

CIRCULAR TÉCNICA

211

Pelotas, RS
Dezembro, 2020

Eficiência do Filme Fitoprotetor à Base de Quitosana e Extrato Pirolenhoso para Pulverização em Pomar de Citros

Angela Diniz Campos
Roberto Pedroso de Oliveira
Bernardo Ueno
Luís Antônio Suita de Castro

OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



Eficiência do Filme Fitoprotetor à Base de Quitosana e Extrato Pirolenhoso para Pulverização em Pomar de Citros¹

A quitosana é um biopolímero natural, seguro e barato, produzido a partir da quitina. A quitina é o polissacarídeo orgânico mais abundante na terra depois da celulose. Constitui o principal polímero de fibrila na casca de crustáceos e insetos e na parede celular de certos fungos. A quitosana possui muitos usos, tais como: nos tratamentos de águas residuais, no campo biomédico, em cosmetologia e na agricultura, no manejo de doenças fúngicas, bacterianas e de insetos-praga. É a segunda maior fonte de carbono renovável da terra (Hamdine et al., 2005; Malerba; Cerana, 2016; Li; Zhuang, 2020).

Além de seu baixo custo de produção, a quitosana possui várias propriedades biológicas favoráveis, como biodegradabilidade, biocompatibilidade e não alergenicidade. Aliado a essas características está o extrato pirolenhoso, que é um produto natural, biodegradável e sustentável. A quitosana é suscetível à degradação por enzimas específicas e inespecíficas, e apresenta baixa toxicidade para humanos, possuindo efeito benéfico como suplemento alimentar, sendo capaz de reduzir o colesterol plasmático e triglicerídeos, devido à sua capacidade de ligar os lipídios da dieta, reduzindo, assim, a absorção intestinal de lipídios (Koide, 1998). Nesse contexto, todas essas características tornam tanto a quitosana quanto o extrato pirolenhoso produtos muito atrativos e úteis para a indústria.

A disponibilidade de quantidades industriais de quitosana na década de 1980 permitiu que a substância fosse testada como uma ferramenta agrícola (Malerba; Cerana, 2016). Já o extrato pirolenhoso é utilizado há milênios, no processo de conservação de alimentos, na indústria têxtil, desde o século XVII, e na agricultura, com mais ênfase no século XX.

Relatos da utilização da quitosana para controle de doenças na pré e pós-colheita têm sido cada vez mais frequentes, e os estudos no momento voltam-se para a associação de compostos bioativos para aumentar a sua eficiência. Nas plantas, os oligossacarídeos curtos de quitina e fragmentos de quitosana (coletivamente, chamados de quito-oligossacarídeos) são elicitores bem conhecidos que desencadeiam a expressão do gene de defesa, a síntese de compostos antimicrobianos e o fortalecimento da parede celular (Hamel; Beaudoin, 2010). Da mesma forma, o extrato pirolenhoso desponta nos estudos como um produto eficiente na melhoria de vigor das plantas, interferindo também no metabolismo de resistência sistêmica das plantas.

Geralmente, a quitosana possui atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos (El Hadrami et al., 2010). Portanto, a adição de quitosana às células vegetais desencadeia respostas de defesa típicas de resistência sistêmica induzida, incluindo fluxos de íons, geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), ativação de proteínas relacionadas à patogênese (PR), indução da expressão de genes de defesa, síntese de fitoalexinas, fortalecimento da parede celular e, em alguns casos, indução de morte celular, que é a reação de isolamento do fungo (Lin et al., 2005; Cabrera et al., 2006; Kuchitsu et al., 1997; Iriti; Varoni, 2015). Outro efeito positivo da quitosana é a indução da nodulação radicular por bactérias fixadoras de nitrogênio (Ali et al., 1997).

No controle de doenças das plantas, a quitosana age tanto como eficiente indutor de resistência quanto agente antimicrobiano. Sua toxicidade direta permanece dependente de propriedades como a concentração aplicada, peso molecular, grau de desacetilação, solvente, pH e viscosidade (No et al., 2002; Badawy et al., 2005; El Hadrami et al., 2009).

A formação de barreira física em torno dos locais de penetração de patógenos é estimulada pela quitosana. Quando aplicada aos tecidos das plantas, geralmente se aglutina ao redor dos locais de penetração e tem dois efeitos principais. O primeiro é o isolamento do local de penetração, por meio da formação de uma barreira física que impede o patógeno de se espalhar e invadir outros tecidos saudáveis. Esse fenômeno se assemelha às zonas de abscisão, frequentemente observadas nas folhas, evitando que vários patógenos necro-

¹ Angela Diniz Campos, Engenheira-agrônoma, doutora em Fisiologia Vegetal, pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Roberto Pedroso de Oliveira, Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Bernardo Ueno, Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Luís Antônio Suita de Castro, Engenheiro-agrônomo, mestre em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

tróficos se espalhem ainda mais. (Badawy et al., 2005; El Hadrami et al., 2009). Em torno das zonas isoladas, muitas vezes ocorre a atividade do elicitor, desencadeando uma resposta de hipersensibilidade ao acúmulo de H₂O₂, estimulando a lignificação da parede celular, e servindo como um sinal de alerta para outras partes saudáveis da planta. O segundo efeito consiste na capacidade da quitosana de ligar vários materiais e iniciar rapidamente o processo de cicatrização de feridas (Hirano et al., 1999)

O extrato pirolenhoso, quando aplicado sobre as plantas em pulverização, devido aos seus muitos compostos naturais, é facilmente absorvido. Estimula múltiplas reações metabólicas, atuando diretamente no metabolismo secundário e resultando em melhorias do controle de doenças e pragas e aumento do vigor (Mahmud et al., 2016; Grewal et al., 2018; Tiilikkala et al., 2010).

A atividade desencadeadora de defesa da quitosana e do extrato pirolenhoso levam a uma variedade de respostas de defesa, em plantas hospedeiras, a infecções microbianas, incluindo o acúmulo de fitoalexinas, proteínas ligadas à patogênese (PR) e inibidores de proteinase, síntese de lignina e formação de calosidades.

Nesse contexto, com base nessas e outras propriedades da quitosana e do extrato pirolenhoso que ajudam a fortalecer as defesas das plantas, foi desenvolvido o filme fitoprotetor para uso em sistemas agrícolas, visando melhorar o vigor, controle de pragas e doenças, produtividade e a qualidade das safras.

O filme fitoprotetor, desenvolvido na Embrapa Clima Temperado (Campos et al., 2012) para uso em pulverização, é uma solução de ácido pirolenhoso destilado em baixa pressão, adicionado de quitosana com grau de desacetilação mínimo de 90%, formadora de filme. O respectivo filme fitoprotetor é aplicado em partes aéreas de plantas e/ou frutos e apresenta as características de estabilidade em temperaturas até 60 °C. Tem estrutura cristalina, flexível e porosa, mantém sua integridade na água e apresenta boa higroscopicidade.

Metodologia

Este trabalho foi realizado mediante uma parceria entre a Embrapa Clima Temperado e o produtor de citros Marcos Cavalin, no município de Pelotas, Colônia Júlio de Castilhos. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfa, temperado e úmido, com verões quentes. O experimento foi instalado em pomar de tangerina cultivar Montenegrina com plantas de seis anos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições de cinco plantas, e três tratamentos, sendo: 1) filme fitoprotetor (1%); 2) filme fitoprotetor (1%) + nim (*Azadirachta indica*) (1%), aplicados em pulverização; 3) controle com tratamentos usuais da cultura, em cultivo de transição para sistema orgânico. As aplicações foram realizadas a cada 15 dias, inicialmente, devido às condições precárias do pomar, até o aparecimento dos botões florais. Reiniciaram-se as aplicações após a queda das pétalas, em intervalos de 20 dias, totalizando 16 pulverizações em 12 meses. As avaliações foram realizadas durante um ano, fechando o ciclo da cultura. Avaliou-se vigor das plantas, incidência de pragas, fitotoxidez em folhas e frutos.

Resultados

Inicialmente, em 2019, as plantas apresentavam presença de líquens no caule, incidência de pulgão-preto nas brotações (*Toxoptera citricida*), cochonilha ortézia dos citros (*Orthezia praelonga*), larva-minadora-das-folhas (*Phyllocnistis citrella*) e fumagina, como pode ser observado nas Figuras 1 e 2. Por isso, as pulverizações foram escalonadas a cada quinze dias, até o desaparecimento dos sintomas, quando então as aplicações passaram a ser realizadas a cada 20 dias.



Figura 1. Plantas de tangerina cultivar Montenegrina no início do experimento em maio/2019, antes das pulverizações com o filme fitoprotetor, apresentando cochonilha (A), líqüens nas folhas e caules e fumagina (B,C,D).



Figura 2. Plantas de tangerina cultivar Montenegrina antes dos tratamentos com o filme fitoprotetor. Incidência de piolho-preto (A, B), larva-minadora-das-folhas (C) e pulgão-preto (D).

O reaparecimento de pulgões, ocorrido no intervalo entre as pulverizações, principalmente na primavera, foi controlado após nova aplicação do filme fitoprotetor. Essa reinfestação não causou maiores danos às plantas,

como deformação e enrolamento de folhas (Figura 3). Já com a adição de nim, não ocorreu a reinfestação entre as pulverizações. Observa-se, na Figura 4, que, após a pulverização do filme fitoprotetor adicionado de nim nas plantas atacadas pela larva-minadora-das-folhas, ocorreu aparentemente a formação de uma película sobre a folha, o que provavelmente impediu a sua abscisão.



Foto: Ângela Diniz Campos

Figura 3. Reincidência do pulgão-preto em tangerinas cultivar Montenegrina, ocorrida nos intervalos entre as pulverizações, em menor quantidade e facilmente controlada após nova pulverização com o filme fitoprotetor.



Fotos: Ângela Diniz Campos

Figura 4. Folha de tangerina cultivar Montenegrina atacada por larva-minadora. Após o tratamento com o filme fitoprotetor, observa-se o controle do inseto e a permanência das folhas na planta.

Quando o experimento foi iniciado (final de maio/2019), as plantas estavam debilitadas, devido ao ataque de pragas. Nessa safra, a carga de frutos foi pequena (Figura 5).



Figura 5. Frutificação em plantas de tangerina cultivar Montenegrina, safra 2019, após cinco pulverizações com o filme fitoprotetor, apresentando controle de pragas, porém havendo poucos frutos, devido ao estado debilitado das plantas antes dos tratamentos.

No ciclo vegetativo de um ano utilizando 16 tratamentos com filme fitoprotetor, verificou-se melhora de vigor das plantas e controle de pragas, o que pode ser observado comparando-se as Figuras 1 e 2, referentes ao início dos tratamentos, com as Figuras 5 e 7, referentes às avaliações após um ano, em final de maio/2020. Entretanto, no tratamento controle (Figura 6), observa-se menor carga de frutas, presença de líquens, piolho-preto, larva-minadora-das-folhas e fumagina.

Na Figura 7, pode ser verificado vigor, boa sanidade e grande carga de frutas das plantas. Essa resposta deve-se à ação de fitoproteção do filme, com estimulação metabólica, envolvendo a indução da resistência sistêmica das plantas, que promoveu a melhora de vigor e o controle de pragas. Esse efeito no controle de pragas foi reforçado com a associação das propriedades do extrato pirolenhoso, da quitosana e de compostos bioativos presentes no nim.

O filme fitoprotetor adicionado de nim foi mais eficiente no controle de insetos. Porém, tanto o filme puro quanto aquele adicionado de nim apresentaram eficiência em melhorar o vigor e controlar em 100% a incidência de líquens e fumagina nas plantas.



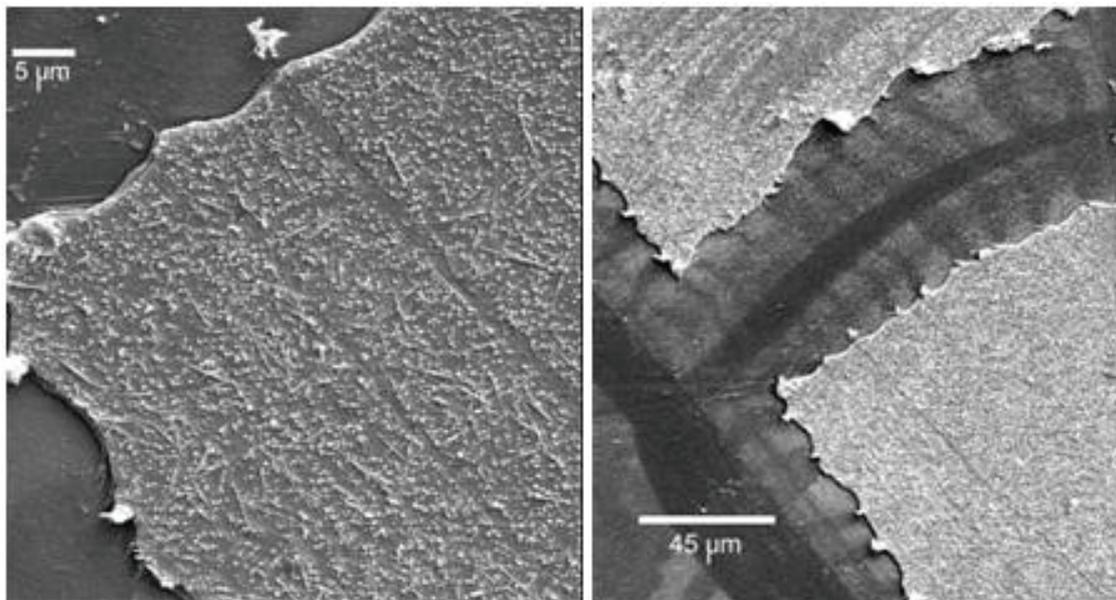
Figura 6. Aspecto das plantas de tangerina cultivar Montenegrina no tratamento controle, evidenciando menor carga de frutas (A), presença de líquens (B), piolho-preto (C), larva-minadora-das-folhas e fumagina (D).



Fotos: Ângela Diniz Campos

Figura 7. Carga de frutos de plantas de tangerina cultivar Montenegrina após um ano de tratamentos com o filme fitoprotetor, evidenciando o vigor e o bom estado fitossanitário das plantas.

De acordo com Campos et al. (2012), o filme fitoprotetor apresenta estrutura semicristalina e porosa, não afetando as trocas gasosas durante o processo de fotossíntese (Figura 8). Após a pulverização sobre as folhas, forma-se uma fina película sobre a superfície das folhas (Figura 9).



Fotos: Luís Antônio Suíta de Castro

Figura 8. Micrografia eletrônica do filme fitoprotetor em uma superfície lisa, apresentando estrutura semicristalina.



Foto: Fabiane Grecco da Silva Porto

Figura 9. Aspecto das folhas de tangerina cultivar Montenegrina, após pulverização com filme fitoprotetor à base de quitosana.

Considerações finais

As plantas, após tratamentos com o filme fitoprotetor, apresentaram controle de cochonilhas, pulgões, líquens e melhora no vigor, eliminando o desenvolvimento de fumagina nas folhas. O pulgão-preto e a larva-minadora-das-folhas foram mais eficientemente controlados no tratamento com o filme fitoprotetor adicionado de nim, em qualquer condição climática, seguido pelo filme fitoprotetor sem adição de substância bioativa. O controle de pragas, melhora de vigor das plantas e qualidade dos frutos foram muito favorecidos com as pulverizações com o filme fitoprotetor.

Pelos bons resultados apresentados, o filme fitoprotetor é um produto sustentável, biodegradável, de baixo custo e com potencial para recomendação no tratamento fitossanitário de plantas de citros.

Agradecimentos

Ao produtor de citros Sr Marcos Cavalin pela parceria na pesquisa cedendo o pomar para a instalação dos experimentos. Aos funcionários da Embrapa Clima Temperado Fabiane Grecco da Silva Porto e Mário Renê Pereira pela dedicação e eficiência na condução dos experimentos.

Referências Bibliográficas

- ALI, M.; HORIUCHI, T.; MIYAGAWA, S. Nodulation, Nitrogen Fixation and Growth of Soybean Plants (*Glycine max* Merr.) in Soil Supplemented with Chitin or Chitosan. **Japanese Journal of Crop Science**, v. 6, n. 1, p. 100-107, 1997.
- CAMPOS, A. D.; UENO, B.; GOMES, C. B.; PORTO, F. G. DA S.; ANTUNES, I. F.; GARCIA, R. T. S.; PEREIRA, J. F. M.; CASTRO, L. A. S. DE; SCIVITTARO, W. B. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora, formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora, uso da formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora. (21) BR 10 2012 033149-7 A2. (22) Data de Depósito: 26/12/2012, (43) Data da Publicação: 05/08/2014. Registered at Instituto Nacional de Propriedade Intelectual in Brazil (PCT/ BR2013/000597), In United States (US20150336854 A1) and in Germany (DE112013006230T5). Concessão: 2012.
- BADAWY, MEI; RABEA, EI; ROGGE, T. M.; STEVENS, C. V.; STEURBAUT, W.; HÖFTE, M; SMAGGHE, G. Fungicidal and insecticidal activity of O-acyl chitosan derivados. **Polymer Bulletin**, v. 54, p. 279-289, 2005.
- EL HADRAMI, A.; ADAM, L. R.; EL HADRAMI, I.; DAAYF, F. Chitosan in Plant Protection. **Marine Drugs**, v. 8, n. 4, p. 968-987, 2010.
- EL HADRAMI, A.; EL HADRAMI, I.; DAAYF, F. Suppression of induced plant defense responses by fungal pathogens. In: BOUARAB, K.; BRISSON, N.; DAAYF, F. (Ed.). **Molecular-Plant Microbe Interactions**. Wallingford, UK: CABI, 2009. Chapter 10, p. 231-268.
- GREWAL, A.; ABBEY, L.; GUNUPURU, L. R. Production, prospects and potential application of pyrolygneous acid in agriculture. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 135, p. 152-159, 2018.
- HAMDINE, M.; CLAUDE HEUZEY, M.; BÉGIN, A. Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels. **Internation Journal of Biological Macromolecules**, v. 37, n. 3, p. 134-144, 2005.
- HAMEL, L-P.; BEAUDOIN, N. Chitooligosaccharide sensing and downstream signaling: contrasted results in pathogenic and beneficial plant-microbe interactions. **Planta**, v. 232, p. 787-806, Sept. 2010.
- HIRANO, S.; NAKAHIRA, T.; NAKAGAWA, M.; KIM, S. K. The preparation and applications of functional fibres from crab shell chitin. **Journal Biotechnology**, v. 70, p. 373-377, 1999.
- IRITI, M.; VARONI, E. M. Chitosan-induced antiviral activity and innate immunity in plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 2935-2944, 2015.

KOIDE, S. S. Chitin-chitosan: Properties, benefits and risks. **Nutrition Research**, v. 18, n. 6, p. 1091-1101, 1998.

KUCHITSU, K.; YAZAKI, Y.; SAKANO, K.; SHIBUYA, N. Transient cytoplasmic pH change and ion fluxes through the plasma membrane in suspension cultured rice cells triggered by N-acetylchitooligosaccharide elicitor. **Plant Cell Physiology**, v. 38, p. 1012–1018, 1997.

LI, J.; ZHUANG, S. Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. **European Polymer Journal**, v. 138, 2020.

MAHMUD, K. N.; YAHAYU, M.; SARIP, S. H.MD.; NURUL, H. R.; MIN, B.; MUSTAFA, N. F.; NGADIRAN, S.; UJANG, S.; ZAKARIA, Z. A. Evaluation on Efficiency of Pyroligneous Acid from Palm Kernel Shell as Antifungal and Solid Pineapple Biomass as Antibacterial and Plant Growth Promoter. **Sains Malaysiana**, v. 45, n. 10, p. 1423-1434, 2016.

MALERBA, M.; CERANA, R. Chitosan Effects on Plant Systems. **International Journal of Molecular Science**, v. 17, n. 7, 2016.

NO, H. K.; PARK, N.; LEE, S.; PMEYERS, S. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, v. 74, n. 1-2, p. 65-72, 2002.

TIILIKKALA, K.; FAGERNÄS, L.; TIILIKKALA, J. History and Use of Wood Pyrolysis Liquids as Biocide and Plant Protection Product. **The Open Agriculture Journal**, v. 4, p. 111-118, 2010.

Embrapa Clima Temperado

BR 392, Km 78, Caixa Postal 403
Pelotas, RS - CEP 96010-971
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco

1ª edição

Obra digitalizada (2020)



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações

Presidente

Luis Antônio Suita de Castro

Vice-Presidente

Walkyria Bueno Scivittaro

Secretária-Executiva

Bárbara Chevallier Cosenza

Membros

Ana Luiza Barragana Viegas, Fernando

Jackson, Marilaine Schaun Pelufê,

Sonia Desimon

Revisão de texto

Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica

Marilaine Schaun Pelufê

Editoração eletrônica

Fernando Jackson

Foto da capa

Fabiane Grecco da Silva Porto