

Influência da fertilização azotada na susceptibilidade de pessegueiro a *Phomopsis amygdali* – ensaio em vasos

Maria Paula Simões¹, Maria Fátima Calouro², João Pedro Luz¹, António St Aubyn³ e António Mexia³

¹ Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco

e-mail: mpaulasimoes@esa.ipcb.pt

² Instituto Nacional de Recursos Biológicos, Lisboa;

³ Instituto Superior de Agronomia, Lisboa

Resumo

A utilização de doses elevadas de fertilização azotada é frequente em agricultura, devido ao grande efeito que exerce sobre a vegetação das culturas, não sendo, no entanto, tão conhecido o seu efeito na susceptibilidade a parasitas.

Para avaliação do efeito da fertilização azotada em pessegueiro na susceptibilidade que esta cultura apresenta a *Phomopsis amygdali* foi estabelecido um ensaio, que decorreu de Abril de 2003 a Abril de 2007, com pessegueiros da cultivar Springcrest, instalados em vasos e sujeitos a quatro níveis de fertilização azotada – N0 (sem fertilização azotada), N1 (fertilização deficiente), N2 (fertilização considerada adequada ou suficiente) e N3 (fertilização excessiva). No final de cada ciclo vegetativo, procedeu-se à inoculação das plantas com uma cultura de *P. amygdali*, sendo a avaliação da susceptibilidade quantificada através da medição do comprimento de cada cancro desenvolvido nos locais da infecção.

A susceptibilidade a *P. amygdali* de pessegueiros da cv. Springcrest foi condicionada não só pela fertilização como pelas condições climáticas, nomeadamente a precipitação. A Análise de Correspondências Múltiplas permitiu associar os cancos de grandes dimensões a condições de precipitação mais elevada e doses excessivas de azoto, enquanto os cancos de menores dimensões estiveram associados a condições de precipitação mais baixa não sendo tão marcado o efeito da fertilização azotada.

Palavras-chave: pessegueiro, *Phomopsis amygdali*, nutrição, fertilização azotada, produção integrada.

Abstract

The use of high rates of nitrogen fertilisation is common in fruit farming, due to the strong effect on crop vegetation, even though its effects on plants susceptibility to parasites are not well known.

To evaluate the effect of nitrogen fertilisation on peach trees susceptibility to *Phomopsis amygdali*, a fertilisation trial was conducted on potted peach trees cv. Springcrest, from April 2003 to April 2007. Four levels of nitrogen fertilisation were applied: N0 – without nitrogen, N1 – deficient level, N2 – level considered sufficient, and N3 – excessive level. At the end of each growing cycle plants were inoculated with a *P. amygdali* culture and susceptibility evaluation was measured by the length of the induced cankers.

Peach trees cv. Springcrest susceptibility to *P. amygdali* was influenced not only by fertilisation, but also by weather conditions, namely rainfall. Multiple Correspondences Analyses associated larger cankers with higher levels of rainfall and higher levels of nitrogen, while smaller cankers were associated with lower levels of rainfall as well as a less evident effect on nitrogen fertilisation.

Keywords: peach tree, *Phomopsis amygdali*, nutrition, nitrogen fertilisation, integrated production.

1. Introdução

A fertilização azotada tem uma forte influência sobre o crescimento das plantas mas o seu efeito sobre a maior ou menor susceptibilidade a pragas e doenças é variável. Em pessegueiro, doses crescentes de azoto podem provocar uma diminuição da susceptibilidade a *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Cao et al., 2005), assim como à ferrugem *Tranzschelia discolor* (Fckl.) Tranz.& Litv. (Tratch et al., 2007) ou a maior susceptibilidade a *Monilinia fructicola* e *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) (Daane et al., 1995).

A variável disponibilidade de azoto por parte do solo, e a capacidade das plantas perenes na sua remobilização, tornam bastante difícil a obtenção de plantas com diferentes teores de azoto em ensaios de campo, sendo os ensaios em vasos adoptados por diversos autores para maior controlo dos factores edáficos (Grasmanis e Edwards, 1974; Cao et al., 2006).

O presente trabalho teve como objectivo avaliar a influência da fertilização azotada na susceptibilidade de pessegueiros, cultivados em vasos, ao cancro causado por *Phomopsis amygdali*.

2. Material e métodos

Para a concretização deste estudo foram estabelecidos dois ensaios, que decorreram, no seu conjunto, de Abril de 2003 a Abril de 2007. Nos ensaios, foram utilizados pessegueiros instalados em vasos com uma capacidade de 30 L, e cheios com terra fina oriunda da parcela onde está instalado o pomar de pessegueiros da Escola Superior Agrária de Castelo Branco (ESACB), de modo a representar um solo local, com características favoráveis à cultura de pessegueiros. Os dois ensaios constituíram-se como repetições (fig. 1).

A terra funcionou apenas como suporte físico, tendo-se considerado irrelevante o fornecimento de nutrientes pelo solo, ao longo do ciclo vegetativo. Antes da instalação das plantas foi avaliado o pH, de modo a permitir a correcção deste parâmetro.

A cultivar utilizada foi a Springcrest que é simultaneamente uma cultivar temporã e medianamente susceptível ao cancro causado por *P. amygdali* (Jailloux & Froidefond, 1978).

Em ambos os ensaios os vasos foram colocados dentro de uma gaiola completamente vedada com rede. Cada ensaio foi constituído por 48 plantas, 4 modalidades de fertilização azotada diferencial, 4 blocos, 3 plantas por modalidade e bloco, num total de 12 plantas por modalidade. As modalidades de fertilização foram realizadas de acordo com o descrito por Simões (2008), discriminando N0 (sem fertilização azotada), N1 (fertilização deficiente), N2 (fertilização considerada adequada ou suficiente) e N3 (fertilização excessiva).

No final de cada ciclo vegetativo, em Novembro, as plantas foram inoculadas com o fungo *Phomopsis amygdali*, cultivado em PDA com sete dias de idade. Foram realizadas 16 inoculações por modalidade, sendo inoculadas 4 plantas de cada modalidade, com 4 inoculações por planta, num total de 16 inoculações por modalidade. A avaliação da susceptibilidade a *P. amygdali* foi realizada através do comprimento de cada cancro.

Para avaliar o estado de nutrição das plantas foram efectuadas colheitas de folhas, seguidas das respectivas análises foliares realizadas no LQARS, segundo a metodologia em uso nesse laboratório (Duarte et al., 1998).

Para resumir a informação referente ao estado de nutrição, caracterizado pelos teores de N, P, K, Ca, Mg; S, Fe, Cu, Zn, Mn e B, utilizou-se a Análise de Componentes

Principais (ACP), através do programa R, *package* FactoMineR, retendo as primeiras quatro componentes principais que explicam 82,3% da variância. Posteriormente, a variável cancro foi introduzida na ACP como variável suplementar.

Uma vez que este estudo decorreu apenas durante quatro ciclos, para considerar a influência das condições climáticas na susceptibilidade ao cancro, foi utilizada a Análise de Correspondências Múltiplas (ACM) procedendo-se à transformação das variáveis quantitativas em variáveis qualitativas (factores) através da definição de níveis para cada variável. Nas variáveis climáticas considerou-se a temperatura média e a precipitação total registadas no período desde a inoculação até à última avaliação dos cancros, que corresponde sensivelmente ao período de Novembro a Março (TNM e PNM). Os códigos e limites utilizados na transformação das variáveis são referidos por Simões (2008). Na factorização da variável azoto, o nível N3 (2,0% a 3,5%) corresponde sensivelmente à reunião dos intervalos de valores considerados como suficientes por Jones et al. (1991) e LQARS (2006).

3. Resultados e discussão

Como resultado da inoculação das plantas com o fungo *P. amygdali* verificou-se o desenvolvimento de cancros, observando-se diferenças significativas entre os cancros das diferentes modalidades, nos ciclos 2003 e 2006 (quadro 1).

Os resultados alcançados permitem verificar que há uma grande variação da dimensão dos cancros entre os ciclos. Os cancros de menores dimensões observaram-se no ciclo 2005, com um comprimento médio de 10 mm por cancro, e os cancros de maiores dimensões ocorreram em 2006, com um comprimento médio de 56 mm, cerca de cinco vezes superior ao observado em 2005.

No ciclo de 2006, ciclo onde ocorreu maior quantidade de precipitação observaram-se cancros com 120 mm de comprimento, que para a região são considerados cancros de grandes dimensões, mas ainda assim consideravelmente inferiores aos observados em amendoeira na região do Algarve por Cabrita et al. (2004), que refere cancros com 582 mm, para a cv. Ferragnès.

A ACP realizada com base no estado de nutrição, permitiu verificar que o cancro encontra a melhor representação na 1.^a e na 4.^a componente (fig. 2 e quadro 2), apresentando a coordenada e o \cos^2 mais elevados, na 4.^a componente, que contribui apenas para explicar cerca de 10% da variabilidade relativamente ao estado de nutrição. A 4.^a componente é essencialmente definida pelo magnésio, mas apesar das variáveis cancro e teor de magnésio estarem razoavelmente representadas na 4.^a componente, a correlação obtida entre o cancro e o teor de magnésio foi muito baixa (quadro 3), o que indica uma pequena influência deste elemento na susceptibilidade ao cancro.

Embora com coordenada e \cos^2 mais baixos, o cancro encontra-se positivamente associado à 1.^a componente, que é definida positivamente pelo azoto, enxofre, ferro e manganês e negativamente pelo boro, verificando-se uma correlação positiva superior a 0,5 entre o cancro e os elementos azoto, enxofre e ferro, sendo a correlação mais elevada com o enxofre. Esta correlação indica que plantas caracterizadas por estados de nutrição associados a teores elevados de azoto apresentam maior susceptibilidade ao cancro, embora outros factores possam estar a contribuir para a variabilidade da dimensão dos cancros.

A baixa representatividade do cancro nas componentes definidas pela ACP indicava que, para além da nutrição, outros factores estariam a contribuir para a variabilidade da dimensão dos cancros. Entre esses factores destacavam-se as condições

climáticas que, durante o período em que decorreu o ensaio, foram muito distintas em cada ciclo, ocorrendo condições de extrema seca e condições de elevada precipitação.

Uma vez que o estudo decorreu num período de quatro anos, portanto manifestamente insuficiente para a elaboração de uma regressão, estatisticamente robusta, entre a precipitação e a dimensão dos cancos, utilizou-se a Análise de Correspondências Múltiplas (ACM) para avaliar esta relação, tendo por base a discretização das variáveis. Adoptou-se, assim, uma metodologia semelhante à utilizada por Bertrand et al. (2007) para avaliar a relação entre a incidência das doenças do lenho em videiras e a mortalidade das plantas, considerando dependências multivariadas.

Como resultado da aplicação da ACM, considerando as variáveis azoto (N), cancro (Canc), e a temperatura média e a precipitação total, no período desde a inoculação até à última avaliação dos cancos, o que corresponde sensivelmente ao período Novembro a Março (TNM e PNM), verificou-se que os primeiros dois eixos factoriais explicam 65% da variância, pelo que a representação gráfica se restringiu ao primeiro plano factorial. Para facilidade de análise foram assinalados os trajectos definidos pelos níveis de cada variável (fig. 3).

A ACM procura a melhor representação simultânea de conjuntos de dados, identificando, através de uma análise de χ^2 , a proximidade da distribuição espacial de nuvens de pontos. A análise dos resultados baseia-se na representação gráfica relativamente aos eixos factoriais identificados, considerando o valor de \cos^2 como um parâmetro indicador da qualidade de representação e considerando simultaneamente as contribuições que traduzem a parte da variância correspondente a cada nível da variável (Lebart et al., 1997).

Da análise da figura 3 poderemos verificar que o trajecto da variável cancro vai do segundo quadrante para o primeiro, passando pelo quarto e terminando no terceiro quadrante. O trajecto da variável PNM (fig. 3-A) vai do primeiro quadrante para o segundo, terminando no terceiro quadrante, enquanto o trajecto da TNM (fig. 3-B) vai do primeiro quadrante para o terceiro, terminando no segundo quadrante onde se localiza o nível mais elevado desta variável. O trajecto da variável azoto (fig. 3-C) é muito próximo da variável cancro.

No 1.º eixo factorial (quadro 4), que explica 37,4% da variância, o nível mais elevado de cancro (Canc4) encontra-se fortemente associado a precipitação elevada (PNM3) e ao nível médio de temperatura (TNM2), apresentando os níveis Canc4, TNM2 e PNM3 não só as contribuições mais elevadas, como também os valores de \cos^2 mais elevados. No que respeita à variável azoto verifica-se que, embora com uma contribuição mais baixa em relação às variáveis climáticas, o nível mais elevado de azoto (N4) é o que apresenta o maior valor de \cos^2 , relativamente ao 1.º eixo factorial. Assim, podemos dizer que o nível mais elevado de cancro (Canc4) apresenta a maior associação com o nível mais elevado de azoto (N4).

No 2.º eixo factorial (quadro 4), que explica 27% da variância, o nível da variável que apresenta uma contribuição mais elevada é PNM1, estando associado aos níveis mais baixos da variável cancro (Canc1 e Canc2), sendo os três níveis das variáveis – PNM1, Canc1 e Canc2 – os que apresentam os valores de \cos^2 mais elevados. Assim, podemos concluir que os cancos de menores dimensões (englobados nos níveis Canc1 e Canc2) estão associados ao nível mais baixo de precipitação e definidos essencialmente pelo 2.º eixo factorial, e, em termos de projecção factorial, localizados no segundo quadrante. O nível de azoto que apresenta a contribuição mais elevada para o 2.º eixo factorial é N3, que se refere a teores de azoto foliar dentro do intervalo de referência 2,00%–3,50%, indicando que os níveis

mais baixos de cancro estão também associados a teores de azoto considerados suficientes.

A ACM permite inferir que a susceptibilidade a *P. amygdali* está fortemente associada pela precipitação, sendo esta variável a que apresenta a contribuição mais elevada. Nível baixo de precipitação (PNM1) está associado a baixos níveis de cancro (Canc1 e Canc2) e nível elevado de precipitação (PNM3) associado a nível elevado de cancro (Canc4).

Considerando que o nível N4 da variável azoto apresenta um valor de \cos^2 mais elevado relativamente ao 1.º eixo factorial, podemos inferir que teores excessivos de azoto acentuam a susceptibilidade ao cancro.

A variável temperatura apresenta apenas contribuição e \cos^2 elevado no nível TNM2, relativamente ao 1.º eixo factorial, apresentando um valor de contribuição e de \cos^2 baixo no 2.º eixo factorial, o que indicia ser uma variável com pouca influência em situações de menor susceptibilidade, o que está de acordo com o referido por Lalancette & Robison (2001), que indicam a temperatura como um factor favorável ao desenvolvimento dos cancros após a infecção favorecida por condições de elevada humidade.

4. Conclusões

Os resultados obtidos permitem pôr em evidência uma influência do azoto na susceptibilidade ao cancro de pessegueiros da cv. Springcrest, sendo essa influência mais acentuada em situações de precipitação elevada. Condições meteorológicas de elevada precipitação associadas a elevados teores de azoto foliar tornam as plantas mais susceptíveis à doença. Quando ocorrem condições de baixa precipitação, a influência do teor de azoto na susceptibilidade ao cancro não é tão acentuada.

Referências bibliográficas

- Bertrand, F., Maumy, M., Fussler, L., Kobes, N., Savary, S. & Grossman, J. 2007. Using factor analyses to explore data generated by national grapevine wood diseases survey. CS-BIGS, 1:183-202. www.bentley.edu/csbig/vol1-2/bertrand.pdf
- Cabrita, L., Neves, A. & Leitão, J. 2004. Evaluation of resistance to *Phomopsis amygdali* in almond. Acta Hort., 663: 235-238.
- Cao, T., Duncan, R.A., McKenry, M.V., Shackel, K.A., DeJong, T.M. & Kirkpatrick, B.C. 2005. Interaction between nitrogen-fertilized peach trees and expression of *syrB*, a gene involved in syringomycin production in *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Phytopathology, 95: 581-586.
- Cao, T., McKenry, M.V., Duncan, R.A., DeJong, T.M., Kirkpatrick, B.C. & Shackel, K.A. 2006. Influence of ring nematode infestation and calcium, nitrogen, and indoleacetic acid applications on peach susceptibility to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Phytopathology, 96: 608-615.
- Daane, K.M., Johnson, R.S., Michailides, T.J., Crisosto, C.H., Dlott, J.W., Ramirez, H.T., Yokota, G.Y. & Morgan, D.P. 1995. Excess nitrogen raises nectarine susceptibility to disease and insects. California Agriculture, 49: 8-13.
- Duarte, L., Pacheco, C. & Soveral-Dias, J.C. 1998. Métodos de análise de material vegetal. Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva, INIA, Lisboa.
- Grasmanis, V.O. & Edwards, G.R. 1974. Promotion of flower initiation in apple trees by short exposure to the ammonium ion. Aust. J. Plant Phys., 1: 99-105.
- Jailloux, F. & Froidefond, G. 1978. Comportement variétal du pêcher à l'égard du *Fusicoccum amygdali*. Arb. fruitière, 292: 39-41.

- Jones, J.B.Jr, Wolf, B. & Mills, H.A. 1991. Plant analysis handbook. Micro-Macro Publishing, Inc., Georgia, 213 pp.
- Lalancette, N. & Robison, D.M. 2001. Seasonal availability of inoculum for constriction canker of peaches in New Jersey. *Phytopathology*, 91: 1109-1115.
- Lebart, L., Morineau, A. & Piron, M. 1997. Statistique exploratoire multidimensionnelle. Dunod 2^a éd., 439 pp.
- LQARS – Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva, 2006. Manual de fertilização das culturas. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Lisboa, 282 pp.
- Simões, M.P.A.F. 2008. A fertilização azotada em pessegueiros: influência no estado de nutrição, produção e susceptibilidade a *Phomopsis amygdali*. Tese de Doutoramento (documento provisório). Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 272 pp.
- Tratch, R., May de Mio, L.L., Serrat, B.M. & Motta, A.C.V. 2007. Nitrogen and potassium affecting peach rust intensity. VIII International Symposium of Temperate Zone Fruits in the Tropics and Subtropics (abstract): 82.

Agradecimentos: À Direcção-Geral de Protecção das Culturas o fornecimento do inóculo inicial de *Phomopsis amygdali*.

Quadros e Figuras

Quadro 1 - Comprimento médio do cancro (mm) nos ciclos 2003 a 2006, no ensaio em vasos.

	2003	2004	2005	2006
N0	48,9 a	19,8	7,1	44,3 b
N1	12,7 c	10,5	8,0	63,8 a
N2	17,3 bc	21,4	9,2	58,3 ab
N3	31,3 b	26,6	14,6	+
Média	27,6	20,8	9,7	55,5

Nota: letras diferentes, em cada coluna, indicam diferenças significativas, para $\alpha < 0,05$, segundo teste de Tukey; + plantas mortas por forte ataque de escolitídeos.

Quadro 2 - Coordenadas e \cos^2 do cancro (mm) nas quatro componentes principais extraídas da Análise de Componentes Principais.

	1. ^a comp.		2. ^a comp.		3. ^a comp.		4. ^a comp.	
	Coord.	Cos ²	Coord.	Cos ²	Coord.	Cos ²	Coord.	Cos ²
Cancro	0,48	0,23	0,36	0,13	-0,06	0,00	0,53	0,28

Quadro 3 - Correlações entre cancro e nutrientes, extraídas da Análise de Componentes Principais.

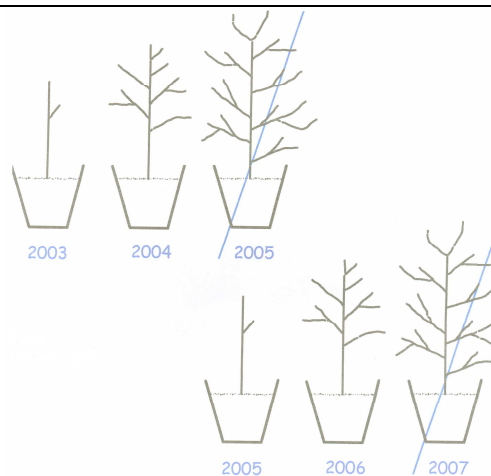
	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Zn	Cu	B
Cancro	0,51	0,18	0,20	-0,03	0,04	0,61	0,52	0,45	0,46	0,39	-0,13

Quadro 4 - Disposição no primeiro e segundo eixo factorial dos níveis de cancro, azoto, TNM e PNM.

Nível da variável	1.º eixo factorial			2.º eixo factorial		
	Coordenada	Contribuição	Cos ²	Coordenada	Contribuição	Cos ²
Canc1	0,93	3,47	0,23	-0,96	5,09	0,25
Canc2	0,57	2,13	0,17	0,65	3,85	0,23
Canc3	-0,20	0,16	0,01	0,40	0,89	0,04
Canc4	-1,52	10,15	0,69	-0,47	1,31	0,07
TNM1	0,61	4,32	0,59	0,30	1,48	0,15
TNM2	-1,44	12,13	0,92	-0,39	1,20	0,07
TNM3	0,90	1,18	0,07	-0,88	1,57	0,06
PNM1	0,29	0,48	0,04	1,45	16,96	0,94
PNM2	0,92	6,23	0,53	-0,85	7,31	0,45
PNM3	-1,44	12,13	0,92	-0,37	1,20	0,07
N1	0,99	2,52	0,15	-0,97	3,34	0,15
N2	0,85	3,21	0,22	-0,46	1,29	0,06
N3	-0,30	0,67	0,06	0,59	3,54	0,22
N4	-0,86	3,52	0,25	0,04	0,01	0,00

Repetição 1

Ensaio instalado na Escola Superior Agrária de Castelo Branco, que se iniciou em Abril de 2003 e terminou em Abril de 2005.



Repetição 2

Ensaio instalado na exploração agrícola Quinta Nova, freguesia do Ferro, concelho da Covilhã, que se iniciou em Fevereiro de 2005 e terminou em Abril de 2007 (após observação no período de floração).

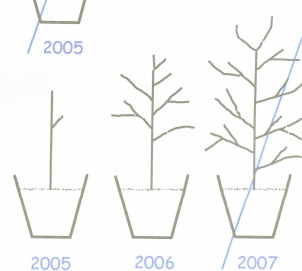


Figura 1 - Esquema do ensaio em vasos.

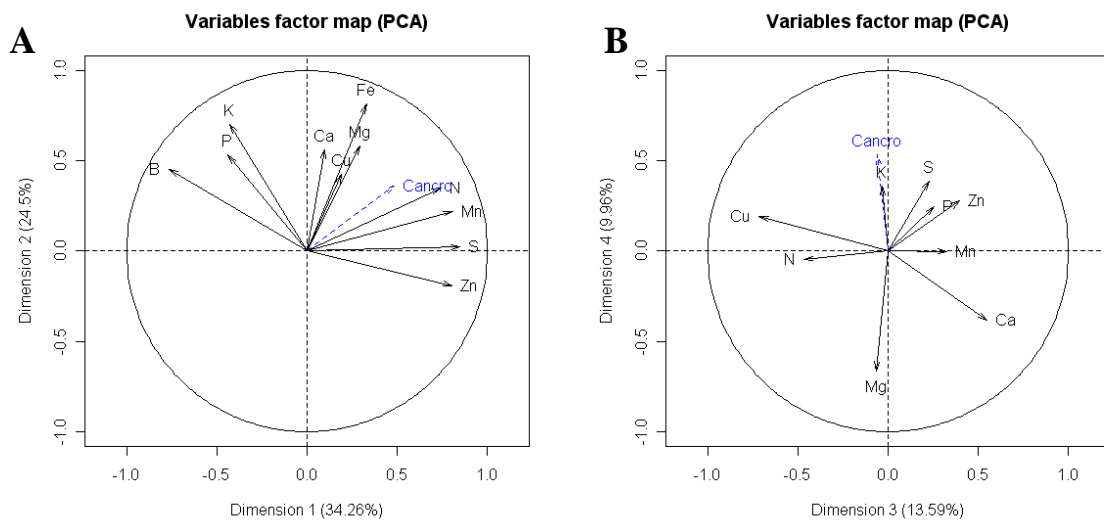


Figura 2 - Representação gráfica das quatro componentes, da Análise de Componentes Principais, referentes ao estado de nutrição e da susceptibilidade ao cancro (considerada como variável suplementar).

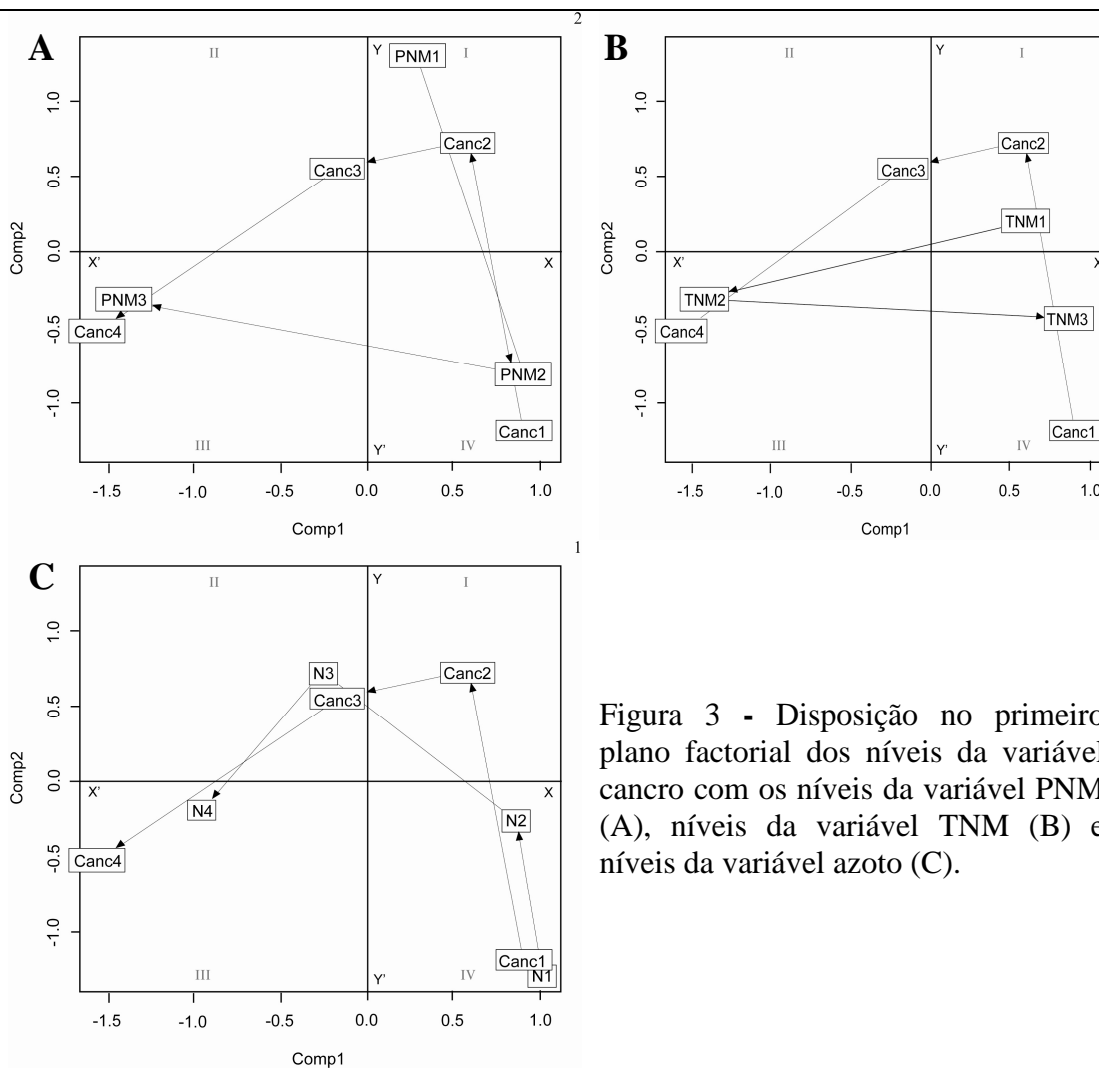


Figura 3 - Disposição no primeiro plano factorial dos níveis da variável cancro com os níveis da variável PNM (A), níveis da variável TNM (B) e níveis da variável azoto (C).