

ABSTRACT

Descrevem-se as características do fungicida ARAW, composto por três terpenos: eugenol, geraniol e timol, formulado com uma tecnologia inovadora patenteada (Sustaine®).

O Eugenol, o timol e o geraniol pertencem à família dos terpenos com atividade fungicida. Muitos deles são produzidos pelas plantas, sendo os principais constituintes dos óleos essenciais, possuindo propriedades extraordinárias. As propriedades antimicrobianas dos diferentes terpenos estão bem estabelecidas e o seu perfil toxicológico está amplamente documentado, o que faz com que o ARAW forneça ao agricultor/vitivinicultor uma ferramenta viável e eficaz contra a podridão cinzenta, à altura dos vários fungicidas antibotríticos existentes no mercado.

O ARAW é formulado com uma tecnologia inovadora que promove a atividade do eugenol, timol e geraniol sobre doenças, superando as suas limitações naturais. O grupo químico ao qual pertence apresenta baixo risco de resistência. Esta tecnologia consiste num "sistema de gestão" das substâncias ativas desenvolvido para reter os terpenos, evitando a sua rápida libertação e volatilização. Os terpenos são libertados gradualmente obtendo-se uma persistência muito maior.

Durante os anos de experimentação e desenvolvimento do ARAW, levados a cabo no sul da Europa, este demonstrou boa eficácia no controlo da podridão cinzenta tanto em uvas de mesa como em uvas para vinificação. Nos ensaios realizados também se demonstrou uma elevada seletividade para a cultura (ensaios em 18 variedades diferentes, sem problemas de fitotoxicidade). A aplicação da formulação nas condições autorizada não prejudica a maturação, a qualidade da colheita e não produz sabores ou odores indesejados no vinho ou nas uvas de mesa. Além disso, é preciso destacar a versatilidade do momento de aplicação do ARAW: pode ser aplicado quatro vezes por ciclo cultural e até bem próximo da colheita (intervalo de segurança de 3 dias).

O eugenol, o timol e o geraniol são substâncias incluídas no anexo IV do REG 396/2005 "Não requerem a fixação de LMR".

Introdução

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS. MODO DE AÇÃO E DESEMPENHO.

ARAW é um fungicida de contato, com atividade preventiva e curativa, formulado à base de eugenol, geraniol e timol (Figura 1), para o controlo de podridão cinzenta (*Botrytis cinerea*) em videiras de uvas para vinificação e uvas de mesa.

O eugenol, o geraniol e o timol (Tabela 1) têm atividade fungicida e um modo de ação semelhante ao dos álcoois benzílicos, fenol e polifenóis. Têm efeitos na germinação dos esporos, na penetração do fungo através dos haustórios, no crescimento do micélio e no crescimento das hifas. Os terpenos têm efeitos diferentes nas paredes e membranas celulares, bem como nas paredes das organelas celulares.

O primeiro modo de ação é a destruição das membranas celulares que, associada à capacidade desses compostos de dissolver lípidos, produz a libertação de substâncias celulares, causando a morte da célula devido à perda da integridade celular .

Os terpenos também causam alterações nas paredes das hifas e alguns efeitos na atividade enzimática (interferência com enzimas envolvidas nos processos respiratórios e responsáveis pela síntese das células da parede celular) (Figura 2).

Assim, a ação preventiva do ARAW baseia-se no bloqueio do desenvolvimento do micélio dos esporos, enquanto a sua ação curativa se baseia na destruição do micélio já desenvolvido.

A classificação das substâncias ativas que compõem o ARAW pelo Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) é a apresentada na tabela 2.

FORMULAÇÃO. TECNOLOGIA DE ENCAPSULAÇÃO

O ARAW é formulado com uma tecnologia de encapsulamento inovadora patenteada que promove a atividade fitossanitária dos terpenos para realizar aplicações de controlo de doenças e pragas, superando as suas limitações naturais.

Esta tecnologia de encapsulamento consiste num "sistema de disponibilização" das substâncias ativas que foi desenvolvido cientificamente para reter os terpenos, evitando a sua rápida libertação e volatilização. Através desta tecnologia, os terpenos são libertados gradualmente, obtendo-se uma persistência muito maior.

Processo de extração de conteúdo de microesferas celulares

A primeira fase para obtenção do ARAW, antes do encapsulamento dos terpenos que o compõem, é um processo enzimático pelo qual as células são esvaziadas do seu conteúdo, obtendo-se microesferas vazias, que contêm apenas estruturas naturais (que constituem a parede celular como vemos na Figura 3).

Processo de Encapsulamento - Formulação ARAW

A etapa seguinte é a formulação do próprio ARAW, por meio de um processo que consiste no carregamento dos terpenos na microesfera (Figura 4, o encapsulamento. Primeiramente, as microesferas são submetidas à dispersão em solução aquosa para que tenhamos uma solução homogénea. Em seguida, os terpenos são adicionados a esta solução, que é submetida a um processo de difusão passiva (favorecido apenas pelas condições do processo; temperatura, agitação e tempo). Desta forma obtemos microesferas carregadas com eugenol, timol e geraniol numa emulsão aquosa, que constitui o ARAW. Na formulação, as "microesferas carregadas com terpenos" na solução aquosa estão num equilíbrio energeticamente estável que mantém o terpeno dentro da microesfera. Apenas 5% dos terpenos livres na solução aquosa não são absorvidos, encapsulados, pelas microesferas após o processo de difusão passiva (Figura 5).

Ciclos de hidratação e Libertação de substâncias ativas

Quando a formulação é colocada na água do tanque e no momento da aplicação, esta sofre uma drástica mudança de equilíbrio devido à qual é ativada a libertação dos terpenos do qual é composto o ARAW (eugenol, timol e geraniol) através da parede da microesfera, em velocidade controlada (Gráfico 1). Após essa hidratação, à medida que as microesferas secam, elas formam um cristal e fecham os seus poros parando de libertar os restantes terpenos com os quais estão carregadas. Da mesma forma, quando ocorre outro ciclo de hidratação, a microesfera comporta-se como uma esponja, abrindo os seus poros, perdendo a rigidez e libertando adequadamente as substâncias lipofílicas do seu interior. Este ciclo é repetido com re-hidratações até que a microesfera liberte a sua carga total de eugenol, timol e geraniol. A parede das microesferas tem uma espessura lipídica que deve ser específica e concreta para que a libertação de terpenos seja adequada e controlada (nem muito rápida, nem muito lenta).

Com humidade no ambiente, é libertado um maior ou menor teor das cápsula, o que também está diretamente relacionado com as condições que favorecem o aparecimento de algumas doenças sobre as quais a ARAW atua.

EXPERIMENTAÇÃO E DESENVOLVIMENTO NO CAMPO

Um total de 26 ensaios de eficácia foram realizados entre 2004 e 2006 (3 campanhas) na Grécia, Itália, Espanha, Portugal e no sul da França em cerca de 18 variedades de uva diferentes (tanto uvas de mesa como videiras para vinificação). Os volumes de água utilizados nos ensaios variaram de 120 L/ha a 1000 L/ha e as aplicações foram feitas desde o início da floração (BBCH 60) até ao momento da colheita (BBCH 89).

Durante estes anos de experimentação e desenvolvimento, o ARAW demonstrou uma excelente atividade preventiva e curativa no controlo da podridão cinzenta em videiras (Gráficos 2, 3 e 4), juntamente com um excelente perfil de resíduos (as três substâncias ativas que o compõem estão incluídas no anexo IV do REG. 396/2005, que inclui substâncias ativas para as quais não é exigida a fixação de LMR) e sensorial.

ESTUDOS SOBRE A INFLUÊNCIA NA VINIFICAÇÃO.

Numerosas análises químicas e sensoriais ("degustação") efetuadas a vinhos elaborados com uvas tratadas com ARAW demonstraram que não existem diferenças entre os vinhos provenientes de uvas tratadas com padrão e os vinhos provenientes de uvas sem aplicação de controlo desta doença (Gráfico 5). Apresentamos os resultados do estudo realizado em 2015 pela Universidade de La Rioja: "Influência na vinificação de uvas brancas a partir de amostras de parcelas tratadas com ARAW e não tratadas, para determinar possíveis diferenças qualitativas". Neste estudo os parâmetros, à entrada das uvas na adegas experimental da Universidade, foram os normais nas vindimas de Viura na DO Rioja, as uvas tinham uma boa aparência e o teste da enzima lacase para detetar possível podridão foi negativo em ambos os casos.

A partir do momento em que as amostras atingiram a densidade de 999 g de açúcares/l, o teor de açúcares redutores Glucose/Frutose foi analisado para determinar se a fermentação estava completamente concluída (Tabela 3). Estes resultados indicam que a fermentação foi concluída em ambos os casos e todos os açúcares foram transformados em álcool. Na prova triangular realizada dois meses após o engarrafamento, a amostra de vinho finalizada por provador apresentou boas qualidades organolépticas sem diferenças significativas entre a amostra e o controlo ao nível dos aromas, sabor e cor.

USOS AUTORIZADOS DO ARAW

O ARAW está no mercado desde 2020 com aplicação autorizada no controlo de podridão cinzenta em uvas para vinho e uvas de mesa (Tabela 4), pelo que é um aliado consolidado dos viticultores. Os tratamentos devem ser posicionados à floração-alimpa (BBCH 60) e ao pintor. Em anos e ou condições muito favoráveis poderão efetuar-se aplicações fungicidas ao fecho dos cachos e até alguns dias antes da vindima (BBCH 89) (Figura 6). Durante a pulverização, deve-se assegurar uma boa cobertura dos cachos. O ARAW pode ser usado até 4 vezes durante o ciclo cultural a uma concentração de 400 mL/hL, aplicando no máximo 4 L/ha, com um intervalo de segurança de 7 dias em vinhas de uva de mesa e 3 dias em vinhas para vinificação.

O ARAW também pode ser usado para o controlo de podridão cinzenta, oídio, sclerotinia e ferrugem em hortícolas e algumas fruteiras, pois devido à sua ampla gama de aplicações obteve uma extensão de registos em 2021, com provas dadas no que toca à sua eficácia e compatibilidade com os sistemas de produção já implementados.

ARAW: A TENCOLOGIA NATURAL NO CONTROLO DA PODRIDÃO CINZENTA

MIGUEL COSTA, JOÃO BARRETO, SIPCAM PORTUGAL - AGROQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA, LDA, SIPCAMPORUGAL@SIPCAM.PT, 2023

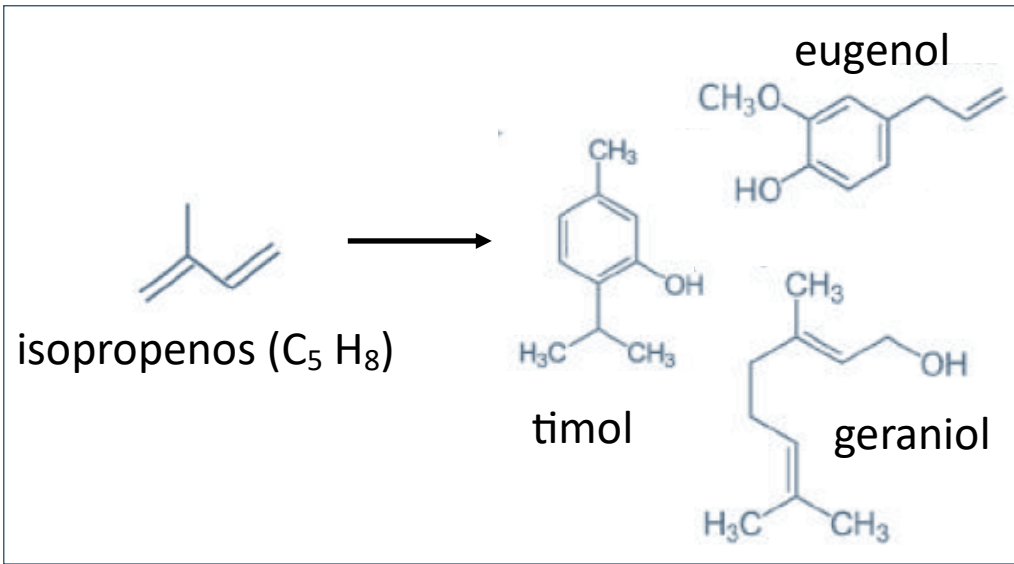


Figura 1. Estrutura químicas eugenol, geraniol e timol

Tabela 1. Características físico-químicas do ARAW*

Composição	eugenol 3,3% p/v + geraniol 6,6% p/v + timol 6,6% p/v
Formulação	Suspensão de cápsulas (SC)
Odor	Óleo de cravo
Aspecto físico	Cor castanho muito claro, líquido viscoso
Densidade	1033 kg/cm³ (20°C)
pH	5,7 (produto concentrado)
	Não explosivo, Não inflamável

Tabela 2. Classificação do modo de ação do eugenol, geraniol e timol

Composição	MoA	Nome do grupo	Grupo químico	Código FRAC
eugenol, geraniol, timol	BM: Biológicos com múltiplos modos de ação	Extratos de plantas	Hidrocarbonetos terpénicos, álcoois terpénicos e fenóis de terpeno	FRAC 46

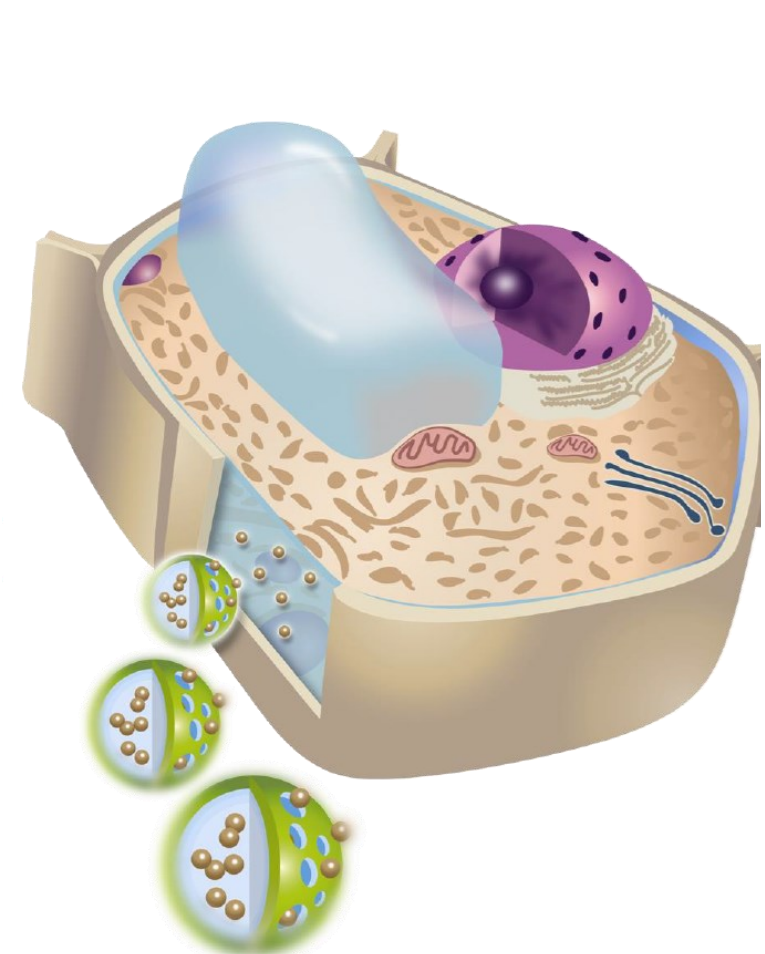


Figura 2. Mecanismo de ação - Locais de ação: Hifas, micélio, conídios, esporos

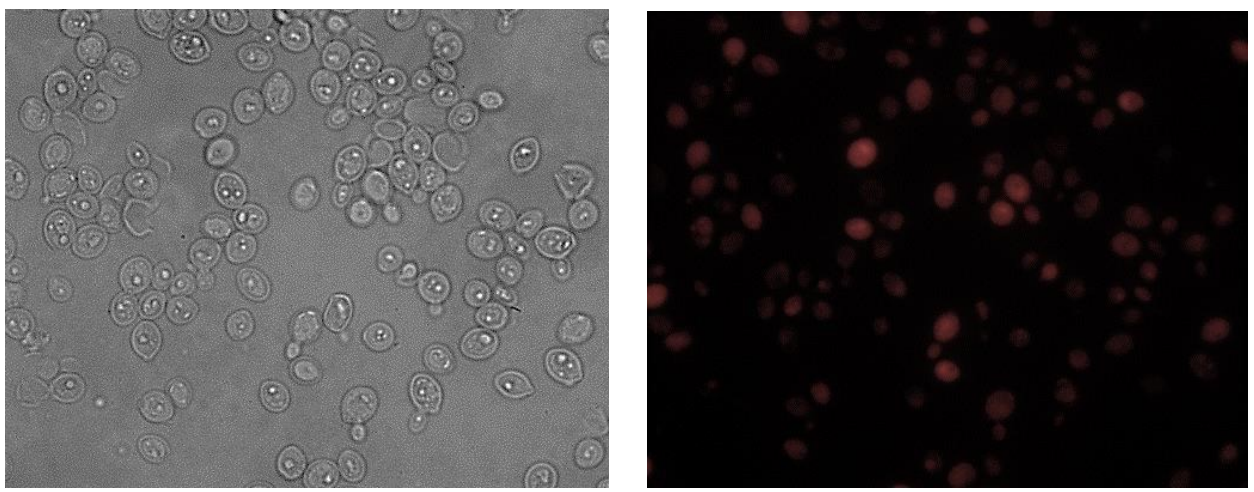


Figura 3. Microesferas vazias observadas com microscopia de contraste de fases.

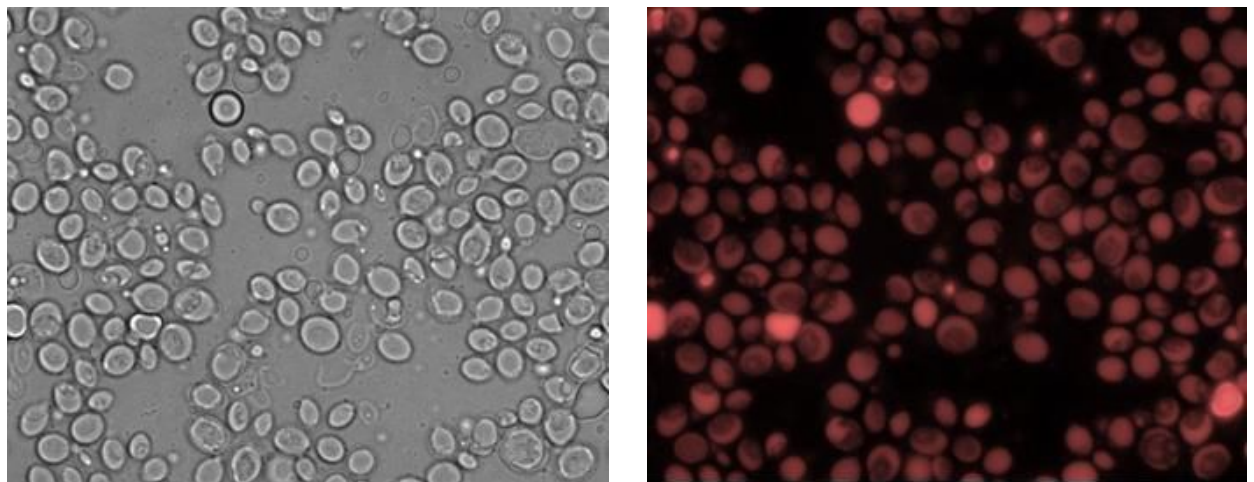


Figura 4. Microesferas carregadas com terpenos dentro da formulação ARAW, observado com Microscopia de Contraste de Fase.

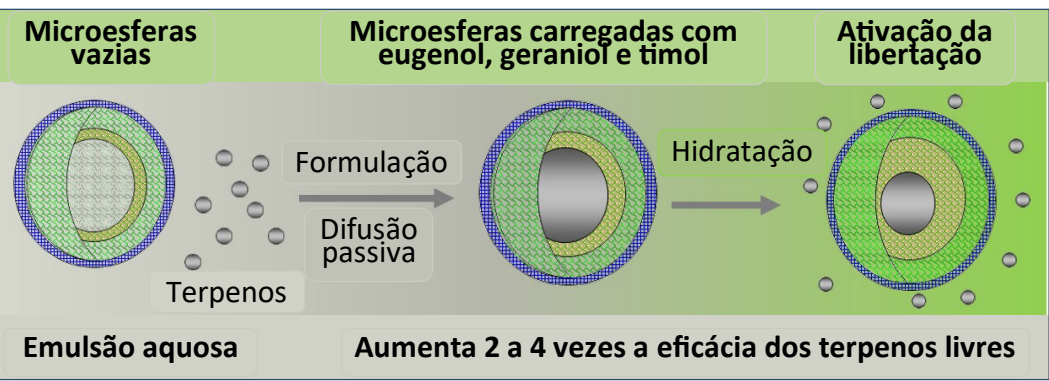


Figura 5. Formulação-encapsulamento do ARAW e libertação do eugenol, geraniol e timol após hidratação

Gráfico 1. ARAW, ciclos de hidratação e libertação. Ensaio de libertação de geraniol através de ciclos de hidratação em laboratório

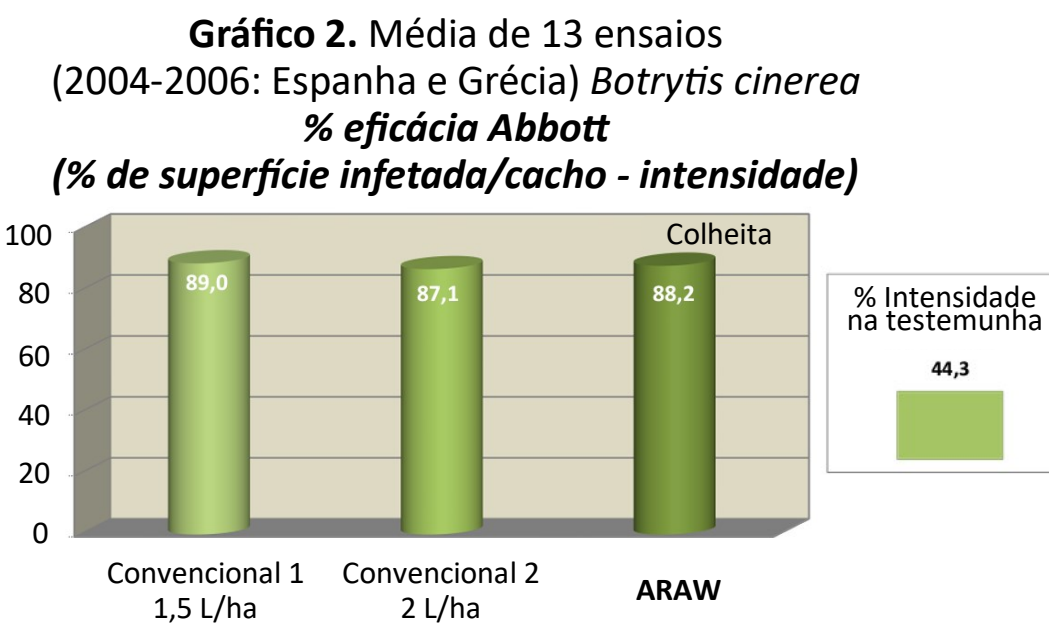
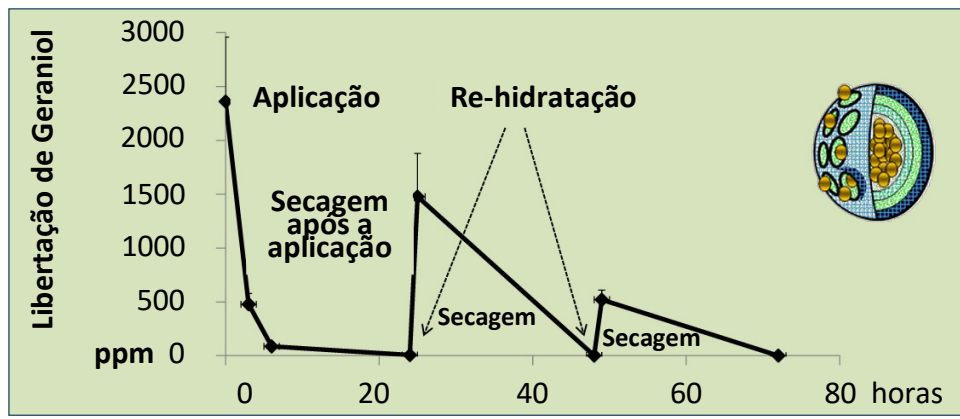


Gráfico 4. Média de 18 ensaios (2004-2006: Espanha, Portugal, Grécia, França) Botrytis cinerea Incidência e % controlo da doença

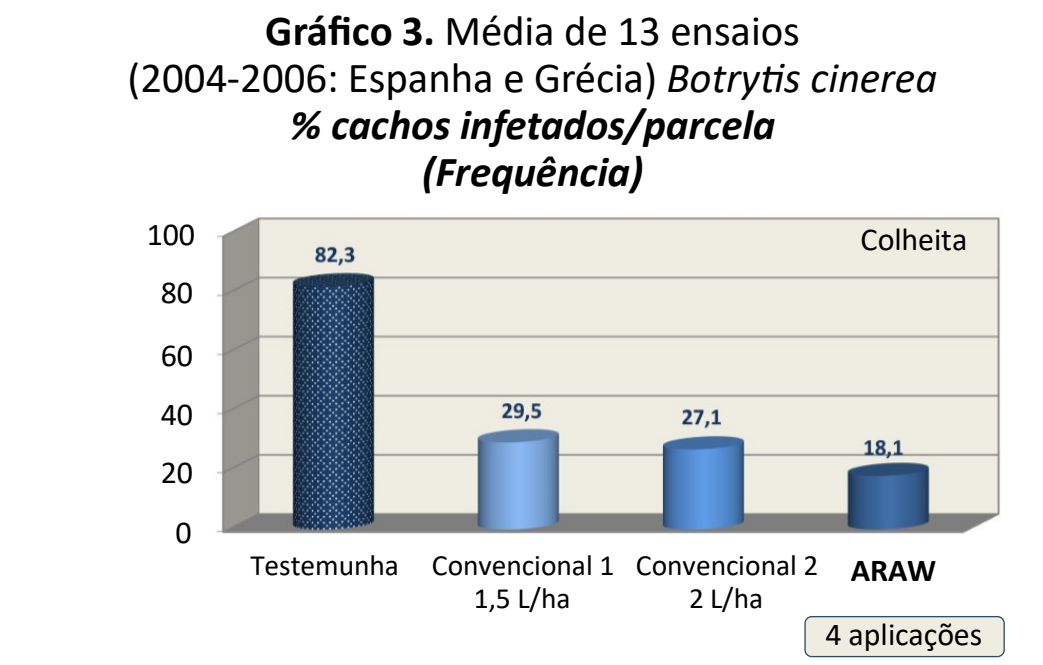
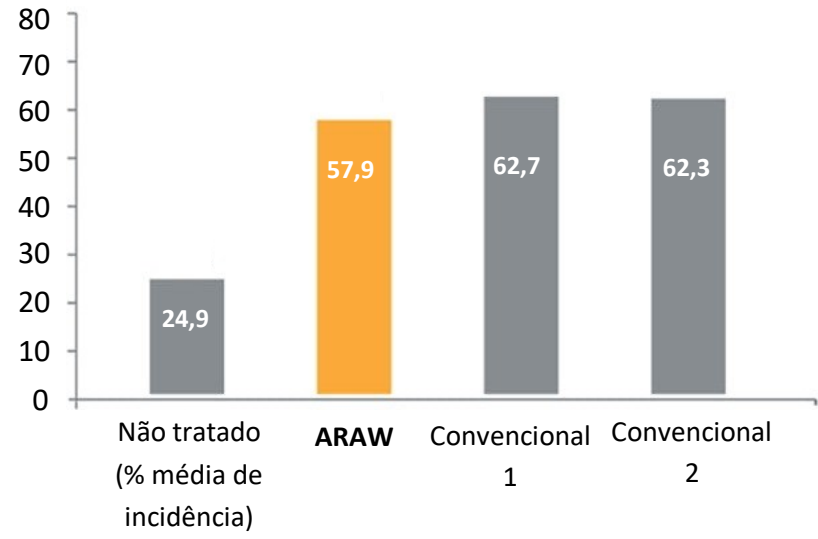


Gráfico 5. Cinética de fermentação do mosto de uvas var. Viura tratadas com ARAW (3 aplicações a 4 L/ha, a última 3 dias antes da vindima) vs. uvas não tratadas

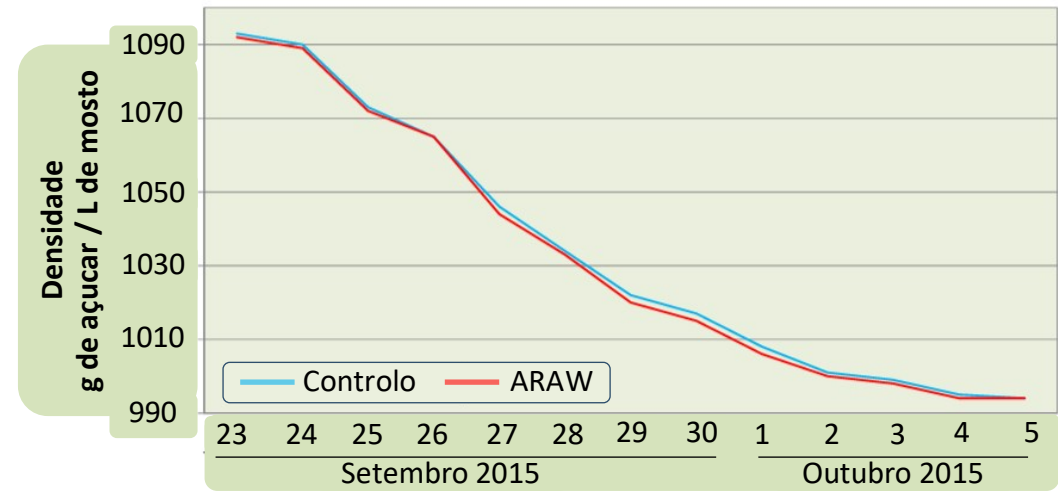


Tabela 3. Conteúdo em glucose e frutose do mosto de uvas var. Viura tratadas com ARAW (3 aplicações a 4 L/ha, a última 3 dias antes da vindima) vs. uvas não tratadas

Data	Densidade (g/L de mosto)		Glucose/Frutose (g/L de mosto)	
	Controlo	ARAW	Controlo	ARAW
03-10-2015	999	998	4,28	4,62
04-10-2015	995	994	0,09	0,11
05-10-2015	994	994	0,04	0,05

Tabela 4. Usos autorizados do ARAW (Viticultura)

Cultura	Doença	Dose máxima (Concentração)	Nº máximo de aplicações	Intervalo entre aplicações	Intervalo de segurança
Uvas para vinificação	Podridão cinzenta (<i>Botrytis cinerea</i>)	4 L/ha (0,4 L/hL)	4	7	3
Uvas de mesa				7	7

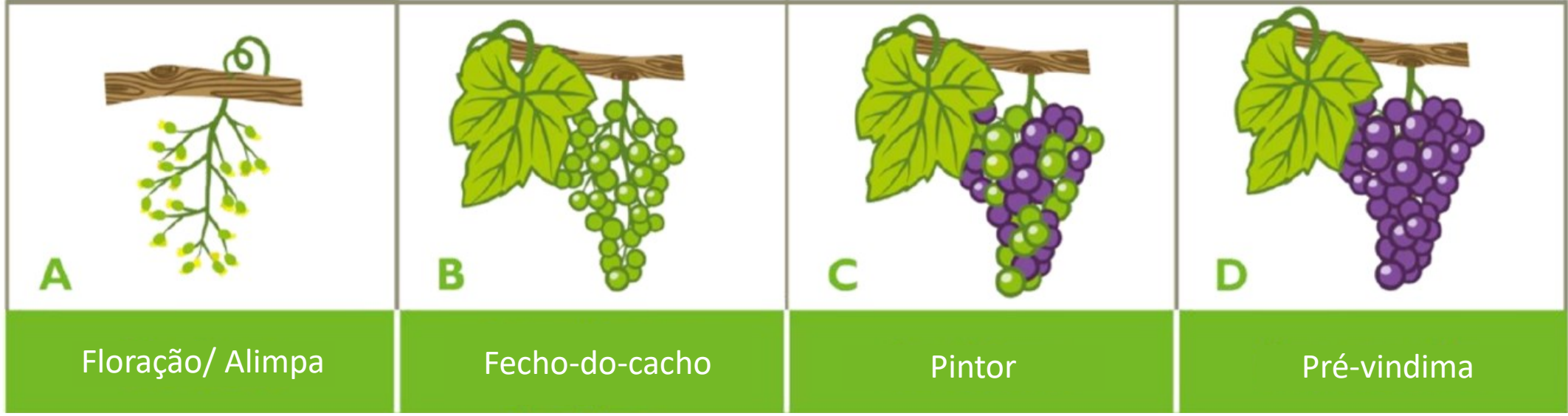


Figura 6. Posicionamento técnico ARAW



Conclusões

ARAW contém substâncias ativas orgânicas pertencentes à família dos terpenos: produtos fitossanitários naturais produzidos pelas plantas, às vezes em resposta a danos, stress ou infeção, para atrair ou repelir insetos ou animais. Algumas espécies vegetais produzem grandes quantidades de terpenos, que são os principais constituintes dos óleos essenciais (com excelentes propriedades) presentes nas folhas, flores e frutos, que lhes conferem aroma e odores característicos. Estão presentes, por exemplo, em essências de eucalipto, sabores de cravo e gengibre, citral, mentol, cânfora e canabinóides.

Os terpenos produzidos pelas plantas, que são os principais constituintes dos óleos essenciais com propriedades extraordinárias, têm diferentes funções:

- Para uso humano na medicina tradicional, fitoterapeutas, usos farmacêuticos, alimentos, cosméticos, etc.
- Na natureza; atração e defesa.

As propriedades antimicrobianas dos diferentes terpenos estão bem estabelecidas e o seu perfil toxicológico amplamente documentado, o que faz com que o ARAW forneça ao viticultor uma ferramenta alternativa viável e eficaz contra as doenças que controla, relativamente aos fungicidas antibotríticos existentes no mercado.

- Nova formulação baseada em novas substâncias ativas também existentes na natureza e para uso doméstico
- Grupo químico com baixo risco de resistência a um patógeno de alto risco.
- A sua utilização previne o aparecimento de resistências.
- Formulação patenteada inovadora que permite a libertação de substâncias ativas de forma controlada.
- Elevada proteção das culturas, persistência e versatilidade em termos de métodos de aplicação.
- Alta seletividade para a cultura (ensaios em 18 castas diferentes sem problemas de fitotoxicidade)
- Boa miscibilidade com os produtos utilizados no momento das aplicações contra a podridão cinzenta.
- Controlo inicial preventivo e curativo da podridão cinzenta
- Bom perfil toxi-ecotoxicológico.
- A aplicação da formulação nas condições de autorização não prejudica a maturação, a qualidade da colheita e não produz sabores ou odores indesejados no vinho ou nas uvas de mesa.
- Versatilidade do momento de aplicação: pode ser aplicado muito próximo da colheita (Intervalo de segurança de 3 dias)
- Todas as substâncias ativas que compõem o ARAW constam do anexo IV do REG 396/2005 "NÃO EXIGEM a fixação de LMR".

Referências bibliográficas

GARCÍA, M. Ruiz, et al. ARAW: Uva sin botritis y sin residuos. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, 2015, 274: 18.

LAZZARRO, S., et al. Control of grapevine grey mould (*Botrytis cinerea*) with eugenol, thymol and geraniol based fungicide. *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (SI), Italia, 6-9 marzo 2018, Volume secondo*, 2018, 395-402.

MACHADO, Thiago O., et al. Biopolymer-based nanocarriers for sustained release of agrochemicals: A review on materials and social science perspectives for a sustainable future of agri-and horticulture. *Advances in colloid and interface science*, 2022, 102645.

QUERZOLA, P., et al. 3Logy®, new terpene fungicide against grape grey mold (*Botrytis cinerea*). *Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano terme (Siena)*, 8-11 marzo 2016, Volume secondo, 2016, 141-146.

PALAVRAS-CHAVE: eugenol, geraniol, timol, terpenos, ARAW, *botrytis cinerea*, podridão cinzenta, substâncias isentas de LMR, tecnologia inovadora de formulação.

