

## Influência da Quitosana no Crescimento Micelial de *Botryosphaeria* sp., Agente Causal do Declínio da Videira

*Chitosan Influence on Mycelial Growth of Botryosphaeria sp., the Causal Agent of Grapevine Decline*

FARIA, Cacilda Márcia Duarte Rios. Universidade Estadual do Centro-Oeste, [cfaria@unicentro.br](mailto:cfaria@unicentro.br); MAIA, Aline José. Universidade Estadual do Centro-Oeste; BOTELHO, Renato Vasconcelos. Universidade Estadual do Centro-Oeste; LEITE, Carla Daiane. Universidade Estadual do Centro-Oeste.

### Resumo

O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da quitosana sobre o crescimento micelial de *Botryosphaeria* sp., agente causal do declínio da videira. Para o experimento, foi utilizado um isolado pertencente à coleção fitopatológica da Embrapa Uva e Vinho. Adicionou-se ao meio BDA as doses de 20, 40, 80 e 160 mg L<sup>-1</sup> de quitosana, além da testemunha sem adição do produto. Em seguida, os meios foram autoclavados, e vertidos em placas de Petri de 70 mm de diâmetro, onde inoculou-se o fungo a partir de discos de 8 mm de diâmetro colocados no centro da placa. Tais placas foram incubadas em câmara de crescimento (B.O.D.) a 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 16 horas de luz. Às 48, 96 e 144 horas após incubação, avaliou-se o crescimento micelial, através da medida do diâmetro (mm) da colônia, com auxílio de paquímetro. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, cinco repetições e parcela experimental constituída por uma placa de Petri. Houve efeito linear negativo em função das doses de quitosana, sendo que na dose de 160 mg L<sup>-1</sup> a inibição foi de 30% após 48 horas de incubação. Nas avaliações realizadas nos períodos de 96 e 144 horas houve efeito quadrático em função das doses de quitosana, sendo que na maior dose (160 mg L<sup>-1</sup>) a inibição foi de 26% e 21%, respectivamente.

**Palavras-chave:** Doenças fúngicas, videira, declínio da videira, controle alternativo.

### Abstract

*The work had as objective to evaluate the effect of the chitosan on the micelial growth of Botryosphaeria sp., causal agent of the grapevine decline. For the experiment, it was used an isolated pertaining to the phytopathologic collection of the Embrapa Uva e Vinho. Doses of 0, 20, 40, 80 and 160 mg L<sup>-1</sup> of chitosan were added to BDA media. After that, the medium were autoclaved and transfer for Petri dishes with 70 mm of diameter, where fungi were inoculated using discs of 8 mm of diameter put in the center of the Petri dishes. These dishes were incubated (B.O.D.) at 25 ± 1°C and with a photoperiod of 16h. At 48, 96 and 144 hours after incubation, the micelial growth evaluations were made through the measure of the colony diameter (mm) using a paquimeter. The experimental design was entirely randomized, with six treatments, five repetitions and experimental parcel consisting of a Petri dishe. It was observed negative linear effect in function of the chitosan doses and the 160 mg L<sup>-1</sup> dose showed an inhibition of 30% after 48 hours of incubation. For the evaluations in the periods of 96 and 144 hours, quadratic effect in function of the doses of chitosan were verified, with the highest dose (160 mg L<sup>-1</sup>) presenting an inhibition of 26% and 21%, respectively .*

**Keywords:** Fungic disease, grapevine, alternative control, grapevine decline.

### 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

## Resumos do VI CBA e II CLAA

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 e de qualidade da uva (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* (Pers.: fr.) Tul. & C. Tul., *Phomopsis viticola* (Sacc.) Sacc. e *Stereum* sp.. Devido à complexidade do agroecossistema, para o controle destes agentes devem ser contemplados aspectos de controle alternativo e medidas que enfoquem a multidisciplinaridade (PEARSON e GOHEEN, 1988).

Dentre estas alternativas de controle encontra-se a indução de resistência em plantas e a ação fungistática de determinados produtos biológicos e extratos. Neste contexto, o uso de quitosana para o controle de patógenos, vem sendo demonstrado em vários trabalhos. A quitosana é um polímero policatiônico  $\beta$ -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 (FORBES-SMITH, 1999). 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. Ait Barka et al., (2004), avaliando o potencial da quitosana contra *Botrytis cinerea*, verificaram que a presença de 1,75% (v/v) de chitogel (produto que contém quitosana) em meio de cultura induziu uma redução de 64% do ataque do *B. cinerea*.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antifúngico de concentrações crescentes de quitosana no crescimento micelial *in vitro* do fungo *Botryosphaeria* sp.

### Metodologia

Para este experimento foi utilizado o fungo (*Botryosphaeria* sp) proveniente da coleção fitopatológica da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves-RS. Como fonte de quitosana foi utilizada o produto comercial Fish Fértil Quitosana® (20g L<sup>-1</sup> de quitosana), Fish Indústria e Comércio de Fertilizantes Ltda., Mogi-Mirim-SP. Para realização do experimento *in vitro* adicionou-se ao meio BDA as doses de 20, 40, 80 e 160 mg L<sup>-1</sup> de quitosana, além da testemunha sem adição do produto. 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, onde inoculou-se o fungo a partir de discos de 8 mm de diâmetro colocados no centro da placa. Tais placas foram incubadas em câmara de crescimento (B.O.D.) a 25 ± 1 °C, com fotoperíodo de 16 horas de luz. Às 48, 96 e 144 horas após incubação, avaliou-se o crescimento micelial, através da medida do diâmetro (mm) da colônia, com auxílio de paquímetro.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, cinco repetições e parcela experimental constituída por uma placa de Petri. Os resultados foram submetidos à análise de variância e de regressão polinomial ao nível de 5 % probabilidade, através do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

### Resultados e discussões

Houve efeito linear negativo em função das doses de quitosana, sendo que na dose de 160 mg L<sup>-1</sup> a inibição foi de 30% após 48 horas de incubação. Nas avaliações realizadas nos períodos de 96 e 144 horas houve efeito quadrático em função das doses de quitosana, sendo que na maior dose (160 mg L<sup>-1</sup>) a inibição foi de 26 % e 21%, respectivamente.

## Resumos do VI CBA e II CLAA

De acordo com Leite et al. (2007), a quitosana passou a realmente fazer efeito sobre o crescimento fúngico *Fusicoccum amygdali*, a partir da dose 3,0 mL L<sup>-1</sup>, e na dose de 15 mL L<sup>-1</sup>, a redução foi significativa, sendo que o padrão de inibição do crescimento micelial se manteve ao longo dos dias avaliados. 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 (AIT BARKA et al., 2004) e morangos (BHASKARA REDDY, 2000) e *Puccinia arachidis* em amendoim (SATHIYABAMA e BALASUBRAMANIAN, 1998).

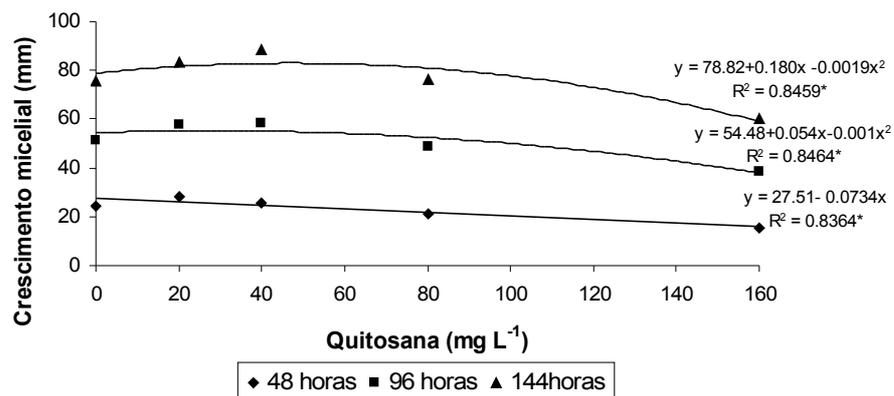


FIGURA 1. Crescimento micelial (mm) de *Botryosphaeria* sp. em função de concentrações crescentes de quitosana, aos 48, 96 e 144 horas após incubação em câmara de crescimento (Guarapuava-PR, 2008).

### Conclusões

No presente trabalho, constatou-se que as diferentes concentrações de quitosana reduziram o crescimento micelial do fungo *Botryosphaeria* sp. nos três períodos de avaliações. Pesquisas em campo devem ser realizadas para melhor elucidar a ação da quitosana sobre o fungo do declínio da videira.

### Referências

- AIT BARKA, E. et al. 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. et al. 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. et al. 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.
- FARJADO, T.V.M. *Uva para processamento*. Fitossanidade. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003, 131 p.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR (Sistema para análise de variância)

## Resumos do VI CBA e II CLAA

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 Australia*, North Sydney, v. 51, p. 382-385, 1999.

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*, Brasília, v. 29 p. 322-324, 2004.

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, 1981. (Circular Técnica, 6.)

LEITE, C.D. et al. Efeito da quitosana in vitro para o controle do cancro do ramo da ameixeira (*Fusicoccum amygdali*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 40., 2007, Maringá. *Fitopatologia Brasileira*, Maringá: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. v. 32, 201 p. (Suplemento)

PEARSON, R.C.; GOHEEN, A.C. *Compendium of grape diseases*. Saint Paul: APS Press, 1988.

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.