



ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE PRODUTOS ALTERNATIVOS SOBRE *Ilyonectria liriodendri* E *Phaeomoniella chlamydospora*

Ricardo Feliciano dos Santos¹, Elena Blume², Emanuele Junges³, Maria Cecília Nunes Farinha Rego⁴

¹ Mestrando em Agronomia - PPGA, Laboratório de Fitopatologia, Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil (ricardoijui@hotmail.com).

² Professora, Laboratório de Fitopatologia, Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

³ Doutoranda em Agronomia - PPGA, Laboratório de Fitopatologia, Departamento de Defesa Fitossanitária, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

⁴ Pesquisadora, Laboratório de Patologia Vegetal 'Veríssimo de Almeida', Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

Desde a década de 90, doenças do lenho da videira ameaçam a produção de uvas nas principais regiões vitivinícolas do planeta. A eficácia de fungicidas, biofertilizantes foliares à base de quitosana e indutor de resistência foi avaliada em experimentos *in vitro* no controle de *Ilyonectria liriodendri* e *Phaeomoniella chlamydospora*, agentes causais da doença pé preto e doença de Petri em videira, respectivamente, em ensaios de inibição do crescimento micelial e germinação de esporos. Acibenzolar-S-Metil em nenhuma das concentrações testadas foi capaz de inibir o crescimento micelial dos dois patógenos. Os dois produtos à base de quitosana mostraram valores máximos de inibição de crescimento micelial na concentração 500 mg L⁻¹ de i.a. A mistura piraclostrobina + metiram foi pouco eficiente para *Ilyonectria liriodendri* enquanto, para *Phaeomoniella chlamydospora* apresenta-se como uma alternativa de controle. Quitosana (1) e difenoconazol apresentaram resultados promissores nos testes para o controle dos patógenos. Estes resultados irão contribuir para futuros estudos envolvendo o controle da doença pé preto e doença de Petri, bem como, fornecer subsídios para programas de controle em viveiros e vinhedos.

PALAVRAS-CHAVE: doença pé preto, doença de Petri, quitosana, fungicida.

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ALTERNATIVE PRODUCTS ON THE *Ilyonectria liriodendri* AND *Phaeomoniella chlamydospora*

ABSTRACT

Since the 1990s, trunk disease of grapevine threaten the grape production in the main wine regions of the planet. The efficacy of fungicides, leaf fertilizer based on chitosan and resistance inductor was evaluated in experiments *in vitro* against *Ilyonectria liriodendri* and *Phaeomoniella chlamydospora*, causal agents of black foot disease and Petri disease, respectively, in inhibition assays of mycelial growth and spore germination. Acibenzolar-S-methyl in any of the concentrations tested was able to inhibit the mycelial growth of the two pathogens. The two products based on chitosan showed maximum mycelial growth inhibition at a concentration 500 mg L⁻¹ a.i. The mixture pyraclostrobin + metiram was ineffective to *Ilyonectria liriodendri*, while for *Phaeomoniella chlamydospora* presents itself as an alternative of control. Chitosan (1) and difenoconazole presented promising results in tests for the control of pathogens. These results will contribute to future studies involving control to black foot disease and Petri disease, as well as, provide support for control programs in nurseries and vineyards.

KEYWORDS: black foot disease, Petri disease, chitosan, fungicide.

INTRODUÇÃO

Fungos causadores de doenças do lenho em videira têm sido amplamente investigados e são considerados entre os patógenos mais destrutivos do material de propagação ou de vinhedos recém-implantados (GRAMAJE; ARMENGOL, 2011; OLIVEIRA et al., 2004). São importantes patógenos causadores de declínio das vinhas jovens, *Ilyonectria* spp. (anamorfo: *Cylindrocarpon* spp.) e *Phaeomoniella chlamydospora*, agentes causais da doença pé preto e da doença de Petri, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2004). Em nível mundial, o interesse sobre as doenças do lenho da videira, incluindo o declínio de vinhas jovens, começou a surgir como uma prioridade em 1998, tendo sido constituído o “International Council on Grapevine Trunk Diseases (ICGTD)”, com o propósito de estudar um conjunto de doenças que vinham a reduzir a produtividade e a longevidade das vinhas, comprometendo a sua viabilidade econômica (CHIARAPPA, 2000).

A doença pé preto é caracterizada pelo apodrecimento do colo da planta e do sistema radicular, seguindo de murchamento de parte aérea, e conseqüentemente, a morte da planta (GARRIDO et al., 2004). Os sintomas mais usuais causados por infecções de *Ilyonectria* spp. são observados no porta-enxerto e incluem, nos tecidos do lenho da videira, a presença de lesões enegrecidas em forma de estrias (corte longitudinal) ou pontuações negras dispersas em forma de anel e/ou necroses (corte transversal) (REGO et al., 2005). Em diversos países tem aumentado a incidência e severidade da doença com o passar dos anos, resultando frequentemente em morte e forçando produtores a arrancar e replantar áreas consideráveis (CABRAL et al., 2012).

Os sintomas da doença de Petri ocorrem nos tecidos corticais, formando pontuações ou estrias de cor castanha ou negra, na extremidade das quais ocorre à formação de goma (MORTON, 2000) que impede o fluxo ascensional de água e sais minerais, acarretando cloroses nas folhas. Devido à alteração dos vasos do xilema, o crescimento das plantas pode ser reduzido em até 50% (FRAGOEIRO, 2001). As

plantas doentes também podem vir a apresentar menor vigor, entrenós curtos, secamento do porta-enxerto e baixo pegamento após enxertia.

Nos últimos anos foram realizados trabalhos envolvendo diferentes formas de controle desses fungos. Os resultados encontrados por GRAMAJE et al. (2010) sugerem que o controle físico, com uso de água a 50 °C por 30 min pode ser suficiente para controlar *Ilyonectria* spp. (GRAMAJE et al., 2010) e reduzir a zero a taxa de reisolamento de *P. chlamydospora* logo após o tratamento térmico (GRAMAJE et al., 2009a). Resultados *in vitro* avaliando fungicidas revelaram que os ingredientes ativos “prochloraz manganese chloride” e benomil foram eficazes na inibição do crescimento micelial de *Ilyonectria* spp. e *Campylocarpon* spp., enquanto que flusilazole e imazalil foram altamente eficazes somente contra *Ilyonectria* spp (HALLEEN et al., 2007). Para *P. chlamydospora*, nenhum tratamento eficaz foi descoberto até o momento, sendo por isso, a prevenção é de grande importância (PINTO, 2010). Nesse contexto, há uma carência de trabalhos envolvendo o potencial fungistático de indutores de resistência.

A quitosana é um polímero biológico obtido por desacetilação da quitina, biodegradável e não tóxica para animais (TSIGOS et al., 2000). A maior fonte de quitina encontra-se no exoesqueleto de artrópodes, porém também é encontrada em nematóides, parede celular de fungos e algumas algas (RHAZI et al., 2000; DAHIYA et al., 2006). Na agricultura, a quitosana é utilizada como corretivo do solo, preservação antimicrobiana de alimentos como revestimento protetor em frutas e legumes, como biopesticida e ao mesmo tempo como ativador de mecanismos de defesa nas plantas (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2006). Como biopesticida, a quitosana tem demonstrado ação antifúngica e antibacteriana (NASCIMENTO et al., 2007). Para doenças do lenho da videira, práticas de manejo como adubação equilibrada, manejo de solo, proteção de feridas da poda e uso de material propagativo isento de patógenos são as principais formas de evitar as doenças no vinhedo.

O objetivo deste trabalho foi comparar a eficácia de fungicidas, biofertilizantes foliares à base de quitosana e indutor de resistência na inibição de crescimento de colônias e germinação de esporos de *Ilyonectria liriodendri* e *Phaeomoniella chlamydospora*, patógenos associados ao declínio de vinhas jovens.

MATERIAL E MÉTODOS

Isolados dos patógenos utilizados

Foi utilizado um isolado de *Ilyonectria liriodendri*, Cy68 (CBS 117526), e um isolado de *Phaeomoniella chlamydospora*, ambos pertencentes à coleção do Laboratório de Patologia Vegetal ‘Veríssimo de Almeida’ (LPVVA), Lisboa, Portugal. Foram obtidos de videiras jovens com sintomas da doença pé preto e doença de Petri. Os isolados estavam mantidos em tubos de ensaio contendo meio de cultura Spezieller Nährstoffarmer Agar acrescido de 0,1% de extrato de levedura (SNAY) a 5 °C. Dez dias antes da instalação de cada ensaio os isolados foram repicados para meio batata dextrose ágar (BDA).

Produtos

Formulações comerciais de dois fungicidas, dois biofertilizantes foliares à

base de quitosana e um indutor de resistência foram utilizados nos experimentos (Tabela 1). Suspensão dos produtos (10 mg i.a. L⁻¹ para fungicidas e 1000 mg i.a. L⁻¹ para os demais) foram obtidas através da suspensão dos produtos comerciais diretamente em água destilada estéril. Para cada fungicida (piraclostrobina + metiram e difenoconazol), seis concentrações decrescentes 5, 1, 0,5, 0,1, 0,05 e 0,01 mg i.a. L⁻¹ foram testados. Para o indutor de resistência (acibenzolar-S-Metil) e produtos à base de quitosana (quitosana (1) e quitosana (2)) foram utilizadas as concentrações 500, 100, 50, 10, 5 e 1 mg i.a. L⁻¹. Para cada concentração de cada produto seis réplicas foram feitas. Os ensaios foram repetidos duas vezes dentro de 15 dias para minimizar qualquer erro ou variação de sensibilidade dos fungos aos produtos testados.

Tabela 1- Principais características dos produtos utilizados nos ensaios.

Ingrediente ativo (i.a.)	Nome comercial	Empresa	Grupo químico	Modo de ação	Concentração do i.a.	Tipo de formulação
Piraclostrobina+ metiram	Cabrio Top®	BASF	Estrobilurina + ditiocarbamato	Sistêmico	5% piraclostrobina + 55% metiram	Grânulos dispersíveis em água (WG)
Difenoconazol	Score 250 EC®	Syngenta	Triazol	Sistêmico	250g L ⁻¹ ou 23,6% (p/p)	Concentrado para emulsão
Acibenzolar-S-Metil	Bion® 500 WG	Syngenta	Benzotiadiazol	Ativador de plantas	500g/Kg (50% m/m)	Granulado dispersível (WG)
Quitosana(1)*	Tecnifol® Defender	ADP Fertilizantes SA.	-	Protetor	1,8 % de quitosana	Líquido
Quitosana(2)*	Chitosan Power	Ferti-Buy Co., Ltd.	-	--	2,6% de quitosana	Líquido

- Biofertilizante foliar com estímulo do metabolismo vegetal e prevenção de infecções por patógenos.

-- Produto em testes sem especificação para modo de ação.

* Números utilizados para discriminar os produtos comerciais.

Ensaio de crescimento micelial

Volume apropriado de cada produto foi adicionado em meio BDA à 45-50 °C para obter a concentração desejada. Para cada repetição, alíquotas de 15 mL de meio BDA acrescido de produto foram plaqueadas em placas de Petri de 90 mm de diâmetro. Após o meio solidificar, discos miceliais (3 mm de diâmetro) de *Ilyonectria liriodendri* e *Phaeomoniella chlamydospora* foram repicados para o centro da placas. No tratamento testemunha, foi utilizada água destilada e esterilizada ao invés da suspensão do produto. As placas contendo *I. liriodendri* e *P. chlamydospora* foram incubadas por 12 e 21 dias, respectivamente, no escuro a 25°C. Após esse período foi medido o diâmetro das colônias em sentidos perpendiculares, obtendo-se a média. A inibição do crescimento micelial foi determinada comparando o crescimento nas diferentes concentrações dos produtos com o tratamento testemunha (sem produto).

Determinação da germinação de esporos

Suspensões conidiais de *I. liriodendri* e *P. chlamydozpora* foram obtidas de culturas com 12 e 21 dias, respectivamente, ambas crescidas em BDA em escuro à 25 °C. Em cada placa foram adicionados 10 mL de água destilada, esterilizada e feita uma raspagem com auxílio de alça de Drigalski a fim de liberar os esporos. A suspensão obtida foi filtrada em dupla camada de gaze para remover fragmentos de micélio e meio de cultura. Após filtragem, a suspensão foi ajustada a 10^5 conídios mL^{-1} com auxílio de câmara de Neubauer, acrescentando água destilada e esterilizada. A suspensão obtida foi transferida para um tubo de ensaio esterilizado e agitada em agitador de tubos tipo “Vortex”.

Retiraram-se 150 μL de cada uma das suspensões conidiais obtidas, os quais foram adicionados a 150 μL de cada concentração de produto, contidos em tubos eppendorf de 1mL, perfazendo um volume total de 300 μL . Todos os tubos foram agitados em “Vortex”, para homogeneizar a mistura e de cada um, retiraram-se quatro gotas de 60 μL , que foram colocadas na superfície de placas de Petri de poliestireno, com 90 mm de diâmetro, em zonas diametralmente opostas. No tratamento testemunha, foi utilizada água destilada esterilizada, em substituição às diluições dos produtos. As placas de *I. liriodendri* foram incubadas por 12 horas e *P. chlamydozpora* por 26 horas. Considerou-se que a germinação era atingida quando pelo menos 80% dos esporos do tratamento testemunha (concentração 0) apresentavam emissão do tubo germinativo. Sobre cada gota, foi colocada uma lamínula de vidro de 22 x 22 mm no momento da avaliação.

Foram contabilizados 50 esporos por lamínula, num total de 200 por placa e para cada uma das concentrações dos produtos ensaiados. A inibição da germinação dos esporos foi calculada em porcentagem, em relação à obtida na ausência do produto (tratamento testemunha). A germinação dos esporos foi determinada através da visualização das estruturas em microscópio ótico (ampliação de 160x).

Procedimento estatístico

Para cada concentração do produto e isolado, porcentagem de crescimento micelial e germinação de esporos foram convertidos para probits. Utilizou-se a transformação probit amplamente utilizada em ensaios biológicos com inibição do crescimento micelial e germinação de esporos (REGO et al., 2006; VAZ, 2008). Os probits são unidades de probabilidade dispostas numa escala de 0 a 10 que permitem transformar numa reta, a curva que relaciona a porcentagem de inibição do crescimento micelial com a concentração do produto utilizado. Já as concentrações dos produtos foram transformadas em logaritmos. A análise de regressão foi usada para calcular os valores efetivos de concentração que inibiram o crescimento micelial e germinação de esporos em 50% (valores de EC_{50}). Para as análises, utilizou-se o software SISVAR 5.3 (Sistema de Análise de Variância Para Dados Balanceados) (FERREIRA, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos ensaios referentes à *Ilyonectria liriodendri*, em todas as concentrações testadas de quitosana (2) o isolado cresceu mais que no tratamento testemunha,

exceto na concentração 500 mg L⁻¹, onde o produto inibiu totalmente o crescimento do patógeno. Já para quitosana (1) o patógeno teve um maior crescimento nas concentrações de 1, 5 e 10 mg L⁻¹, se comparado ao tratamento controle. Uma das possibilidades para esse comportamento se deve ao fato da quitosana ser um polissacarídeo e que, provavelmente, o fungo utilize como fonte de energia para seu crescimento. Em ensaio com o fungo *Elsinoe ampelina*, causador de antracnose na videira, quitosana apresentou efeito fungistático sobre o patógeno, reduzindo o diâmetro micelial em 81,7% na concentração de 300 mg L⁻¹ (MAIA et al. 2010).

Para acibenzolar-S-Metil não foi determinada a dose CE₅₀, uma vez que nenhuma das concentrações atingiu o valor de 50% de inibição que é condição necessária para realização do cálculo, isso demonstra a ineficiência desse produto para o controle direto do fitopatógeno. Esse comportamento não impede que ele tenha ação na indução de resistência na planta, por meio de ativação de rotas metabólicas, conferindo resistência ao ataque do patógeno. O declive da reta de regressão teve valor alto apenas para quitosana (1) o que comprova menor suscetibilidade de *I. liriodendri* a variações de concentração para os demais produtos (Tabela 2). REGO et al. (2006) avaliando inibição de crescimento micelial de "*Cylindrocarpon*" *destructans* obteve valores de EC₅₀ na casa de 0,09 mg L⁻¹ e 2,25 mg L⁻¹ para procloraz e difenoconazol, respectivamente. Enquanto, carpropamida, tiabendazol, azoxystrobin, trifloxystrobin, fosetyl-Al, tolylfluanid, cyprodinil e pyrimethanil os valores de EC₅₀ foram superiores a 5 mg L⁻¹.

Tabela 2 – Porcentagem máxima de inibição do crescimento micelial, coeficiente de determinação (R²), declive da reta de regressão (b) e valor de CE₅₀ (mg L⁻¹) calculados nos ensaios *in vitro*, para cinco produtos no controle do crescimento micelial de *Ilyonectria liriodendri*.

Ingrediente ativo	Porcentagem máxima de inibição	R ²	b	CE ₅₀ (mg L ⁻¹)
Quitosana (1)	100 ^a	0,99	7,03	152,98
Quitosana (2)	100 ^a	0,60	1,67	< 500
acibenzolar-S-Metil	10,57 ^a	0,57	0,14	> 500
difenoconazol	71,56 ^b	0,99	0,75	1,11
piraclostrobina+ metiram	29,59 ^b	0,97	0,69	> 5

^a Determinada para concentração máxima do produto (500 mg L⁻¹ de ingrediente ativo).

^b Determinada para concentração máxima do fungicida (5 mg L⁻¹ de ingrediente ativo).

De acordo com REGO et al. (2009) o uso de piraclostrobina + metiram reduziu a incidência e severidade em 60% de "*Cylindrocarpon*" spp., se comparado ao tratamento testemunha que recebeu somente água, em plantas de videira infectadas naturalmente e cultivadas em viveiro com histórico de cultivo da cultura. Também, relatam que a redução total de fungos causada por ciprodinil + fludioxonil e piraclostrobina + metiram demonstrou claramente que estes fungicidas aplicados em viveiro são alternativas ou um complemento com outras estratégias de controle.

Nos ensaios de inibição do crescimento micelial de *P. chlamydospora*, os produtos quitosana (1), quitosana (2) e difenoconazol reduziram em 100% o desenvolvimento do fungo. O fungicida difenoconazol apresentou alta ação fungistática, já na menor concentração usada ele inibiu mais que 50% do crescimento do fungo, o que impediu o cálculo para determinar o valor CE₅₀ (Tabela 3). Quitosana (2) apresentou melhores resultados que quitosana (1) quanto à dose CE₅₀, pois necessitou de apenas 28,68 mg L⁻¹ de ingrediente ativo para reduzir em 50% o desenvolvimento do fungo, enquanto esta necessitou de 50,23 mg L⁻¹. O uso

de quitosana mostrou efeito inibidor de crescimento micelial de fungos envolvidos no grupo de doenças do lenho da videira com ênfase *P. chlamydospora*, *Fomitiporia* sp. e *Botryosphaeria* sp. (NASCIMENTO et al., 2007). Os mesmos autores também relatam que quando aplicado em parte aérea de plantas de videira em substrato artificialmente infestado com *I. liriodendri* e *P. chlamydospora*, quitosana reduz significativamente a porcentagem de isolamento desses patógenos, dessa forma concluem que quitosana pode ser considerada uma alternativa ou complemento para fungicidas convencionais no manejo integrado de proteção da vinha contra doenças do lenho. Para os ensaios de inibição de germinação de esporos acibenzolar-S-Metil não foi testado, devido a sua baixa atividade fungistática apresentada nos ensaios de inibição de crescimento micelial.

Tabela 3 – Porcentagem máxima de inibição do crescimento micelial, coeficiente de determinação (R^2), declive da reta de regressão (b) e valor de CE_{50} ($mg L^{-1}$) calculados nos ensaios *in vitro*, para cinco produtos no controle do crescimento micelial de *Phaeomoniella chlamydospora*.

Ingrediente ativo	Porcentagem máxima de inibição	R^2	b	CE_{50} ($mg L^{-1}$)
Quitosana (1)	100 ^a	0,73	2,05	50,23
Quitosana (2)	100 ^a	0,59	1,54	28,68
acibenzolar-S-Metil	47,64 ^a	0,81	1,54	> 500
difenoconazol	100 ^b	0,64	1,41	< 0,01
piraclostrobina+ metiram	80,36 ^c	0,94	0,92	0,02

^a Determinada para concentração máxima do produto ($500 mg L^{-1}$ de ingrediente ativo).

^b Determinada para concentração do fungicida ($0,01 mg L^{-1}$ de ingrediente ativo).

^c Determinada para concentração máxima do fungicida ($5 mg L^{-1}$ de ingrediente ativo).

Em ensaios com *P. chlamydospora* observou que o crescimento do patógeno foi inibido por fungicidas inibidores de demetilação (DMI), cyproconazol, bitertanol, tebuconazol, fenarimol, myclobutanil e procloraz, valores de EC_{50} menores que $0,2 mg L^{-1}$; e fungicidas benzimidazóis, benomyl, carbendazime tiofanato metílico, com valores de EC_{50} inferiores a $0,4 mg L^{-1}$. No ensaio de germinação de esporos, os valores de EC_{50} para fungicidas sistêmicos foram maiores, indicando que eles apresentam menor eficácia na germinação se comparado ao crescimento micelial (JASPERS, 2001).

Nos ensaios de inibição da germinação de esporos os valores do declive da reta de regressão (b) foram inferiores a 0,60, o que comprova a baixa suscetibilidade de *I. liriodendri* a variação da concentração dos produtos testados (Tabela 4). No ensaio de inibição do crescimento micelial desse patógeno o declive da reta para quitosana (1) foi acentuado ($b=7,03$). Dessa forma, supõe-se que o produto atua de maneira distinta para inibição do crescimento micelial e germinação de esporos.

A avaliação dos produtos à base de quitosana, nas concentrações de 500 e $100 mg L^{-1}$ de ingrediente ativo, não foi possível pois o produto + suspensão de esporos não formaram gotas individualizadas, possivelmente pela ausência de adjuvantes nesses produtos. Quitosana (2) não apresentou nenhum efeito sobre a germinação de esporos em todas as doses testadas para os dois fungos. Os ingredientes ativos quitosana (1) e piraclostrobina + metiram foram pouco eficazes, sendo a porcentagem máxima de inibição inferior a 50%. REGO et al. (2006) relatam a necessidade de doses superiores a $5 mg L^{-1}$ de difenoconazol para inibir em 50% a germinação de esporos de quatro isolados de "*C.*" *destructans*.

Tabela 4 – Porcentagem máxima de inibição da germinação de esporos, coeficiente de determinação (R^2), declive da reta de regressão (b) e valor de CE_{50} ($mg L^{-1}$) calculados nos ensaios *in vitro*, para três produtos contra *Ilyonectria liriodendri*.

Ingrediente ativo	Porcentagem máxima de inibição	R^2	b	CE_{50} ($mg L^{-1}$)
Quitosana (1)	48,73 ^a	0,79	0,42	> 50
difenoconazol	48,60 ^b	0,78	0,37	> 5
piraclostrobina+ metiram	37,30 ^b	0,60	0,60	> 5

^a Determinada para concentração do produto ($50 mg L^{-1}$ de ingrediente ativo).

^b Determinada para concentração máxima do fungicida ($5 mg L^{-1}$ de ingrediente ativo).

Para *Phaeomoniella chlamydospora*, quitosana (1) e piraclostrobina+ metiram apresentaram 100% de inibição da germinação de esporos. O fungicida difenoconazol apresentou apenas 63,57% de inibição, enquanto nos ensaios de inibição do crescimento micelial foi o melhor produto para o controle do patógeno. Assim como no ensaio de *I. liriodendri*, quitosana (2) não apresentou efeito sobre a germinação de esporos de *P. chlamydospora*. Apenas difenoconazol teve um baixo valor de declive da reta (b), conferindo baixa ação sobre o patógeno das diferentes concentrações (Tabela 5). GRAMAJE et al. (2009b) avaliando 14 fungicidas na inibição de crescimento micelial e germinação de esporos de *Phaeomoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium aleophilum* concluíram que azoxistrobina, carbendazim e tebuconazole foram os fungicidas mais eficientes contra *P. chlamydospora*, enquanto que carbendazim e cloreto de “didecyldimethylammonium” foram mais eficientes contra *P. aleophilum*.

Tabela 5- Porcentagem máxima de inibição da germinação de esporos, coeficiente de determinação (R^2), declive da reta de regressão (b) e valor de CE_{50} ($mg L^{-1}$) calculados nos ensaios *in vitro*, para três produtos contra *Phaeomoniella chlamydospora*.

Ingrediente ativo	Porcentagem máxima de inibição	R^2	b	CE_{50} ($mg L^{-1}$)
Quitosana (1)	100 ^a	0,66	3,65	3,79
difenoconazol	63,57 ^b	0,76	0,45	0,21
piraclostrobina+ metiram	100 ^b	0,80	2,48	0,12

^a Determinada para concentração do produto ($50 mg L^{-1}$ de ingrediente ativo).

^b Determinada para concentração máxima do fungicida ($5 mg L^{-1}$ de ingrediente ativo).

CONCLUSÕES

O acibenzolar-S-Metil é ineficaz na inibição de crescimento micelial e germinação de esporos de *Ilyonectria liriodendri* e *Phaeomoniella chlamydospora*. Piraclostrobina + metiram apresenta pouca eficácia para *Ilyonectria liriodendri*, enquanto que para *Phaeomoniella chlamydospora* apresenta-se como uma alternativa de controle. Quitosana (1) e difenoconazol apresentaram resultados promissores nos testes *in vitro*.

REFERÊNCIAS

BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDOA, A. N.; VELÁZQUEZ-DEL VALLEA, M. G.; HERNÁNDEZ-LÓPEZA; M.; AIT BARKAB, E.; BOSQUEZ-MOLINAC, E.; WILSOND, C. L. Chitosan as a potential natural compound to control pre and post harvest diseases of horticultural commodities. **Crop Protection**, v. 25, p. 108-

118, 2006.

CABRAL, A.; REGO, C.; NASCIMENTO, T.; OLIVEIRA, H.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. Multi-gene analysis and morphology reveal novel *Ilyonectria* species associated with black foot disease of grapevines. **Fungal Biology**, v. 116, n. 1, p. 62-80, 2012.

CHIARAPPA, L. Esca (black measles) of grapevine. An overview. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 39, p. 11-15, 2000.

DAHIYA, N.; TEWARI, R.; HOONDAL, G. S. Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 71, p. 773-782, 2006.

FERREIRA, D. F. **Sisvar versão 5.3 (Build 75)**. Lavras: DEX/UFLA, 2010.

FRAGOEIRO, S. I. S. **Estudo bioquímico de videiras *in vitro* infectadas com *Phaeomoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium angustius* e caracterização dos microrganismos envolvidos na doença**. 2001. 126f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia) - Universidade de Aveiro, Portugal.

GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R.; URBEN, A. F. *Cylindrocarpon destructans* causador do “pé preto” da videira no Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 548-550, 2004.

GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J.; SALAZAR, D.; LÓPEZ-CORTÉS, I.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J. Effect of hot-water treatments above 50 °C on grapevine viability and survival of Petri disease pathogens. **Crop Protection**, v. 28, p. 280-285, 2009a.

GRAMAJE, D.; AROCA, A.; RAPOSO, R. GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. Evaluation of fungicides to control Petri disease pathogens in the grapevine propagation process. **Crop Protection**, v. 28, p. 1091-1097, 2009b.

GRAMAJE, D.; ALANIZ, S.; ABAD-CAMPOS, P.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. Effect of hot-water treatments *in vitro* on conidial germination and mycelial growth of grapevine trunk pathogens. **Annals of Applied Biology**, v. 156, p. 231-241, 2010.

GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J. Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management strategies. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 95, n. 9, p. 1040-1055, 2011.

HALLEEN, F.; FOURIE, P. H.; CROUS, P. W. Control of black foot disease in grapevine nurseries. **Plant Pathology**, v. 56, p. 637-645, 2007.

JASPERS, M. Effect of fungicides, *in vitro*, on germination and growth of *Phaeomoniella chlamydospora*. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 40, p. 453-458, 2001.

MAIA, A. J.; LEITE, C. D.; BOTELHO, R. V.; FARIA, C. M. D. R.; UBER, S. C. Efeitos da quitosana no desenvolvimento *in vitro* de videiras cv. Merlot e no crescimento micelial do fungo *Elsinoe ampelina*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, p. 1425-1430, 2010.

MORTON, L. Viticulture and grapevine decline: Lessons of black goo. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 39, p. 59-67, 2000.

NASCIMENTO, T.; REGO, C.; OLIVEIRA, H. Potencial use of chitosan in the control of grapevine trunk diseases. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 46, p. 218-224, 2007.

OLIVEIRA, H.; REGO, C.; NASCIMENTO, T. Decline of young grapevines caused by fungi. **Acta Horticulturae**, v. 652, p. 295-304, 2004.

PINTO, J. S. G. C. **Doença de Petri da Videira: Avaliação da eficácia de fungicidas na protecção de poda**. 2010. 81f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agronómica) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.

REGO, C.; NASCIMENTO, T.; CABRAL, A.; OLIVEIRA, H. O declínio das videiras jovens: um desafio para a viticultura mundial. **Vinea**, v. 14, p. 11-19, 2005.

REGO, C., FARROPAS, L.; NASCIMENTO, T. CABRAL, A.; OLIVEIRA, H. Black foot of grapevine: sensitivity of *Cylindrocarpon destructans* to fungicides. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 45, p. 93-100, 2006.

REGO, C.; NASCIMENTO, T.; CABRAL, A.; SILVA, M. J.; OLIVEIRA, H. Control of grapevine wood fungi in commercial nurseries. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 48, p. 128-135, 2009.

RHAZI, M.; DESBRIÈRES, J.; TOLAIMATE, A.; ALAGUI, A.; VOTTERO, P. Investigation of different natural sources of chitin: influence of the source and deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan. **Polymer International**, v. 49, p. 337-344, 2000.

TSIGOS, I.; MARTINO, A.; KAFETZOPOULOS, D.; BOURIOTIS, V. Chitin deacetylases: new, versatile tools in biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 18, p. 305-312, 2000.

VAZ, A. T. A. **Doenças causadas por fungos Botryosphaeriaceae em videira: Caracterização fenotípica e molecular de isolados e sensibilidade a fungicidas**. 2008. 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agronómica) - Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.