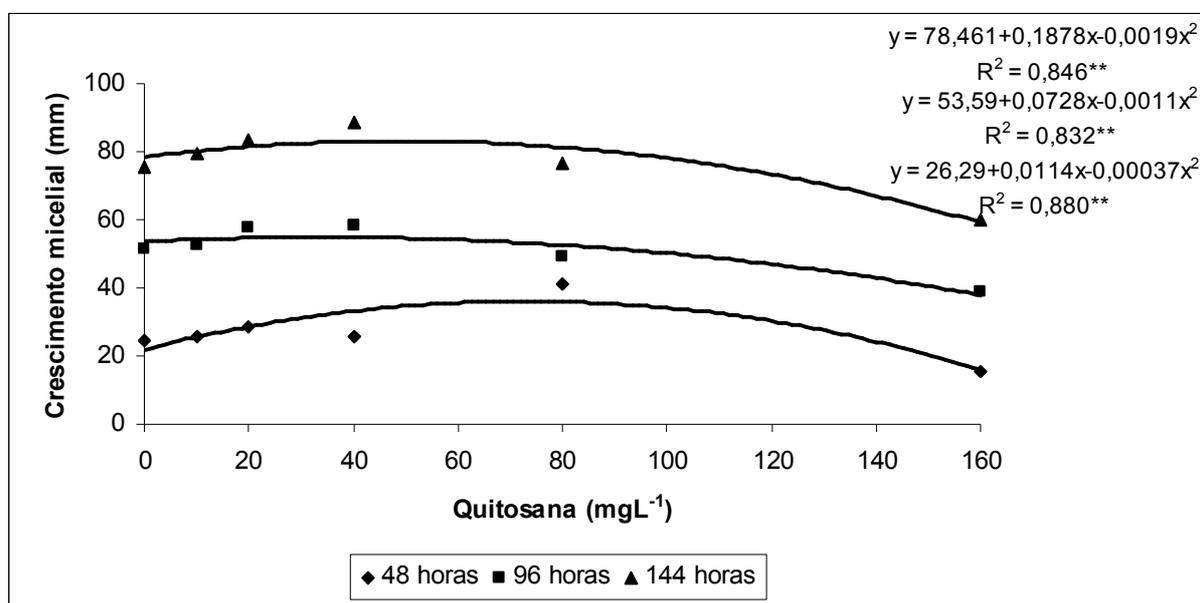


Figura 1. Crescimento micelial de *Botryosphaeria* sp. em meio de cultivo BDA, contendo as diferentes concentrações de quitosana, aos 48, 96 e 144 horas após incubação em câmara de crescimento a 25 °C e fotoperíodo de 16 horas. * Significativo a 5 % de probabilidade.

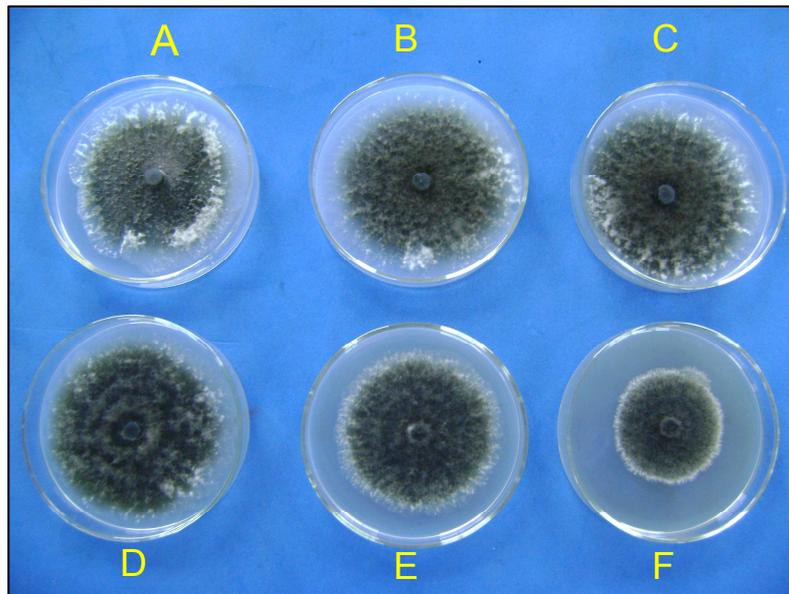


Figura 2. Crescimento micelial de *Botryosphaeria* sp. em meio de cultivo BDA, contendo as diferentes concentrações de quitosana, as 144 horas após incubação em câmara de crescimento a 22 °C e fotoperíodo de 16 horas. A = 0 mg L⁻¹ de quitosana; B = 10 mg L⁻¹ de quitosana; C = 20 mg L⁻¹ de quitosana; D = 40 mg L⁻¹ de quitosana e E = 80 mg L⁻¹ de quitosana; F = 160 mg L⁻¹ de quitosana.

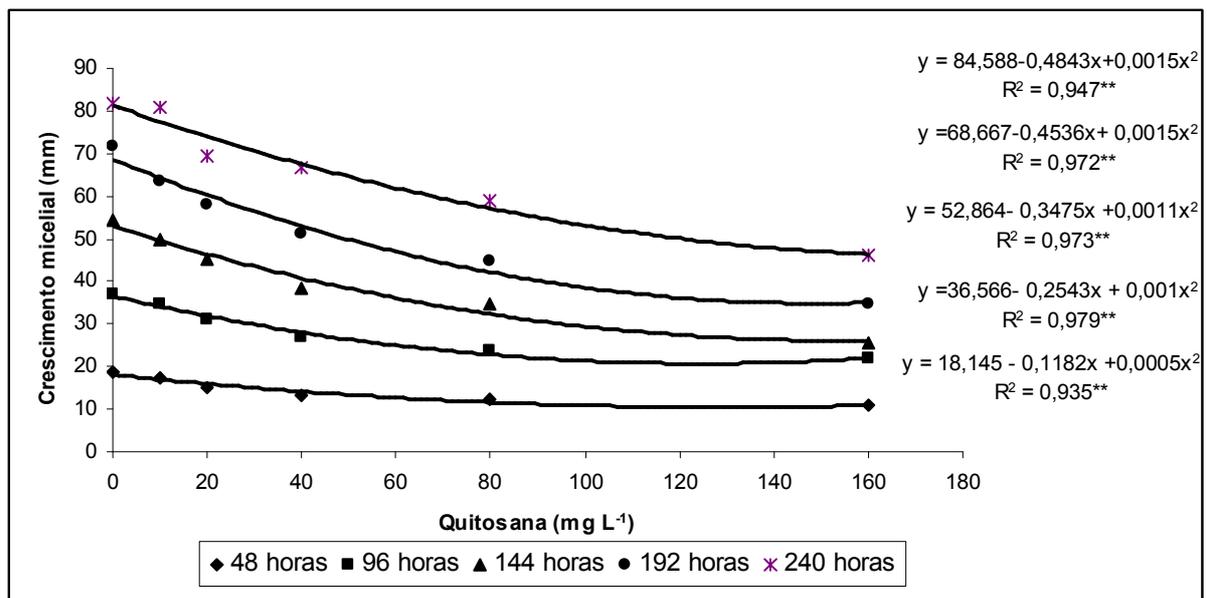


Figura 3. Crescimento micelial de *Glomerella cingulata* em meio de cultivo BDA, contendo diferentes concentrações de quitosana, aos 48, 96, 144, 192 e 240 horas após incubação em câmara de crescimento a 25 °C e fotoperíodo de 16 horas. * Significativo a 5 % de probabilidade.

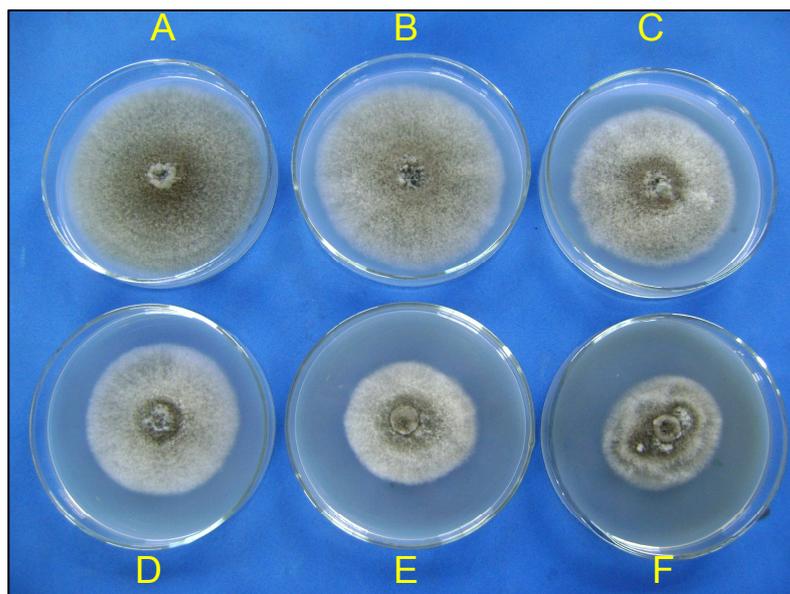


Figura 4. Crescimento micelial de *Glomerella cingulata* em meio de cultivo BDA, contendo diferentes concentrações de quitosana, às 240 horas após incubação em câmara de crescimento a 25 °C e fotoperíodo de 16 horas. A = 0 mg L⁻¹ de quitosana; B = 10 mg L⁻¹ de quitosana; C = 20 mg L⁻¹ de quitosana; D = 40 mg L⁻¹ de quitosana e E = 80 mg L⁻¹ de quitosana; F = 160 mg L⁻¹ de quitosana.

3.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIT BARKA, E.; EULLAFFROY, P.; CLÉMENT, C.; VERNET, V. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. **Plant Cell Reports**, Heidelberg, v.22, n. 8, p. 608-614, 2004.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Effects of chitosan and extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, London, v.22, n. 9, p. 1087-1092, 2003.

BHASKARA REDDY, M.V., ARUL, J., ANGERS, P., COUTURE, L., Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed Quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.47, n. 3, p.1208–1216, 1999.

BHASKARA REDDY, M.V; BELKACEMI, K.'CORCUFF, R.; CASTAIGNE, F.; ARUL, J. Effect of pre-harvest chitosan sprays on pos-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam v. 20, n.1, p 39-51, 2000.

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 cinerea*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, p. 215-221, 2007.

CHEAH, L. H., PAGE, B.B.C., SHEPHERD, R., Chitosan coating for inhibition of *sclerotinia* rot in carrots. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**. v.25, p.89-92. 1997.

EL-GHAOUTH, E.A., ARUL, J., GRENIER, J., ASSELIN, A. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. **Phytopathology**, S. Paul, v.82, n.4, p.398-402, 1992.

FARJADO, T.V.M. Uva para processamento. Fitossanidade. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves-RS, Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2003, 131p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar, p.255-258, 2000.

GARRIDO, L.R., SÔNEGO, O.R.; GOMES, V.N. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no Estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Piracicaba, v.29, n.3, p.322-324, 2004.

GARRIDO, R.L.; SÔNEGO, O.R. Podridão ataca a uva madura. **Revista Campo & Negócios** HF. Disponível em: <http://www.revistacampoenegocios.com.br>. Acessado em 2009.

KHOR, E. Chitin: Fulfilling a Biomaterials Promise; **Elsevier Science**, Oxford, U.K., 2001.

KUHN, G.B. Morte de plantas de videira (*Vitis* spp.) devido à ocorrência de fungos causadores de podridões radiculares e doenças vasculares. Bento Gonçalves: Embrapa - UEPAE, Embrapa - UEPAE. **Circular Técnica**, 6. 1981.

LEITE, C.D.; UBER, S.C.; MAIA, A.J.; BOTELHO, R.V.; DE MORAIS, L.K.; FARIA, C.M.D.R. Efeito da quitosana in vitro para o controle do cancro do ramo da ameixeira (*Fusicoccum amygdali*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, v.32, 2007, Maringá-PR. **Fitopatologia Brasileira** (Suplemento), 2007, 201p.

OH, S.K., CHO, D., YU, S.H.. Development of integrated pest management techniques using biomass for organic farming (I). Suppression of late blight and fusarium wilt of tomato by chitosan involving both antifungal and plant activating activities. **Korean Society of Plant Pathology**, Suwon, v.14, p.278-285. 1998

SATHIYABAMA, M.; BALASUBRAMANIAM, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**, London, v.17, n. 4, 307-313, 1998.

SCHIFFERSTEIN, H. N. J., & OUDE OPHUIS, P. A. M. Health-related determinants of organic food consumption in the Netherlands. **Food Quality and Preference**, France, v.9, n.3, p.119–133, 1998.

CAPÍTULO 2 - QUITOSANA COMO OPÇÃO DE CONTROLE DO MÍLDIO PARA A VITICULTURA SUSTENTÁVEL

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes concentrações de quitosana no controle de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio, além do seu efeito no desenvolvimento vegetativo de das videiras, Cabernet Sauvignon e Merlot. No ano de 2007, as estacas foram plantadas em vasos de plástico rígido, tendo como substrato areia e mantidas em casa de vegetação sob nebulização intermitente. Após 60 dias iniciaram-se as aplicações de quitosana, em intervalos de 12 dias. As concentrações de quitosana foram: 0; 20; 40 e 80 mg L⁻¹. As plantas foram inoculadas com suspensão de esporos de *Plasmopara viticola* na quantidade de 1x10⁶ esporângios mL⁻¹ sete dias após a nona aplicação de quitosana. Com o aparecimento dos primeiros sintomas, a severidade do míldio foi avaliada em 8 folhas por planta, previamente identificadas, utilizando-se uma escala diagramática com notas de um a doze que corresponde de 0 % a 100 % da área foliar lesionada. A avaliação foi realizada aos 28 dias após a inoculação. Houve efeito linear negativo em função das doses de quitosana para cv. Cabernet Sauvignon. O decréscimo observado foi de 76,8% com a dose de 160 mg L⁻¹ quitosana. Para os ensaios realizados no ano seguinte utilizaram-se estacas pré-enraizadas plantadas em vasos contendo como substrato areia e Plantmax[®] na proporção 1: 1 e a cada sete dias foram pulverizadas com soluções aquosas nas concentrações de quitosana: 0, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹. Após 60 dias em casa de vegetação as foram avaliadas variáveis massa de raízes e folhas secas, comprimento médio de raízes e área foliar. Metade do número total de plantas foi inoculada com suspensão de esporos do fungo *Plasmopara viticola* 48 horas após a segunda aplicação de quitosana. Os primeiros sintomas apareceram dez dias após inoculação, avaliações da severidade foram realizadas a cada dois dias. A quitosana a 160 mg L⁻¹ reduziu a severidade do míldio em 70,2 % e 79,1 % nas cultivares Merlot e Cabernet Sauvignon, respectivamente. Diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos para as variáveis referentes ao desenvolvimento de plantas não foram observadas.

Palavras-chaves: *Vitis vinifera*, *Plasmopara viticola*, manejo de doenças, controle alternativo, agroecologia.

ABSTRACT

CHITOSAN AS AN OPTION TO CONTROL MILDEW IN THE SUSTAINABLE VINEGROWING

This research aimed to evaluate the effect of chitosan different concentrations on *Plasmopara viticola*, mildew causal agent control, and its effect on grapevines vegetative development, cv. Cabernet Sauvignon and Merlot. In 2007, the cuttings were planted in rigid plastic vases, with sand as substrate and kept in greenhouse under intermittent nebulization. After 60 days, chitosan sprayings were started, in 12-day intermittence. Chitosan concentrations were 0, 20, 40 and 80 mg L⁻¹. The plants were inoculated with *Plasmopora viticola* spore suspension in the amount of 1x10⁶ sporangia mL⁻¹, seven days after the ninth chitosan spray. As the onset began, mildew severity was evaluated on 8 previous identified leaves per plant, using a diagrammatic scale with grades among one and twelve, which correspond from 0% to 100% of the injured herbage accumulation. The evaluation was done 28 days after the inoculation. There was a negative linear effect due to chitosan doses on cv. Cabernet Sauvignon. The decrease was 76,8% in 160-mg L⁻¹ chitosan dose. For the following year experiments, pre-rooted cuttings planted in vases containing sand and Plantmax® in the rate of 1:1 were used, and each seven days were sprayed waterish solutions with chitosan concentrations of: 0, 20, 40, 80 and 160 mg L⁻¹. Sixty days later in greenhouse, the variables root and dry leaves weight, mean root length and foliar area were evaluated. Half of the total number of plants was inoculated in *Plasmopara viticola* spore suspension, 48 hours after the second chitosan spray. Ten days after the inoculation, first symptoms began, and severity evaluations were done each two days. Chitosan dose of 160 mg L⁻¹ decreased mildew severity by 70,2 and 79,1% in Merlot and Cabernet Sauvignon cultivars, respectively. There was no significant difference among treatments on variables related to plant development.

Keywords: *Vitis vinifera*, *Plasmopara viticola*, disease management, alternative control, agroecology.

1.1. INTRODUÇÃO

Nas regiões vitícolas brasileiras, as doenças constituem-se num dos maiores entraves para a cultura. As doenças fúngicas são as mais prevalentes e causam os maiores danos (Gallotti et al., 2002). Entre as principais doenças fúngicas destaca-se o míldio, causado por *Plasmopara viticola* (Berk & Curtis) Berl. & de Toni, sendo responsável por prejuízos significativos em videiras na região sul do Brasil. Em regiões com alta precipitação no final da primavera e verão e com manhãs de orvalho intenso, a doença é importante, podendo a produção ser perdida totalmente quando não forem efetuadas medidas de controle. A temperatura ideal para o desenvolvimento do patógeno é de 20 °C a 25 °C, e a umidade ótima acima de 95 %. Geralmente as cultivares de uvas européias (*Vitis vinifera* L) são mais suscetíveis ao míldio do que as americanas (*Vitis labrusca* L) (Sônego & Garrido, 2003).

O fungicida mais utilizado e no controle do míldio é a calda bordalesa à base de cobre. Entretanto, assim como todos os fungicidas cúpricos, tem o inconveniente de poder causar fitotoxidez nas partes jovens da planta (Yurela, 2005), além de comprometer o sistema de sustentação, devido sua ação corrosiva. Em função destas características, os cúpricos são recomendados apenas após a frutificação. Outros fungicidas sintéticos também são utilizados na viticultura em larga escala para o controle destas doenças, tais como: Metalaxyl, Mancozeb e Cymoxanil (Amorim & Kuniyuki, 2005).

Problemas de resistência de patógeno e fitotoxidez são comuns devido ao uso abusivo e despreparo dos agricultores na utilização dos agrotóxicos (Peruch et al., 2007). Devido a tal fato há a necessidade de desenvolvimento de pesquisas com a produção integrada, visando utilizar técnicas alternativas para o controle de doenças que conseqüentemente diminuirão o risco de contaminação do produtor, do consumidor e do ambiente (Garrido & Sônego, 2007).

Um dos produtos alternativos que vem sendo pesquisado é a quitosana, um polissacarídeo natural extraído do exoesqueleto de artrópodes e da parede celular de fungos, pela fragmentação ou desacetilação da quitina (Forbes-Smith, 1999).

Pesquisas já comprovam que a quitosana pode ter efeito antifúngico (Camili et al., 2007; El Gaouth et al., 1992) e na ativação das respostas de defesa da planta, a patógenos (OH et al., 1998). Resultados positivos com o uso de quitosana foram reportados para o controle de *Botrytis cinerea* em uvas e morangos (Ait Barka et al., 2004; Bhaskara Reddy et al., 2000), *Puccinia arachidis* em amendoim (Sathiyabama & Balasubramanian, 1998) e *Colletotrichum gloeosporioides*, em frutos de mamão (Bautista-Baños et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito da quitosana no controle do míldio e no desenvolvimento vegetativo de videiras ‘Cabernet Sauvignon’ e ‘Merlot’.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1.. Efeito da quitosana no controle de *Plasmopora viticola* em estacas enraizadas de videiras cv. Cabernet Sauvignon

O material propagativo da videira cv. Cabernet Sauvignon utilizado para o experimento foi retirado do pomar experimental do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Campus CEDETEG, em Guarapuava-PR, em 06.08.2007, por ocasião da poda de inverno das plantas.

Estacas lenhosas de aproximadamente 20 cm, contendo de três a quatro gemas cada, foram preparadas cortando-se a porção inferior em bixel, em posição oposta à gema; e na porção superior reta, acima de uma gema. Em seguida, as estacas foram plantadas em vasos de plástico, medindo 45 x 17 cm e 14 cm de altura, tendo como substrato areia e mantidas em casa de vegetação sob nebulização intermitente. Após 60 dias iniciaram-se as aplicações de quitosana, com intervalos de 12 dias, totalizando 10 aplicações. As concentrações de quitosana foram: 0; 20; 40 e 80 mg L⁻¹, utilizando-se o produto comercial Fish Fértil Quitosana ® (20 g L⁻¹ de quitosana). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições e parcela experimental constituída por seis estacas.

As plantas foram inoculadas com suspensão de esporos de *P. viticola*, sete dias após a penúltima aplicação de quitosana. Para obtenção do inóculo, folhas de videira contaminadas com míldio foram imersas em água destilada esterilizada com Tween 80 para facilitar a liberação de esporos. Após este processo foi realizada a calibração do número de esporos com o auxílio de câmara de Neubauer para padronizar a quantidade de inóculo em aproximadamente a 1 x 10⁶ esporângios mL⁻¹. Os primeiros sintomas apareceram 28 dias após a incubação, e sua severidade foi avaliada em 8 folhas por planta, previamente identificadas, utilizando-se uma escala diagramática com valores que corresponde de 0 % a 100 % da área foliar lesionada (Azevedo, 1997).

Os resultados obtidos no ensaio foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial ao nível de 5 % probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000). Com base nos resultados, prepararam-se novos ensaios para a safra seguinte.

1.2.2. Controle de *Plasmopora viticola* em mini-estacas enraizadas de videiras cv. Merlot e Cabernet Sauvignon

O material propagativo das videiras cv. Merlot e Cabernet Sauvignon utilizado para o experimento foram retirados do pomar experimental do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Campus CEDETEG, em Guarapuava-PR, em 14.08.2008.

As estacas lenhosas foram preparadas com uma gema cada e introduzidas em espuma fenólica em bandejas plásticas preenchidas com água até a altura da espuma. Em seguida, as bandejas foram mantidas em sala de crescimento vegetativo por 60 dias com temperatura a 25 °C, sob um fotoperíodo de 16 horas proveniente de lâmpadas fluorescentes com uma intensidade de 2500 lux. Posteriormente, as miniestacas enraizadas foram transferidas para vasos de plástico medindo 45 x 17 x 17 cm, contendo como substrato Plantmax® e areia, na proporção 1:1 (v/v) (Figura 1). As plantas foram pulverizadas a cada sete dias com soluções de quitosana nas seguintes concentrações: 0; 20; 40; 80 e 160 mg L⁻¹, utilizando-se Fértil Quitosana ® (20 g L⁻¹ de quitosana). As plantas foram pulverizadas com água no tratamento controle, totalizando 14 aplicações. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e 12 repetições e parcela experimental constituída por 5 miniestacas.

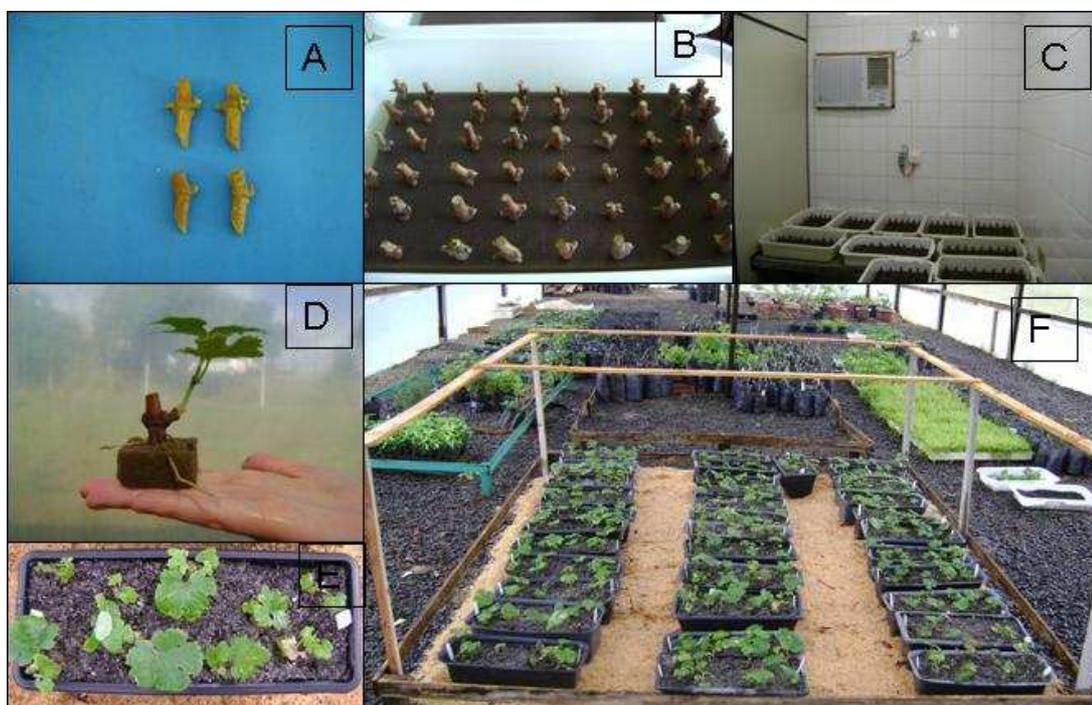


Figura 1 – Modo de preparo das mudas de videira cv. Merlot e Cabernet Sauvignon. (A) estacas preparadas com duas gemas cada; (B) estacas introduzidas em espuma fenólica em bandejas plásticas preenchidas com água; (C) sala de

crescimento vegetativo por 60 dias com temperatura a 25 °C; (D) miniestacas enraizadas; (E) miniestacas enraizadas transferidas para vasos de plástico contendo substrato e (F) casa de vegetação.

Metade do número total de plantas foi inoculada com suspensão de esporos do fungo *P. viticola*, 48 horas após a segunda aplicação de quitosana. Para obtenção do inóculo, utilizou-se a mesma metodologia descrita no ensaio 1.

A severidade do míldio foi avaliada em 4 folhas por planta, previamente identificadas, utilizando-se uma escala diagramática com notas de um a doze que corresponde de 0 % a 100 % da área foliar lesionada (Azevedo, 1997). Com os dados da severidade foi determinada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), segundo Campbell & Madden (1990). No total foram realizadas oito avaliações com intervalos de dois dias, repetidas por dois avaliadores.

As plantas não inoculadas, após 60 dias em casa de vegetação, foram avaliadas para as seguintes variáveis: massa de folhas e raízes secas, comprimento de raízes e área foliar. Para a variável massa de folhas e raízes secas foi feita a secagem em estufa a 70 °C, com circulação de ar forçado até atingir peso constante. O comprimento médio das raízes foi avaliado conforme a metodologia proposta por Tennant (1975). A área foliar foi feita por meio do programa IMAGE J Windows XP.

Os resultados obtidos nos dois ensaios foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial ao nível de 5 % probabilidade, utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento realizado em 2007, observou-se efeito linear negativo da severidade da doença em função das doses pré-estabelecidas de quitosana para a cv. Cabernet Sauvignon (Figura 2). O decréscimo observado foi de 76,8 % na dose 80 mg L⁻¹ quitosana.

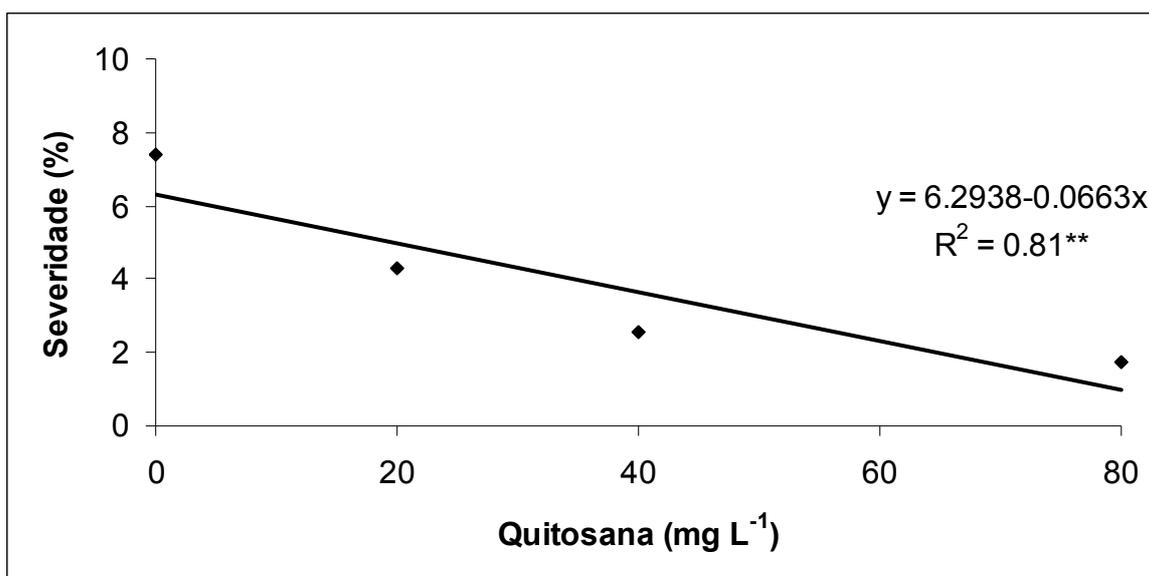


Figura 2. Efeito das concentrações de quitosana, na severidade do míldio da videira, na cv. Cabernet Sauvignon. * significativo a 1 % de probabilidade.

De forma similar, no segundo experimento realizado em 2008, para os resultados de AACP houve efeito linear negativo em função das doses de quitosana para ambas as cultivares (Figuras 3 e 4). A redução atingiu 70,2 % e 79,1 % na dose de 160 mg L⁻¹ de quitosana para as cultivares Merlot e Cabernet Sauvignon, respectivamente. Estes resultados são concordantes com aqueles obtidos por Aziz et al., (2006) que verificaram que oligômeros de quitosana a 200 mg mL⁻¹ pulverizadas isoladamente ou combinada com sulfato de cobre (CuSO₄) a 50 mg mL⁻¹ sobre folhas de videira cv. Chardonnay reduziram a severidade de *P. viticola*, em 71 % e 85 %, respectivamente. Di Piero & Garda (2008), avaliando o controle da antracnose em feijoeiro-comum com o uso de diferentes doses de quitosana, verificaram redução da severidade da doença em torno de 70 %, quando se utilizou 9 mg de quitosana por planta, 4 dias antes da inoculação de *Colletotricum lindemuthianum*. Resultados semelhantes foram também obtidos por Rodrigues *et al.* (2006), que observaram que a quitosana, quando pulverizada no primeiro par de folhas de caupi, aos cinco dias após a germinação, proporcionou o controle da murcha de *Fusarium oxysporum* em 65,4 %. Estes resultados comprovam um efeito da quitosana na interação patógeno-hospedeiro, ou seja, ação direta sobre o desenvolvimento do patógeno (Oh et al., 1998).

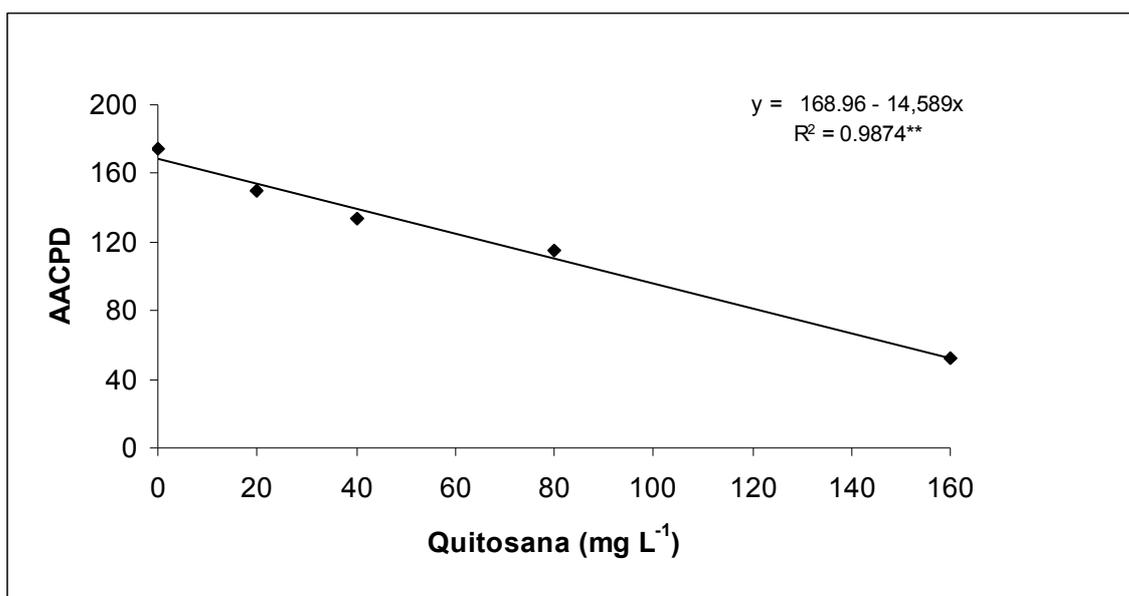


Figura 3. Efeito das concentrações de quitosana, na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), sobre o míldio na cultivar Merlot. ** significativo a 1 % de probabilidade.

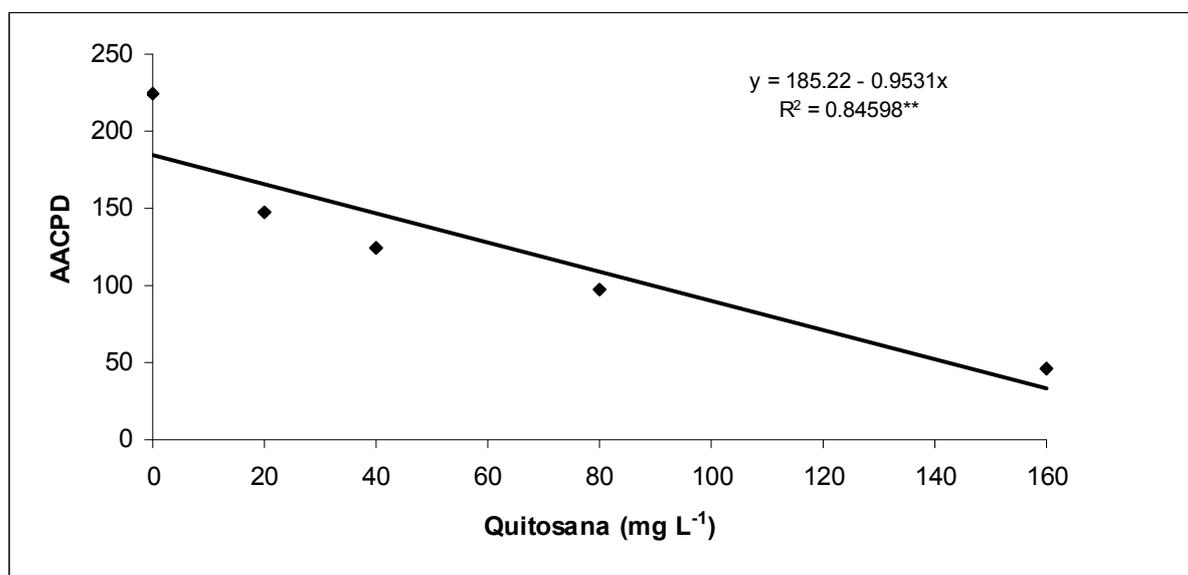


Figura 4. Efeito das concentrações de quitosana, na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), sobre o míldio na cultivar Cabernet Sauvignon. ** significativo a 1 % de probabilidade.

Produtos a base de quitosana podem ser usados também em pós-colheita. Camili et al. (2007), com o objetivo de avaliar o efeito da quitosana na proteção pós-colheita de cachos de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea* e seu efeito sobre o desenvolvimento do patógeno *in vitro*, verificaram que o crescimento micelial do fungo foi completamente inibido pelas

concentrações de quitosana a 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 % durante o período de incubação de cinco dias a $22\pm 1^{\circ}\text{C}$. El Gaouth et al. (1992) demonstraram que soluções de quitosana a 10 mg L^{-1} , diminuíram a incidência de doenças em frutos inoculados com *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer*. Estes resultados demonstraram o efeito fungistático da quitosana sobre o patógeno por meio de testes, *in vitro*, onde o polissacarídeo não aumenta a atividade de enzimas peroxidases nos frutos (Bassetto, 2006).

No entanto, trabalhos realizados por Vander et al. (1998) demonstraram que a quitosana pode induzir a atividade da enzima PAL (fenilalanina amônia liase) e respostas biológicas, como a produção e acúmulo de fitoalexinas em milho e videira, o que também foi comprovado por Romanazzi et al. (2002) em videiras. Aziz et al., (2006) obtiveram a máxima indução na atividade das enzimas quitinases e β -1,3-glucanase quando utilizou 300 mg ml^{-1} de oligômeros de quitosana em videiras cv. Chandonnay, comprovando assim o segundo efeito pela quitosana: ativação das respostas de defesa da planta, sugerido por Oh et al. (1998).

Para as variáveis massas de folhas e raízes secas, comprimento médio de raízes e índice da área foliar não houve diferenças significativas entre os tratamentos para as cultivares Merlot e Cabernet Sauvignon (Tabela 1 e 2). Além disso, não foram observados sintomas de fitotoxidez nas folhas. Estes resultados não são condizentes com aqueles observados por Ait Barka et al., (2004) verificaram que a adição de 1,75 % (v/v) de chitogel, produto à base de quitosana, em meio de cultura promoveu aumento no comprimento das brotações e peso de raízes de plântulas cv. Chardonnay. No entanto, a concentração de 2 % de chitogel, teve um efeito negativo no crescimento das plântulas, e concentrações maiores do produto promoveram morte das plantas.

Tabela 1. Massa de folhas e raízes secas, comprimento médio de raízes e área foliar de plântulas de videira cv. Merlot, pulverizadas com as diferentes concentrações de quitosana (Guarapuava-PR, 2008).

<i>Tratamento</i> (mg L ⁻¹)	<i>Massa de folhas</i> <i>secas (mg) *</i>	<i>Massa de raízes</i> <i>secas (mg) *</i>	<i>Comprimento médio de</i> <i>raízes (cm) *</i>	<i>Área foliar</i> <i>(cm) **</i>
0	228	2087	3678,009	452,785
20	253	1665	3938,737	458,888
40	235	1775	3374,372	448,763
80	191	1574	4646,722	337,264
160	240	1911	3675,806	449,874
CV%	33,52	20,58	47,35	28,66
Pr>Fc	0,6977 ^{ns}	0,1615 ^{ns}	0,795 ^{ns}	0,3972 ^{ns}

^{ns} = não significativo * méida por estaca, ** média por parcela experimental

Tabela 2. Massa de folhas e raízes secas, comprimento médio de raízes e área foliar de plântulas de videira cv. Cabernet Sauvignon, pulverizadas com as diferentes concentrações de quitosana (Guarapuava-PR, 2008).

<i>Tratamento</i> (mg L ⁻¹)	<i>Massa de folhas</i> <i>secas (mg) *</i>	<i>Massa de raízes</i> <i>seca (mg) *</i>	<i>Comprimento médio</i> <i>de raízes (cm) *</i>	<i>Área foliar</i> <i>(cm) **</i>
0	211	399	4276,976	506,927
20	215	335	3798,542	370,581
40	155	259	3658,482	311,695
80	230	394	3421,432	454,686
160	222	347	3251,673	439,61
CV%	44,00	43,84	41,36	30,65
Pr>Fc	0,6449 ^{ns}	0,4660 ^{ns}	0,8054 ^{ns}	0,2334 ^{ns}

^{ns} = não significativo. * méida por estaca, ** média por parcela experimental.

De acordo com os resultados deste trabalho, a utilização de quitosana como medida alternativa aos fungicidas para o controle de doenças de videiras, pode ser viável do ponto de vista socioeconômico e ambiental, por ser uma substância natural obtida de resíduos da indústria pesqueira. Nas doses testadas neste experimento, a quitosana, demonstrou ser eficiente no controle do míldio da videira sem causar fitotoxidez ou qualquer alteração do desenvolvimento vegetativo das cultivares Cabernet Sauvignon e Merlot. Novas pesquisas necessitam ser realizadas para melhor elucidar o modo de ação da quitosana no controle do míldio da videira.

1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIT BARKA, E.; EULLAFFROY, P.; CLÉMENT, C.; VERNET, V. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. **Plant Cell Reports**, Heidelberg, v.22, n. 8, p. 608-614, 2004.

AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da Videira. Cap70. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.) (2005) **Manual de Fitopatologia. Doenças das Plantas Cultivadas**. 4ª. Ed. São Paulo SP. Ceres. v2, p.639-651, 2005.

AZEVEDO L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: Novartis Biociências – Setor Agro, 1997, p. 9-114.

AZIZ, A.; TROTEL-AZIZ, P.; DHUICQ, L.; JEANDET, P.; COUDERCHET, M.; VERNET G. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. **Phytopathology**, Saint Paul, v.96, p.1188-1194, 2006.

BASSETTO, E. Quantificação de danos ao longo da cadeia produtiva de pêssegos e avaliação de métodos alternativos de controle de doenças pós-colheita. Piracicaba, 2006. 126f. **Tese** (Doutorado em fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, (2006).

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Effects of chitosan and extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, London, v.22, n. 9, p.1087-1092, 2003.

BHASKARA REDDY, M.V.; BELKACEMI, K.; CORCUFF, R.; CASTAIGNE, F.; ARUL, J. Effect of pre-harvest chitosan sprays on pos-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.20, n. 1, p.39-51, 2000.

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

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. Introduction to Plant Disease Epidemiology. J. Wiley & Sons, New York, NY, USA, 532p, 1990.

DI PIERO, M.D.; GARDA, M.V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanases em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v.43, n.9, p.1121-1128, 2008.

EL GAOUTH, A.; ARUL, J. Potential use of chitosan in postharvest preservation of fresh and vegetable. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF THE PHYSIOLOGICAL BASIS OF POSTHARVEST TECHNOLOGIES, 1992, Davis. **Proceedings...**, University of California, p.50, 1992.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar, p.255-258, 2000

FORBES-SMITH, M. Induced resistance for the biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables. **Food Austrália**, North Sidney, v.51, p.382-385, 1999.

GALLOTTI, G.J.M.; JÚNIOR, A.G.; SÔNEGO, O.R. Controle das doenças de plantas da videira. Cap15. In: Laércio Zambolim..../et al./ **Controle de doenças de plantas frutíferas-Viçosa**, v.2, p.939-985, 2002.

GARRIDO, R.L.; SÔNEGO, R.O. Manejo de Doenças de videira. Cap4. In: NEF/UFLA (org) Manejo integrado de doenças de fruteiras. **Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007**. Lavras, p.65-86, 2007.

OH, S.K.; CHO, D.; YU, S.H. Development of integrated pest management techniques using biomass for organic farming (I). Suppression of late blight and fusarium wilt of tomato by chitosan involving both antifungal and plant activating activities. **Korean Society of Plant Pathology**, Suwon, v.14, p.278-285, 1998.

PERUCH, L.A.M.; MEDEIROS, A.M.; BRUNA, E.D.; STADINIK, M. Biomassa cítrica, extrato de algas, calda bordalesa e fosfitos no controle do míldio da videira, cv. Niágara Branca. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.2, p.143-148, 2007.

RODRIGUES, A.A.C.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R.S.B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em caupi: Eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, n.5, p.492-499, 2006.

ROMANAZZI, G.; NIGRO, F.; IPPOLITO, A.; DI VENERE, D.; SALERNO, M. Effect of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. **Journal of Food Science**, Chicago, v.67, p.1862-1867, 2002.

SATHIYABAMA, M.; BALASUBRAMANIAM, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection** London, v.17, n. 4, p.307-313, 1998.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R. Uvas para Processamento Fitossanidade. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2003, 188p.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; JUNIOR GRIGOLETTI, A. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. **Circular Técnico Embrapa Uva e Vinho**, 2005. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/circular/cir056.pdf>>. Acesso em: 16 jul. 2008.

TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. **The Journal of Ecology**, Oxford, v.63, n.3, p.995-1001, 1975.

VANDER, P.; VARUM, K.M.; DOMARD, A.; EL-GUEDDARI, N.E.; MOERSCHBACHER, B.M. Comparison of the ability partially N-acetylated chitosans and chitooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves. **Plant Physiology**, Urbana, IL, v.118, p.1353–1359, 1998.

YURELA, I. Copper plants, vol. 2. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Viçosa, v.17 p.145-156, 2005.

CAPÍTULO 3 - AÇÃO DE QUITOSANA NO DESENVOLVIMENTO DE *PLASMOPARA VITICOLA* E *ELSINOE AMPELINA*, IN VITRO E EM VIDEIRAS CV. ISABEL

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da quitosana no controle dos fungos *Plasmopara viticola* e *Elsinoe ampelina*, agentes causais do míldio e da antracnose da videira. As concentrações de 0, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹ de quitosana foram utilizadas nos seguintes experimentos: testes de crescimento micelial, germinação de esporos e ensaio em condições de campo. Para os dois últimos ensaios, adicionaram-se os tratamentos padrões com mancozeb e calda bordalesa. Verificou-se redução no crescimento micelial de *E. ampelina* sendo que dose de 160 mg L⁻¹ reduziu em 57 % o desenvolvimento do fungo, 192 horas após incubação. Nos testes de germinação a dose de 160 mg L⁻¹ de quitosana reduziu a germinação de esporos de *E. ampelina* em aproximadamente 98 % e de *P. viticola* em 60 %, não diferindo dos tratamentos com calda bordalesa e mancozeb. Nos ensaios a campo as doses de quitosana 80 e 160 mg L⁻¹ apresentaram um decréscimo na severidade de antracnose entre 93 e 81%, respectivamente. Para o míldio, a concentração de 160 mg L⁻¹ apresentou um decréscimo de aproximadamente 81 %. Conclui-se que a quitosana tem um grande potencial no controle do míldio e da antracnose da videira.

Palavras chaves: *Vitis labrusca*, controle alternativo, míldio, antracnose, fruteiras de clima temperado.

ABSTRACT

CHITOSAN ACTION ON *Plasmopara viticola* AND *Elsinoe ampelina* DEVELOPMENT, *IN VITRO* AND IN GRAPEVINES CV. ISABEL.

The objective of this research was to evaluate chitosan effect on fungi *Plasmopara viticola* and *Elsinoe ampelina* control, causal agents of grapevine downy mildew and anthracnose respectively. Chitosan concentrations of 0, 20, 40, 80 and 160 mg L⁻¹ were used on the following experiments: mycelial growth tests, spore germination and field conditions experiments. Standard treatment of mancozeb and Bordeaux mixture were added to the two last experiments. The *E. ampelina* mycelial growth was reduced, as the 160 mg L⁻¹ dose decreased by 57% the fungal development, 192 hours after incubation. On the germination tests, chitosan dose of 160 mg L⁻¹ reduced the *E. ampelina* and *P. viticola* spore germination in about 98% and 60%, respectively, and did not differ from Bordeaux mixture and mancozeb treatments. In field conditions experiments, chitosan doses of 80 e 160 mg L⁻¹ presented a decrease among 93 and 81% in anthracnose severity, respectively. Chitosan concentration of 160 mg L⁻¹ presented an 81% decrease in downy mildew severity. The conclusion is that chitosan has a great potential in grapevine downy mildew and anthracnose control.

Keywords: *Vitis labrusca*, alternative control, downy mildew, anthracnose, vines, fruit trees of temperate climates.

2.1. INTRODUÇÃO

A videira é economicamente uma das mais importantes fruteiras cultivadas no mundo, devido às inúmeras utilizações dos seus frutos para consumo *in natura* e na produção de vinhos e sucos (Ferreira et al., 2004).

As doenças fúngicas são um dos principais problemas de interesse econômico na viticultura, devido às grandes perdas registradas. Entre as principais doenças, destacam-se o míldio, doença causada pelo microorganismo *Plasmopara viticola*, e a antracnose causada pelo fungo *Elsinoe ampelina*. Estes patógenos são responsáveis pelos maiores danos para a viticultura no sul do Brasil, assim como em outras regiões vitícolas do mundo. Essas doenças são especialmente sérias em anos com elevada precipitação, alta umidade relativa e longos períodos de umidade sobre folhas e frutos e, em alguns anos são tão severas a ponto de comprometer não só a produção do ano como também produções futuras, devido ao desfolhamento que enfraquece a planta. (Sônego & Garrido, 2003).

O fungicida mais utilizado no controle do míldio e antracnose é a calda bordalesa, entretanto, assim como todos os fungicidas cúpricos, tem o inconveniente de poder causar fitotoxidez nas partes jovens da planta além de comprometer o sistema de sustentação, devido sua ação corrosiva. Outros fungicidas sintéticos também são utilizados na viticultura em larga escala para o controle destas doenças, tais como: Captan, Metalaxyl, Cymoxanil e Mancozeb (Amorim & Kuniyuki, 2005). A solubilidade destes produtos mais sua ação sistêmica são os principais fatores de risco para a contaminação de resíduos dos subprodutos da uva (Rose et al., 2009).

De acordo com Cabras & Angioni (2000), o mosto de uva e o vinho podem apresentar resíduo de agroquímicos. Soleas & Goldberg (2000) analisando 26 agroquímicos em sucos de uva bruto antes da fermentação, verificaram que os agroquímicos mais frequentemente encontrados foram: folpete, captan, carbaril e dimetoato. Em outros estudos também observou-se que após quatro dias da vinificação, o vinho apresentou teores residuais de mancozeb, penconazole, vinclozolin, fenarimol e metalaxyl (Navarro et al., 1999). Estes resíduos podem permanecer na videira e serem transferidos para o vinho (Oliva et al., 2007), embora a mobilidade dos agroquímicos de uvas para vinho é geralmente reduzido, devido ao processo de vinificação (Cabras & Angioni, 2000).

A preocupação com a segurança alimentar tem levado as pessoas a questionarem a agricultura moderna, aumentando a demanda pela produção orgânica, a qual preserva os agroecossistemas por meio do uso adequado dos recursos naturais e obtém alimentos de maior qualidade (Schifferstein & Oude Ophuis, 1998).

Diante do exposto, o uso de compostos naturais ou biodegradáveis, não-tóxicos, derivados de animais ou plantas, que apresentem efeito fungistático ou induzam a resistência natural às plantas, têm sido estudado por muitos fitopatologistas no controle de doenças (Bautista-Baños et al., 2006). Dentre os métodos alternativos, a quitosana, que é um polissacarídeo obtido por meio da desacetilação da quitina, presente na carapaça de crustáceos como camarões, caranguejos e siris, e na parede celular de fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium notatum* (Tan et al., 1996), vem sendo muito estudado por apresentar efeito, fungistático e indutor dos mecanismos de defesa das plantas (Terry & Joyce, 2004). Em estudos recentes Camilli et al. (2007) e Muñoz et al. (2009) verificaram que a quitosana aplicada em frutos de uva demonstrou ser eficiente no controle de *Botrytis cinerea* e *Colletotrichum* sp.

Neste sentido, o objetivo do trabalho foi de avaliar o efeito da quitosana no controle de *Plasmopara viticola* e *Elsinoe ampelina*, agentes causais do míldio e antracnose da videira, respectivamente, *in vitro* e *in vivo*.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Produtos utilizados para o controle dos patógenos.

Como fonte de quitosana foi utilizada o produto comercial Fish Fértil Quitosana® com 20 g L⁻¹ de quitosana. Para o controle positivo, utilizou-se o princípio ativo mancozeb Manzate® 800, utilizando-se a dose indicada no rótulo para a cultura. A calda bordalesa na proporção 1:1:100, sulfato de cobre: cal virgem: água, produto recomendado na agricultura orgânica, foi utilizado como padrão.

2.2.2. Efeito das diferentes concentrações de quitosana no crescimento micelial de *Elsinoe ampelina*.

Para este experimento foi realizado isolamento do patógeno, *E. ampelina*, a partir de folhas com lesões provenientes da região de Guarapuava-PR, o qual foi mantido em meio de cultura Batata-dextrose-ágar (BDA).

Inicialmente, adicionou-se ao meio BDA as doses de 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹ de quitosana. No tratamento testemunha não adicionou nenhum produto. Em seguida, os meios foram autoclavados por 20 minutos, a 120 °C e pressão de 1 atm. Posteriormente discos de 8 mm de diâmetro, contendo o micélio do patógeno foi colocado no centro de cada placa de

Petri. As placas foram armazenadas em câmara de crescimento a 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 16 horas. Após 48, 92, 144 e 244 horas de incubação, avaliou-se o crescimento micelial por meio da medida do diâmetro da colônia, com auxílio de paquímetro digital. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, cinco repetições e parcela experimental constituída por uma placa de Petri. Para validação dos dados o experimento foi repetido duas vezes.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativo se estudou a regressão polinomial ao nível de 5 % probabilidade. O programa estatístico utilizado para a realização das análises estatística foi SISVAR (Ferreira, 2000).

2.2.3. Efeito das diferentes concentrações de quitosana na germinação de esporos de *Plasmopara viticola* e *Elsinoe ampelina*.

Para avaliar o efeito da quitosana sobre a germinação de *P. viticola* e *E. ampelina* utilizou-se uma alíquota de 40 µl de suspensão de esporos de $2,2 \times 10^6$ esporângios mL⁻¹ ou $5,8 \times 10^6$ conídios mL⁻¹ e outra de 40 µl de cada concentração de quitosana 0, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹, além de uma única dose de calda bordalesa e mancozeb como tratamentos padrões, não autoclavados. Foram colocadas em cavidades individuais de placas de teste ELISA (Regente et al., 1997).

Após a montagem dos ensaios as placas foram armazenadas sob luz constante a $20^\circ\text{C} \pm 1$ °C para *Plasmopara viticola* e 25 ± 1 °C *Elsinoe ampelina*. A porcentagem de germinação foi determinada às 2, 6 e 12 horas para *P. viticola* e 12 e 24 horas para *E. ampelina*, após o início do experimento. Para a paralização da germinação dos esporos colocou-se 20 µl do corante azul algodão de lactofenol em cada cavidade.

A avaliação foi realizada pela observação ao microscópio ótico com aumento de 400 vezes. Contaram-se 100 esporos aleatórios por repetição, totalizando 400 esporos por tratamento. Para o fungo *P. viticola* foram considerados esporos germinados aqueles que apresentavam liberação dos zoósporos. Para *E. ampelina* foram considerados como esporos germinados aqueles que apresentavam qualquer emissão do tubo germinativo. Para validação dos dados, o experimento foi repetido duas vezes.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial ao nível de 5 % probabilidade, através do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

2.2.4. Efeito da quitosana no controle de doenças na cultivar Isabel.

O experimento foi realizado no período de setembro de 2008 a janeiro de 2009, em vinhedo comercial da cultivar Isabel, localizado no município de Guarapuava-PR, situada a 25° 23' 26" S e 51° 27' 15" O, altitude de 1.120 m. O solo foi classificado como Latossolo bruno distroférico típico, textura muito argilosa (Embrapa, 2006). As plantas eram enxertadas sobre porta enxerto '1103 Paulsen', em sistema de espaldeira, com espaçamento 2,5 x 2.0 m. Durante o período experimental, registrou-se os dados de temperatura máxima e mínima, umidade relativa e precipitação (Figura 1).

Os tratamentos consistiram das seguintes concentrações de quitosana: 0, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹, além do tratamento padrão com calda bordalesa, por ser um vinhedo em sistema orgânico. As pulverizações foram realizadas semanalmente com pulverizador manual até o ponto de "gotejamento", nas horas mais frescas do dia, a partir do início da brotação em 10/09/2008, perfazendo um total de 14 aplicações. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso contendo cinco tratamentos e cinco repetições, sendo cada planta uma repetição.

Com o aparecimento dos primeiros sintomas, a severidade do míldio e da antracnose da videira foi avaliada em três folhas do ápice de dois ramos por planta, previamente identificadas, utilizando-se uma escala diagramática com notas de um a doze que correspondem de 0 % a 100 % da área foliar lesionada (Azevedo, 1997). Com os dados da severidade foi determinada a área abaixo da curva de progresso das doenças (AACPD), segundo Campbell & Madden (1990). No total foram realizadas cinco avaliações com intervalos de sete dias.

Todos os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativo realizou-se a comparação de médias pelo teste de Tukey e análise de regressão polinomial ao nível de 5 % probabilidade, pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2000).

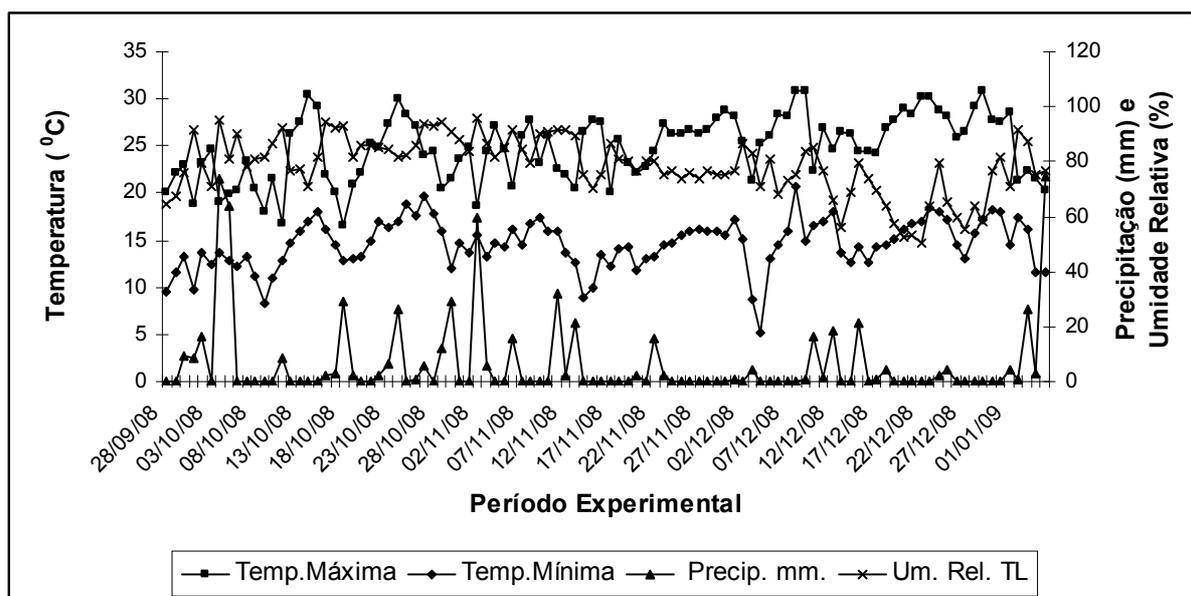


Figura 1. Temperaturas diárias, precipitação pluviométrica diária e umidade relativa observadas no período de 28/09/08 a 05/01/09.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Efeito das diferentes concentrações de quitosana no crescimento micelial de *Elsinoe ampelina*.

No teste *in vitro*, verificou-se redução no crescimento micelial de *E. ampelina* em função das concentrações de quitosana estabelecidas no ensaio, com significância para regressão quadrática nas avaliações às 48, 96, 144 e 192 horas após incubação (Figura 2). Constatou-se que a 160 mg L^{-1} houve maior efeito fungistático, reduzindo em 57 % o desenvolvimento de *E. ampelina* na avaliação 192 horas após incubação. Resultados semelhantes foram obtidos por Muñoz et al (2009) que verificaram que quitosana a 2 % reduziu o crescimento micelial de *Colleotrichum* sp. em 63 %. Di Piero & Garda (2008) observaram redução do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, a partir de 1 mg L^{-1} de quitosana colocada em meio BDA. Liu et al. (2007) verificaram total inibição do crescimento micelial de *Botrytis cinerea* quando utilizaram 5 % de quitosana.

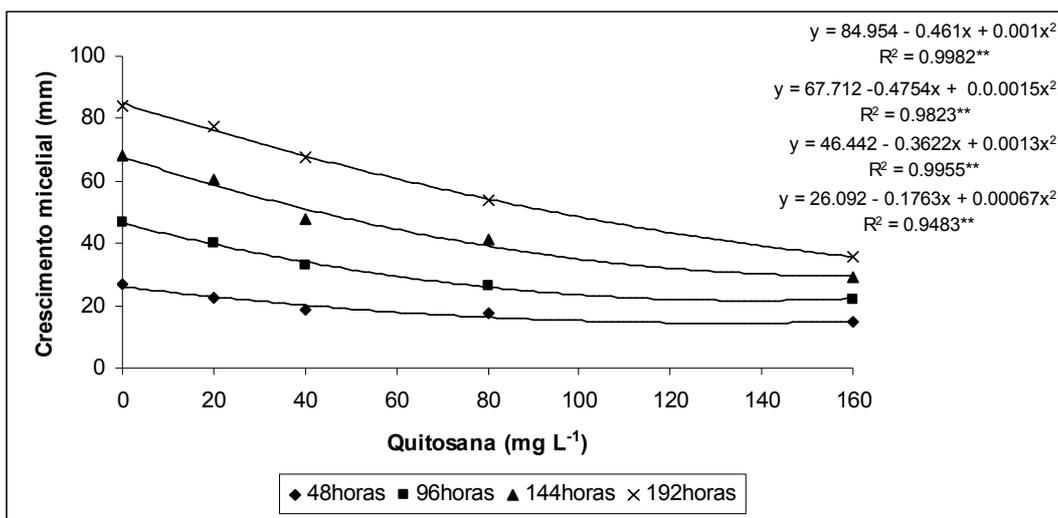


Figura 2. Crescimento micelial (mm) de *Elsinoe ampelina* em meio de cultivo contendo as diferentes concentrações de quitosana, aos 48, 96, 144 e 192 horas após incubação em câmara de crescimento a 25 °C e fotoperíodo de 16 horas. ** Significativo a 1% de probabilidade.

2.3.2. Efeito das diferentes concentrações de quitosana na germinação de esporos de *Plasmopara viticola* e *Elsinoe ampelina*.

Nos ensaios realizados para a verificação da germinação, houve efeito quadrático em função das doses de quitosana testadas neste ensaio para ambos os patógenos. A dose de 160 mg L⁻¹ reduziu a germinação de esporos de *E. ampelina* em aproximadamente 98 % em 12 e 24 horas após incubação, não havendo diferença para os tratamentos com mancozeb e calda bordalesa (Figura 3).

Para *P. viticola*, na maioria das avaliações, as concentrações de 80 e 160 mg L⁻¹ não diferiram dos tratamentos com calda bordalesa e mancozeb (Figura 4). No entanto, na última avaliação, o tratamento com calda bordalesa apresentou maior redução de germinação de esporos em relação aos tratamentos com quitosana. Possivelmente este composto possui menor efeito residual, por ser um polímero natural e biodegradável (Forbes-Smith, 1999).

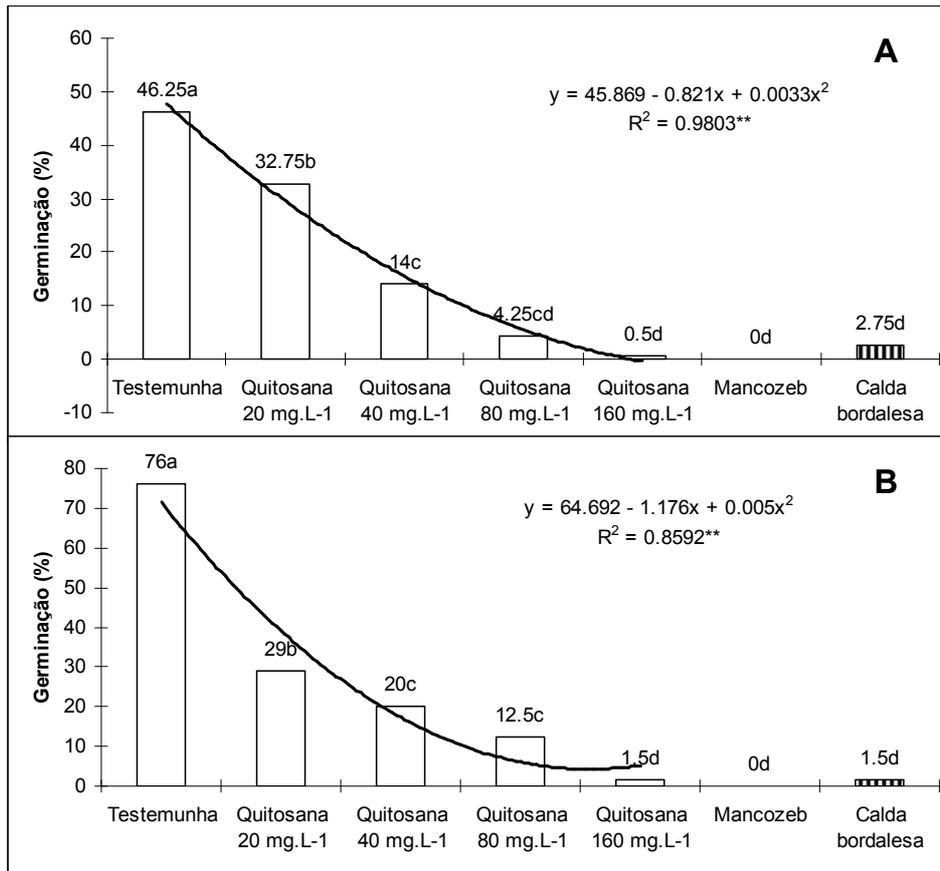


Figura 3. Germinação de esporos de *Elsinoe ampelina*, em diferentes concentrações de quitosana, mancozeb e calda bordalesa às 12 horas (A) e 24 horas (B) após incubação a 25 °C. ** Significativo a 1 % de probabilidade.

Propriedades fungicidas da quitosana foram relatadas para outros fitopatógenos. Ben-Shalom et al. (2003), observaram que a quitosana a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ inibiu a germinação de esporos e reduziu a elongação do tubo germinativo de *Botrytis cinerea*, enquanto que a dose de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ reduziu em 75% a germinação de uredosporos de *Puccinia arachidis*, agente causal da ferrugem do amendoim (Sathiyabama et al., 1998). Liu et al. (2007) verificaram a total inibição da germinação de esporos de quando utilizaram 0,5 e 1% de quitosana, para *Penicillium expansum* e *Botrytis cinerea* respectivamente.

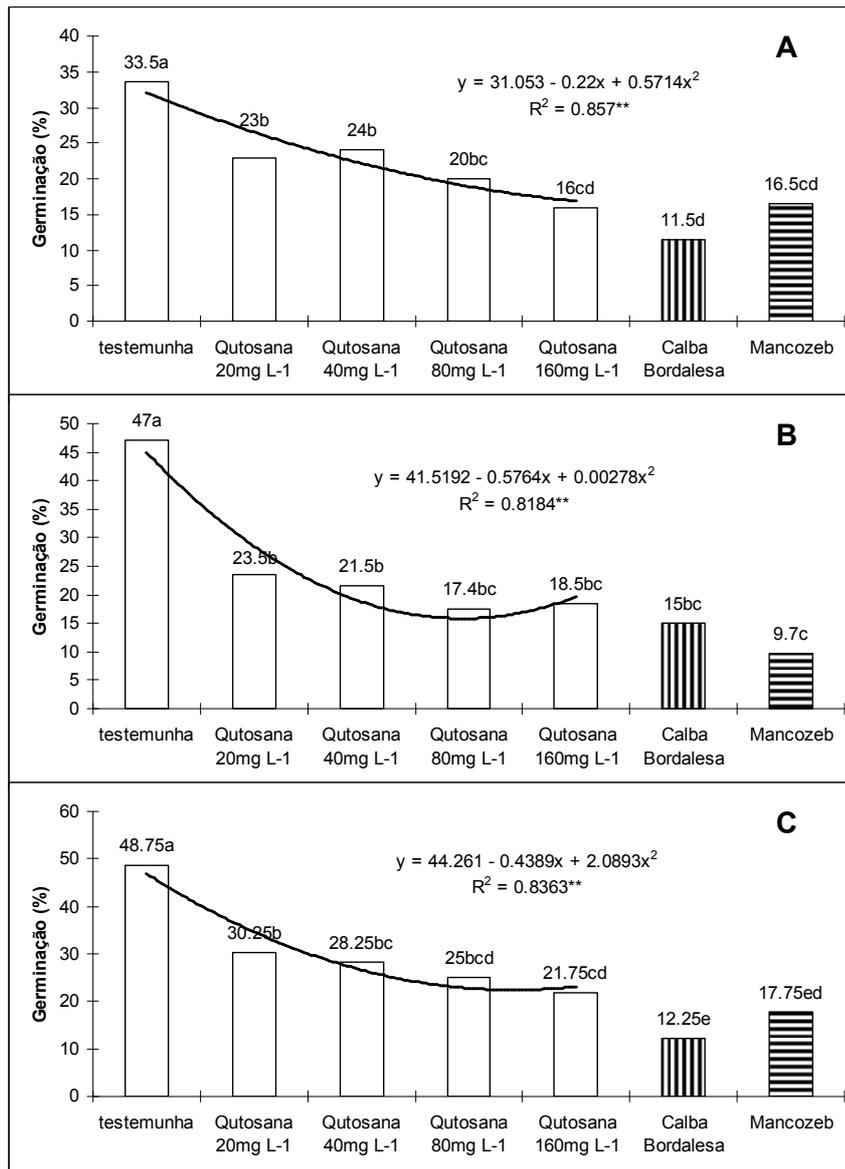


Figura 4. Germinação de esporos de *Plasmopara viticola* em diferentes concentrações de quitosana, calda bordalesa e mancozeb as 2horas (A), 6horas (B) e 12 horas (C) após incubação a 20 °C. ******Significativo a 1% de probabilidade.

De acordo com Benhamou (1996) o mecanismo de ação da quitosana é devido ao seu alto peso molecular e as suas cargas positivas, que interferem com os resíduos carregados negativamente das macromoléculas expostas sobre a superfície celular fúngica e modificam a permeabilidade da membrana plasmática, levando a degeneração e morte do patógeno. No entanto novos testes deverão ser realizados para a confirmação da hipótese.

2.3.4. Efeito da quitosana no controle de doenças na cultivar Isabel.

Para os resultados da AACPD, houve efeito quadrático em função das concentrações de quitosana estabelecidos nos experimentos para antracnose, sendo que as doses de quitosana 80 e 160 mg L⁻¹ apresentaram um decréscimo de aproximadamente 93 e 81 %, respectivamente, não diferindo do tratamento com calda bordalesa (Figura 5). Para míldio, houve efeito linear negativo em função das concentrações de quitosana, sendo que as concentrações de 40, 80 e 160 mg L⁻¹ apresentaram um decréscimo de aproximadamente de 52, 76 e 81 %, respectivamente não diferindo do tratamento com calda bordalesa (Figura 6). A quitosana pode ser uma alternativa interessante para o controle do míldio e da antracnose, podendo entrar no programa de manejo de doenças da videira e sistema agroecológico, tendo em vista que o uso contínuo de calda bordalesa apresenta restrições, podendo causar fitotoxidez às partes jovens das plantas e comprometer todo o sistema de sustentação pela sua ação corrosiva (Amorim & Kuniyuki, 2005).

Aziz et al. (2006), obtiveram resultados semelhantes, quando verificaram que oligômeros de quitosana a 200 mg mL⁻¹ pulverizadas isoladamente ou combinada com sulfato de cobre (CuSO₄) a 50 mg mL⁻¹ sobre folhas de videira cv. Chardonnay reduzindo a severidade de *P. viticola*, em 71 % e 85 %, respectivamente. Do mesmo modo, Di Piero & Garda (2008), avaliando o controle da antracnose em feijoeiro-comum com o uso de diferentes doses de quitosana, verificaram redução da severidade da doença em torno de 70 %, quando se utilizou 9 mg de quitosana por planta, 4 dias antes da inoculação de *Colletotricum lindemuthianum*. Estes resultados comprovam o efeito da ação direta da quitosana no desenvolvimento do patógeno (Oh et al., 1998).

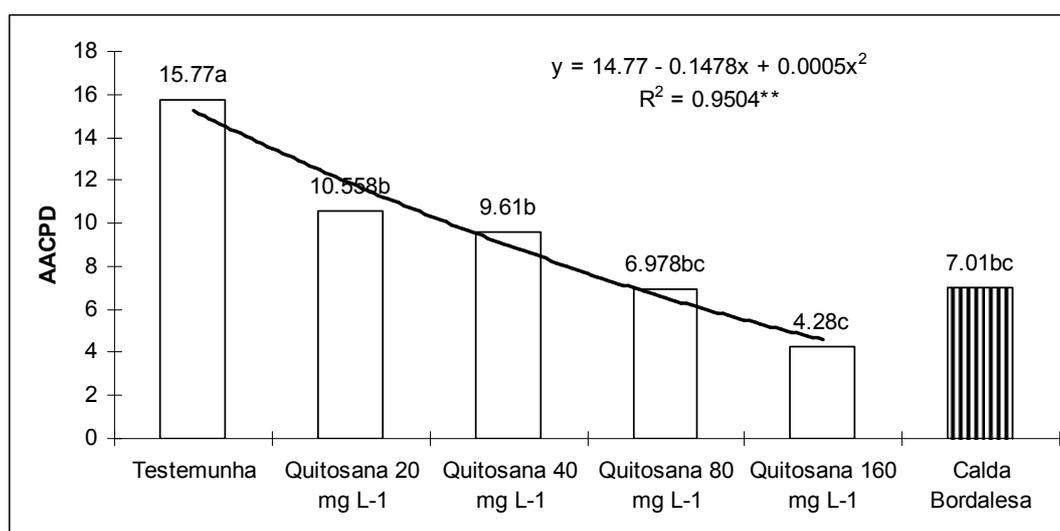


Figura 5. Efeito das doses de quitosana e sobre a severidade da antracnose em plantas de videira cv. Isabel. Dados transformados em $\sqrt{y+1.0} - \sqrt{y+1.0}$. ** Significativo a 1% de probabilidade.

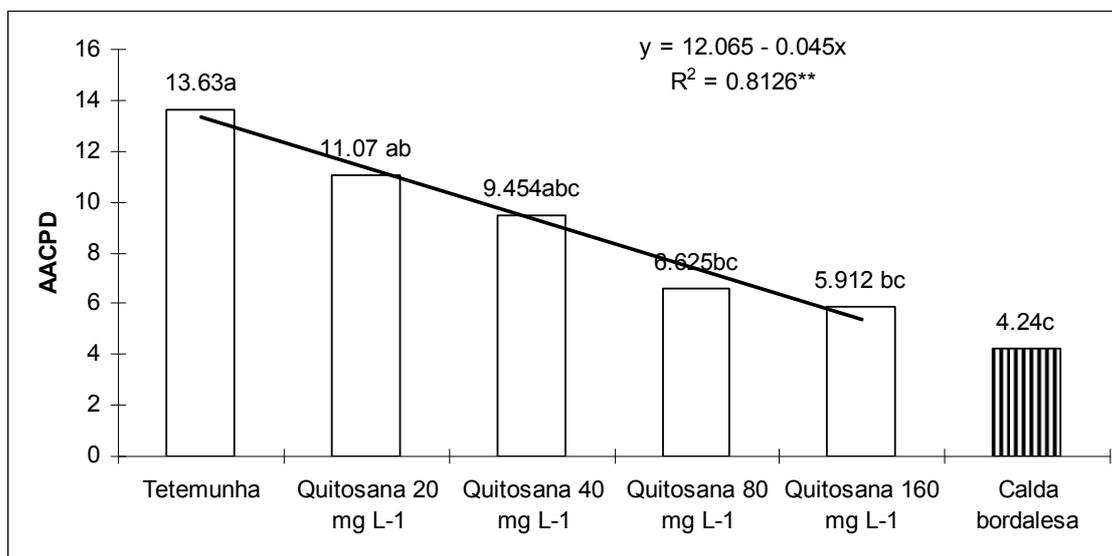


Figura 6. Efeito das doses de quitosana sobre a severidade do míldio em plantas de videira cv. Isabel. Dados transformados em $\sqrt{y+1.0} - \sqrt{y+1.0}$. ** Significativo a 1% de probabilidade.

Além do efeito fungistático, a quitosana também tem o potencial de ativar enzimas (Bautista-Baños et al., 2006) e compostos fenólicos (Benhamou, 1996) relacionadas com o mecanismo de defesa das plantas. Trabalhos realizados por Vander et al. (1998) demonstraram que a quitosana pode induzir a atividade da enzima PAL (fenilalanina amônia liase) e respostas biológicas, como a produção e acúmulo de fitoalexinas em milho e videira, o que também foi comprovado por Romanazzi et al. (2006) em videiras. Aziz et al. (2006) obtiveram a máxima indução na atividade das enzimas quitinases e β -1,3-glucanase quando utilizaram 300 mg mL⁻¹ de oligômeros de quitosana em videiras cv. Chandonnay.

Com base nos resultados obtidos, a quitosana, pode inibir diretamente os fungos *Plasmopara viticola* e *Elsinoe ampelina*, *in vitro* como também reduzir a severidade das respectivas doenças em campo, tornando-se uma substância promissora no controle de fitopatógenos, principalmente para sistema orgânico. Novos estudos deverão ser feitos podendo possivelmente este polímero substituir à utilização de fungicidas sintéticos,

diminuindo o impacto ambiental, sem causar danos à saúde humana. E para melhor entendimento da ação da quitosana sobre os patógenos estudados.

2.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da Videira. Cap70. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.) (2005) **Manual de Fitopatologia. Doenças das Plantas Cultivadas**. 4ª. Ed. São Paulo SP. Ceres, v.2, p.639-651, 2005.

AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: Novartis Biociências- Setor Agro, 114p, 1997.

AZIZ, A.; TROTEL-AZIZ, P.; DHUICQ, L.; JEANDET, P.; COUDERCHET, M.; VERNET, G. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. **Phytopathology**, Saint Paul, v.96, n.11, p.1188-1194, 2006.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; VALLE, M.G.V.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BARKA, E.A.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON C.L. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, London, v.25, n.2, p.108-118, 2006.

BENHAMOU, N. Elicitor-induced plant defense pathways. **Trends Plant Science**, Chicago, v.1, n.7, p233–240, 1996.

BEN-SHALOM, N.; ARDI, R.; PINTO, R.; AKI, C.; FALLIK, E. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. **Crop Protection**, London, v.22, n.2, p. 285–290, 2003.

CABRAS, P.; ANGIONI, A. Pesticide residues in grapes, wine and their processing products. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.4 p.967–973, 2000.

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 cinerea*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.3, p.215-221, 2007.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. J. Wiley & Sons, New York, NY, USA, 1990, 532p.

DI PIERO, M.D.; GARDA, M.V. Quitosana reduz a severidade da antracnose e aumenta a atividade de glucanases em feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n.9, p.1121-1128, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Brasília, 2006. 306p.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Programas e Resumos...** São Carlos: UFSCar, p.255-258, 2000.

FERREIRA, R.B.; MONTEIRO, S.S.; PEREIRA, M.A.P.; TEIXEIRA, A.R. Engineering grapevine for increased resistance to fungal pathogens without compromising wine stability. **Trends in Biotechnology**, London, v.22, n.4, p.168-173, 2004.

FORBES-SMITH, M. Induced resistance for the biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables. **Food Austrália**, North Sidney, v.51, p.382-385, 1999.

LIU, J.; TIAN, S.; MENG, X.; XU, Y. Effects of chitosan on control of postharvest disease and physiological response of tomato fruit. **Postharvest Biology and Tecnology**, Amsterdam, v. 44, n.3, p.300-306, 2007.

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

NAVARRO, S.; BARBA, A.; OLIVA, J.; NAVARO, G.; PARDO, F. Evolution of residual levels of six pesticides levels during elaboration of red wines. Effect of wine-making procedures in their disappearance. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.47, p.264-270, 1999.

OH, S.K.; CHO, D.; YU, S.H. Development of integrated pest management techniques using biomass for organic farming (I). Suppression of late blight and fusarium wilt of tomato by chitosan involving both antifungal and plant activating activities. **Korean Society of Plant Pathology**, Suwon, v.14, p.278–285, 1998.

OLIVA, J.; PAYÁ, P.; CÁMARA, M.A.; BARBA, A. Removal of famoxadone, fluquinconazole and trifloxystrobin residues in red wines: Effects of clarification and filtration processes. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**. London, v.42, n.7, p.775, 2007.

REGENTE, M.C.; OLIVA, C.R.; FFELDMAN, M.L.; CASTAGNARO, A.P.; CANAL, L.A. Sunflower leaf antifungal peptide active against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v.100, p.178-182, 1997

ROMANAZZI, G.; GABLER, F.M.; SMILANICK, J.L. Preharvest chitosan and postharvest UV irradiation treatments suppress gray mold of table grapes. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 90, n.4, p.445-450, 2006.

ROSE, G.; LANE, S.; JORDAN, R. The fate of fungicide and insecticide residues in Australian wine grape by-products following field application. **Food Chemistry**, Oxford, v.117, n. 4, p.634-640, 2009.

SATHIYABAMA M.; BALASUBRAMANIAM R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hipogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**, London, v.17, n.4, p.307-313, 1998.

SCHIFFERSTEIN, H.N.J.; OUDE OPHUIS, P.A.M. Health-related determinants of organic food consumption in the Netherlands. **Food Quality and Preference**, France, v.9, n. 3, p.119–133, 1998.

SOLEAS, G.J.; GOLDBERG, D.M. Pesticides residues in unfermented grape juices and raw wines: a 5-year survey of more than 3000 products. **Journal of Wine Research**, London, v.11, n.3, p.197–207, 2000.

SÔNÊGO, O.R.; GARRIDO, L.R. Uvas para Processamento Fitossanidade. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2003, p.188.

TAN, S.C.; TAN, T.K.; WONG, S.M.; KHOR, E. The chitosan yield of Zygomycetes at their optimum harvesting time. **Carbohydrate Polymers**, London, v.30, n.4, p.239–242, 1996.

TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.32, n.1, p.1–13, 2004.

VANDER, P.; VARUM, K.M.; DOMARD, A.; EL-GUEDDARI, N.E.; MOERSCHBACHER, B.M. Comparison of the ability partially N-acetylated chitosans and chitooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves. **Plant Physiology**, Urbana, IL, v.118, p.1353–1359, 1998.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- De acordo com os resultados deste trabalho, a quitosana possui efeito fungistático sobre *Elsinoe ampelina*, *Glomerella cingulata* e *Botryosphaeria* ssp. o que foi comprovado por meio do teste de crescimento micelial, sendo que a dose de quitosana 160 mgL^{-1} reduziu em 57, 40 e 30% o crescimento micelial, para os respectivos fungos.
- Nos testes de germinação, a dose de 160 mg L^{-1} quitosana reduziu a germinação de esporos de *E. ampelina* em aproximadamente 98% e 60 % para *P. viticola*, não diferindo dos tratamentos com calda bordalesa e mancozeb, demonstrando seu potencial uso no controle de doenças fúngicas da videira em sistema de produção orgânica de uvas.
- Por meio dos resultados obtidos no desenvolvimento vegetativo de videiras, constatou-se que as concentrações de quitosana não interferiram na massa seca de folhas e raízes, comprimento médio de raízes e índice da área foliar tanto para a cultivar Merlot quanto para a cultivar Cabernet Sauvignon. Além disso, não foram observados sintomas de fitotoxidez nas folhas para as duas cultivares, indicando que não há efeitos prejudiciais no desenvolvimento das plantas no uso desta fonte de quitosana nas doses testadas.
- Pesquisa realizada em condições de campo demonstrou que a dose 160 mg L^{-1} de quitosana reduziu a severidade de míldio e antracnose da videira em 81%, determinando as recomendações de seu uso, assim como doses seguras para a sua aplicação em vinhedo comercial sem causar fitotoxidez às plantas. Novos testes devem ser realizados para determinar o modo de ação da quitosana no controle de fitopatógenos da videira, bem como seu comportamento na planta.