

Article

CONFUSÃO SEXUAL CONTRA A TRAÇA-DA-UVA, *LOBESIA BOTRANA*, NA REGIÃO DEMARCADA DO DOURO USANDO DOIS MODELOS DE DIFUSORES DE FEROMONA: ISONET-LTT BIO® E ISONET-LTT®

MATING DISRUPTION AGAINST THE GRAPEVINE MOTH, *LOBESIA BOTRANA*, IN THE DOURO DEMARCATED REGION USING TWO TYPE OF PHEROMONE DISPENSERS: ISONET-LTT BIO® AND ISONET-LTT®

Maria Seixas^{1,*}, Cristina Carlos^{2,3}, Fátima Gonçalves^{3,4}, Ana Ferreira², Juliana Salvação⁵, José Carlos Oliveira⁶, Laura Torres³, Paula Seixas Oliveira^{1,3}

¹Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal.

²ADVID, Associação para o Desenvolvimento da Viticultura Duriense, Parque de Ciência e Tecnologia de Vila Real-Régia Douro Park, 5000-033 Vila Real, Portugal.

³Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas, CITAB, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal.

⁴Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253, Bragança, Portugal.

⁵Independent Forestry and GIS consultant, R. da Telheira, 4, 5000-471 - Vila Real, Portugal.

⁶Quinta de Dona Matilde - Vinhos, Lda, Rua Nova da Alfândega, 7 - sala 204, 4050-430 Porto, Portugal.

* Corresponding author: e-mail: mariaaseixas@hotmail.com

(Received 03.03.2022. Accepted 24.06.2022)

RESUMO

A confusão sexual é uma técnica inovadora de proteção biotécnica contra a traça-da-uva, *Lobesia botrana*, considerada praga-chave da vinha na Região Demarcada do Douro (RDD). O difusor ISONET-LTT®, desenvolvido pela Shin-Etsu Chemical Co, mostrou, em trabalhos recentes, ser eficaz na proteção da vinha contra *L. botrana*. Porém, a utilização repetida de difusores feitos à base de polietileno, gera um problema de natureza ambiental, pela acumulação de plástico na vinha. Recentemente, a mesma empresa desenvolveu um novo difusor feito com materiais biodegradáveis, o ISONET-LTT BIO®, semelhante aos tradicionais. No presente estudo, que decorreu durante 2020, pretendeu-se avaliar a eficácia destes dois modelos de difusores de feromona na proteção da vinha contra a traça-da-uva na RDD. Adicionalmente, foi também avaliado o efeito da altitude na evolução da quantidade de feromona libertada por cada modelo. De forma geral, os dois difusores permitiram uma redução da intensidade de ataque de *L. botrana*, nas três gerações, com exceção de algumas parcelas durante o terceiro voo e terceira geração. A evolução da quantidade de feromona libertada pelos difusores estudados prolongou-se até ao início de agosto. A avaliação da quantidade de feromona emitida, em miligramas por dia por hectare, permitiu identificar diferenças de perdas a cotas diferentes, com maior libertação nas cotas mais baixas. A aplicação do difusor biodegradável foi eficaz na proteção contra a traça-da-uva, podendo constituir uma alternativa viável para a redução de resíduos de plástico no ecossistema vitícola.

SUMMARY

Mating disruption is an innovative technique of biotechnical protection against the grapevine moth, *Lobesia botrana*, considered a key-pest of vineyards in the Douro Demarcated Region (DDR). The ISONET-LTT® dispenser, developed by Shin-Etsu Chemical Co, has shown, in recent works, to be effective in protecting the vine against *L. botrana*. However, the repeated use of polyethylene dispensers generates an environmental problem, through the accumulation of plastic in the vineyard. Recently, the same company developed a new biodegradable dispenser, the ISONET-LTT BIO®, similar to the traditional ones. In the present study, which was carried out during 2020, it was intended to evaluate the effectiveness of these two models of pheromone dispensers in protecting the vineyard against grapevine moth in the DDR. Additionally, it was also assessed the effect of altitude on the evolution of the amount of pheromone released by each model. In general, the two dispensers allowed a decrease in the attack intensity of *L. botrana*, in the three generations, with the exception of some plots during the third flight and third generation. The evolution of the amount of pheromone released by the studied dispensers lasted until the beginning of August. The evaluation of the amount of pheromone emitted, in milligrams per day per hectare, allowed the identification of differences in losses at different levels of altitude, with greater release at lower levels. The application of the biodegradable dispenser was effective in protecting vineyards against the grapevine moth, and may constitute a viable alternative for reducing plastic residues in vineyard ecosystem.

Palavras-chave: proteção biotécnica, biodegradável, condições climáticas.

Keywords: biotechnical control, biodegradable, climate conditions.

INTRODUÇÃO

A traça-da-uva, *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae), é considerada praga-chave da vinha na Região Demarcada do Douro (RDD), onde pode desenvolver três a quatro gerações anuais (Carlos *et al.*, 2018) e provocar prejuízos significativos, sobretudo por promover o desenvolvimento de podridão acética e podridão cinzenta com impacto negativo na qualidade dos vinhos produzidos (Aguiar *et al.*, 2003). A técnica da confusão sexual (CS) é um meio de proteção biotécnica utilizado contra esta espécie, baseando-se na perturbação do acasalamento dos adultos, através da difusão de um composto sintético semelhante à feromona sexual libertada pela fêmea com o objetivo de confundir os machos. Na prática, a CS evita o acasalamento ou atrasa-o, o tempo suficiente para que não tenha êxito e não seja produzida descendência viável, reduzindo os níveis populacionais e, conseqüentemente, a importância dos estragos provocados na vinha pela traça-da-uva (Stockel e Chichignoud, 1994; Torres-Vila *et al.*, 2002; Carlos, 2010). No entanto, o uso da CS nem sempre se tem mostrado eficaz na RDD, e vários fatores têm sido apontados como causa, de entre os quais se destacam: o clima (Ogawa, 1997; Vassiliou, 2009; Carlos, 2010; Carlos *et al.*, 2013; Altindisli *et al.*, 2016); a densidade da população de *L. botrana* (Neumann, 1995; Schmitz *et al.*, 1995; Frescata *et al.*, 1999; Louis e Schirra, 2001; Carlos, 2010; Ioriatti e Lucchi, 2016); a dimensão e a forma da parcela (Stockel e Chichignoud, 1994; Lucchi *et al.*, 2007; Carlos, 2010); a densidade da vegetação da copa (Schmitz *et al.*, 1997; Sauer e Karg, 1998; Ioriatti *et al.*, 2004; Ioriatti *et al.*, 2011); a migração de fêmeas de *L. botrana* oriundas de parcela não tratadas com CS (Neumann, 1995; Schmitz *et al.*, 1996; Carlos, 2010; Pinto *et al.*, 2020); a data de colocação dos difusores (Stockel e Chichignoud, 1994; Carlos, 2010); a feromona de síntese (Rauscher e Arn, 1979; Anfora *et al.*, 2005; Gordon *et al.*, 2005; Carlos, 2010; Harari *et al.*, 2015); o tempo de vida útil dos difusores, frequentemente inferior à duração do ciclo biológico da praga, o que faz com que na altura do terceiro voo, que dá origem à terceira geração, a mais nociva nas condições da RDD, já não exista feromona suficiente nos difusores (Carlos *et al.*, 2014). Outro fator que também condiciona a taxa de libertação de feromona dos difusores é a cota/altitude a que estes são instalados, sendo que em vinha de montanha, como é o caso da RDD, os difusores apresentam taxas de libertação de feromona mais baixas quando aplicados a cotas mais altas e mais elevadas quando aplicados a cotas mais baixas, por efeito do aumento da temperatura (Carlos *et al.*, 2014). O difusor ISONET-LTT®, desenvolvido pela Shin-Etsu Chemical Co, está atualmente homologado para uso em Portugal e mostrou, em

trabalhos recentes (Carlos *et al.*, 2014; Gonçalves *et al.*, 2016), ser eficaz na proteção da vinha contra *L. botrana*, sendo capaz de colmatar alguns dos condicionantes à aplicação da confusão sexual na RDD.

Apesar dos benefícios associados à aplicação da CS, como seja o inexistente impacto na saúde do consumidor e a ausência de efeitos nocivos em organismos não alvo (em particular polinizadores e artrópodes benéficos), a verdade é que se tem verificado uma crescente acumulação de resíduos no ambiente, devido à aplicação continuada de difusores constituídos por polietileno que, ao longo do tempo, acabam por cair e ser incorporados no solo. O custo associado à tarefa de retirar estes difusores da vinha torna esta tarefa muito dispendiosa e impraticável, face aos menores custos associados à aplicação de outros meios de proteção como, por exemplo, inseticidas químicos. Assim, a solução para este problema poderá residir na utilização de difusores biodegradáveis como o ISONET-LTT BIO® (Shin-Etsu Chemical Co., Japão) e/ou dispositivos de aerossol como o ISONET® L MisterX841 (Shin-Etsu Chemical Co., Japão), que apresentaram resultados satisfatórios em Espanha e Itália contra *L. botrana* (Lucchi *et al.*, 2018a,b; Cibriain *et al.*, 2020).

Os difusores ISONET-LTT BIO® ou BIOotwin® L (Autorização Provisória de Venda-APV nº 1609) são muito semelhantes aos ISONET-LTT® (APV 1563) (Figura 1), apenas diferindo no tipo de material que os constitui, tratando-se de polímeros biodegradáveis no caso do ISONET-LTT BIO® e polietileno (plástico), no caso do ISONET-LTT® (Lucchi *et al.*, 2018a). Ambos consistem num dispositivo do tipo “esparguete”, com dois tubos capilares paralelos de polietileno preenchidos com 380 mg de substância ativa (acetato de (E, Z) -7,9-dodecadien-1-ilo) correspondente à feromona sexual de *L. botrana*. Os tubos encontram-se unidos e selados nas extremidades, sendo que a abertura no meio permite que cada difusor forme um laço que pode ser fácil e rapidamente implantado sobre a extremidade dos talões ou enrolando-o em torno dos cordões (Lucchi *et al.*, 2018a). Ambos os difusores são do tipo “passivo”, e a libertação de feromona depende fortemente das condições climáticas (essencialmente temperatura e vento). A vantagem dos difusores ISONET-LTT BIO® reside no fato de serem feitos de materiais biodegradáveis e compostáveis, podendo ser deixados diretamente no solo, ou adicionados a pilhas de composto onde serão degradados por microrganismos aí presentes (Guerrini *et al.*, 2017). Trabalhos conduzidos por Cibriain *et al.* (2020), em Espanha, demonstraram que, num período de 16 meses, se observou uma taxa de degradação dos difusores ISONET-LTT BIO® que variou entre 20% (no caso de difusores não

enterrados) e 90% (no caso de difusores enterrados). Por outro lado, Ricciardi *et al.* (2019) conduziram um estudo semelhante em Itália no qual, após um

período de 17 meses, se contabilizou um nível de degradação dos difusores biodegradáveis de aproximadamente 65%, quando enterrados.

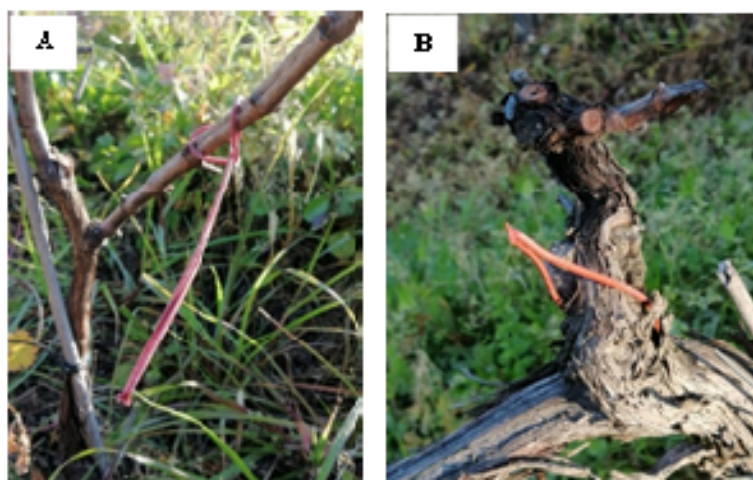


Figura 1. Difusores de feromona para confusão sexual contra a traça-da-uva, do tipo (A) ISONET-LTT BIO® e (B) ISONET-LTT® (Fotos: A. Ferreira/ADVID).

Os objetivos do presente do trabalho consistiram em: a) avaliar a eficácia de dois tipos de difusores de feromona na proteção da vinha contra a traça-da-uva, designadamente o ISONET-LTT®, constituído por polietileno, e o ISONET-LTT BIO®, constituído por materiais biodegradáveis; b) avaliar a capacidade difusora dos dois tipos de difusores ao longo do tempo e em função da altitude; c) avaliar se, nas condições da RDD, o uso de um difusor biodegradável pode ser uma alternativa viável e eficaz na diminuição da intensidade de ataque de *L. botrana* na vinha.

MATERIAL E MÉTODOS

Local

O presente trabalho decorreu em 2020 na Quinta Dona Matilde (freguesia de Canelas, concelho de Peso da Régua), exploração situada na sub-região do Baixo Corgo, na RDD. A quinta tem cerca de 93,27 há, sendo que a vinha ocupa aproximadamente 29,1 ha. As parcelas de vinha variam em área, forma, orientação e casta, situando-se em pequenos terraços ou em patamares com uma grande variedade de castas da RDD. Como esta exploração tem historial de ataque de traça-da-uva, a confusão sexual começou a ser aplicada em 2012 com recurso ao difusor ISONET – L®.

Tipo e número de difusores aplicados

Os difusores ISONET-LTT® e ISONET-LTT BIO® (CBC Iberia), ambos com 380 mg de acetato de (E, Z) -7,9-dodecadien-1-ilo), foram instalados entre 11 e 23 de março, imediatamente após a contabilização das primeiras capturas de adultos de traça-da-uva. O difusor ISONET-LTT® foi aplicado a uma

densidade média de $450 \pm 28,3$ difusores por hectare, tendo por base a informação histórica recolhida na região de vinha de encosta (Carlos *et al.*, 2014), numa área de 13,02 ha (Figura 2; destacado a vermelho). O difusor ISONET-LTT BIO® foi aplicado a uma densidade média de $285 \pm 27,6$ difusores por hectare, por recomendação da CBC Iberia, numa área de 9,54 ha (Figura 2; destacado a verde).

Dados climáticos

Os dados diários de temperatura mínima/máxima e a velocidade média do vento foram obtidos com recurso a uma estação meteorológica, propriedade da ADVID, instalada na Quinta D. Matilde (marca ADCON Telemetry, UTR A 753 série 5), com sensor temperatura e humidade TR1, Pluviómetro RG1-200, sensor radiação SP-lite e sensor vento ADCON Vento 1.

Avaliação da eficácia da confusão sexual

Como testemunha (parcelas onde não foram aplicados difusores) consideraram-se duas parcelas de vinha, uma localizada a Noroeste (Figura 2; armadilha 4 – T4), próxima das parcelas tratadas com ISONET-LTT®, e outra localizada a Nordeste (Figura 2; armadilha 18 – T18), próxima das parcelas tratadas com ISONET-LTT BIO® (Figura 2 e Quadro I). No total, consideraram-se nove pontos de amostragem que incluíram zonas no interior da área em CS e zonas de bordadura CS distribuídas da seguinte forma: seis na área onde foram aplicados os difusores ISONET-LTT®, três na área onde foram aplicados os difusores ISONET-LTT BIO® e um em cada uma das testemunhas (Figura 2 e Quadro I).

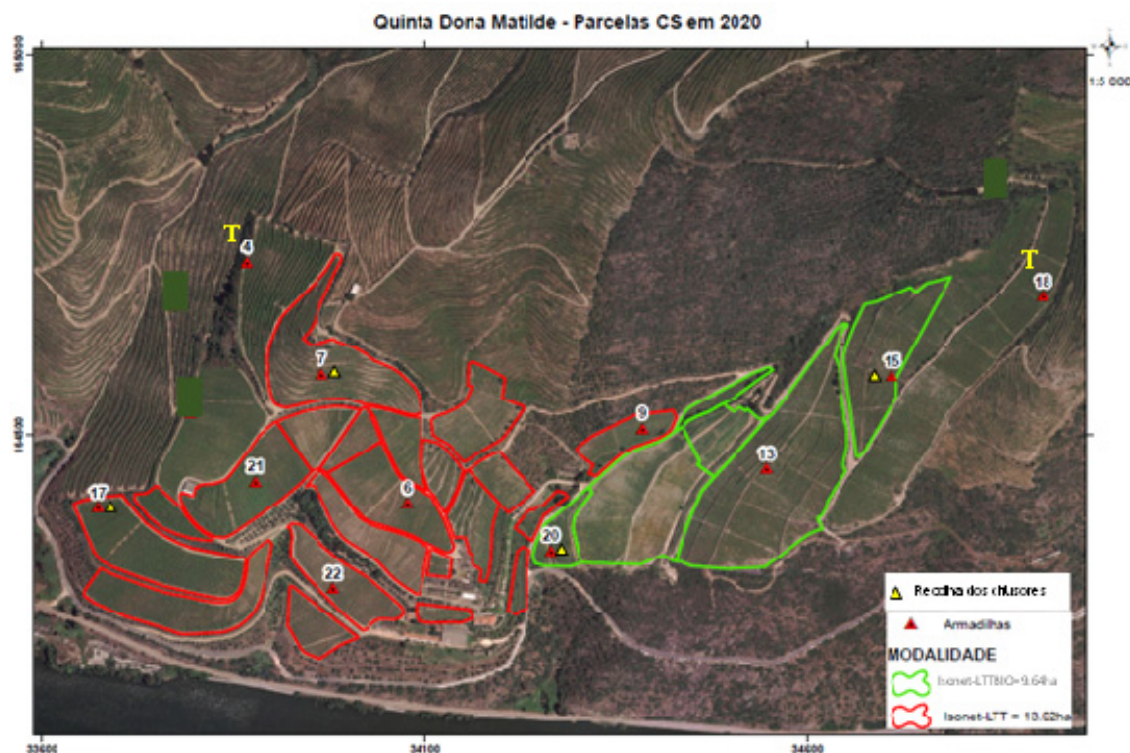


Figura 2. Imagem da Quinta D. Matilde, com a localização e identificação dos pontos de amostragem / armadilhas sexuais em estudo e locais de recolha dos difusores. Fonte: Salvação *et al.* (2019), Sistema de coordenadas ETRS89PT-TM06.

Quadro I

Caraterização dos pontos de amostragem onde se instalaram as armadilhas sexuais e onde decorreu a estimativa do risco

Pontos de amostragem	Casta	Cota (m)	Modalidade	Difusor	Nº difusores/ha
4	Arinto	175	Testemunha	-	-
6	Touriga Nacional + Viosinho	171	CS	ISONET-LTT®	396
7	Touriga Franca	213	CS	ISONET-LTT®	418
9	Mistura de castas RDD	150	Bordadura CS	ISONET-LTT®	417
17	Tinta Amarela	137	Bordadura CS	ISONET-LTT®	293
21	Touriga Franca	164	Bordadura CS	ISONET-LTT®	556
22	Touriga Nacional	121	CS	ISONET-LTT®	511
18	Mistura de castas RDD	295	Testemunha	-	-
13	Mistura de castas RDD	238	CS	ISONET-LTT BIO®	338
15	Mistura de castas RDD	249	Bordadura CS	ISONET-LTT BIO®	197
20	Mistura de castas RDD	130	CS	ISONET-LTT BIO®	297

A monitorização dos adultos foi efetuada através da captura de machos adultos de *L. botrana* em armadilhas sexuais do tipo delta (CBC Iberia) instaladas em cada um dos pontos de amostragem (1 armadilha por ponto), a 4 março. O registo das capturas foi feito semanalmente, sendo as bases de cola substituídas sempre que necessário e as cápsulas de feromona substituídas a cada cinco semanas. Posteriormente, foram calculadas as taxas de desorientação dos machos, tendo como referência as capturas obtidas na testemunha, com base na Equação 1 (Carlos *et al.*, 2014).

$$\text{Taxa de desorientação dos machos} = \frac{(X-Y) \cdot 100}{X} \quad \text{Eq. 1}$$

X = número de capturas registado nas armadilhas sexuais da parcela testemunha (sem CS).

Y = número de capturas registado nas armadilhas sexuais da parcela com CS.

Em cada ponto de amostragem procedeu-se à avaliação da intensidade do ataque da traça-da-uva através de estimativa do risco, realizadas durante ou

após o pico de capturas dos adultos, nas três gerações do inseto. Na primeira geração, a estimativa do risco realizou-se a 22 de maio, por observação visual de inflorescências, contabilizando-se o número de “ninhos” em 100 cachos. Nas gerações seguintes (segunda e terceira) contabilizou-se a percentagem de cachos atacados (com presença de ovos viáveis e/ou perfurações), a 17 de junho para a segunda geração e para a terceira geração, realizaram-se duas amostragens uma a 5 de agosto e outra à vindima, sendo que à vindima os cachos foram abertos em laboratório para realizar uma avaliação real da intensidade do ataque. Posteriormente, foram calculadas as percentagens da diminuição do ataque nas parcelas em CS, tendo como referência o ataque ocorrido na testemunha, com base na Equação 2 (Carlos *et al.*, 2014).

$$\text{Percentagem de redução do ataque} = \frac{(X-Y)+100}{X} \quad \text{Eq. 2}$$

X= Número de ninhos/100 cachos, ou % de cachos atacados observados na parcela testemunha (conforme a geração).

Y= Número de ninhos/100 cachos, ou % de cachos atacados observados na parcela com CS (conforme a geração).

No cálculo das taxas de desorientação dos machos e percentagem de redução do ataque, considerou-se a testemunha 4 para as parcelas onde se aplicaram os difusores ISONET-LTT® e a testemunha 18 para as parcelas onde se aplicaram os difusores ISONET-LTT BIO®.

Evolução da feromona nos difusores em estudo

A avaliação da evolução da substância ativa (feromona) nos difusores foi realizada com recurso a uma balança de precisão de 0,0001g, procedendo-se à pesagem dos difusores de cada tipo (ISONET-LTT® e ISONET-LTT BIO®), que foram devidamente identificados e colocados no campo aquando da sua instalação. Instalou-se cada tipo de difusor em dois locais da área tratada: a cerca de 130-150 m (adiante designado cota baixa) e a cerca de 210-250 m (adiante designado cota alta). Mensalmente, entre março e setembro, recolheram-se, em cada ponto, cinco difusores, que foram adequadamente acondicionados e transportados para o laboratório, onde foram novamente pesados. Assim, foi possível efetuar uma análise gravimétrica do conteúdo residual em feromona, calculando-se posteriormente a emissão potencial de feromona ao longo do tempo, em mg/ha/dia.

Análise de dados

O efeito da CS nos três voos da traça-da-uva e na infestação dos cachos ao longo das três gerações nas várias parcelas em estudo foi avaliado através do teste não paramétrico qui-quadrado χ^2 . Este teste é frequentemente utilizado para testar se contagens relativas a populações independentes diferem relativamente a uma determinada característica (Maroco, 2007). Deste modo pretendeu-se testar se a ocorrência de capturas ou estragos ocorridos nas parcelas em CS diferiram das parcelas testemunha. As diferenças entre as parcelas testemunhas e as parcelas com CS foram estimadas com uma série de comparações de pares, na qual se usou a Correção de Yate para a Continuidade para ajustar o valor calculado no teste estatístico (Fowler *et al.*, 2013). O nível de significância adotado foi de 0,05.

Para analisar as diferenças entre as médias da quantidade de feromona libertada por cada um dos difusores (ISONET-LTT® e ISONET-LTT BIO®), na cota alta e na cota baixa, usou-se o teste *t* – Student depois de ter sido verificado, através do teste de Shapiro-Wilk (considerado mais adequado para amostras de pequena dimensão ($n < 30$)), que os dados possuíam distribuição normal. Todos os dados foram analisados recorrendo ao software SPSS (v. 17; SPSS Inc, Chicago, IL). O nível de significância utilizado foi de 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise prévia de dados climáticos da Quinta D. Matilde

As temperaturas médias mensais foram aumentando gradualmente ao longo do período de estudo, tendo sido particularmente elevadas, comparativamente à Normal Climatológica (71-00) (NC), em maio e julho (Figura 3). Segundo o boletim do ano vitícola da ADVID, 2020 foi um ano especialmente quente e seco (ADVID, 2020). De acordo com este boletim, em maio registou-se um aumento bastante significativo das temperaturas nas diferentes sub-regiões, com valores superiores à NC, que se situou num desvio positivo de +2,9 °C no Baixo Corgo (BC), em relação à média dos últimos 20 anos. A partir do final de junho registou-se também uma subida abrupta de temperatura, com temperaturas máximas superiores de 37 °C, e desvios relativamente à NC de +2,9°C (no BC) (ADVID, 2020), contribuindo para a ocorrência de fenómenos de escaldão na região.

A velocidade média do vento foi variando entre março e setembro, tendo sido particularmente forte em junho e agosto (Figura 3). Julho foi o mês que apresentou a temperatura média mensal mais elevada, com 27,5°C, enquanto o valor mais alto da velocidade média do vento ocorreu em junho, com uma velocidade média de 2,56 m/s.

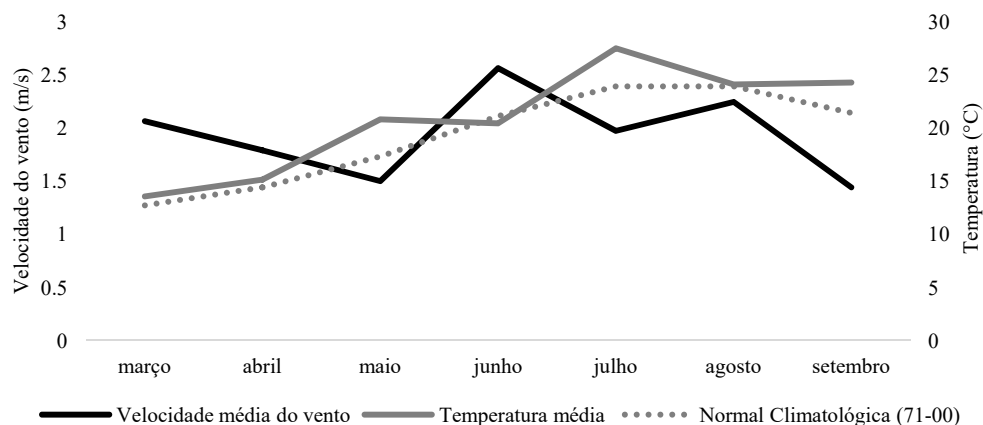


Figura 3. Velocidade média do vento, temperatura média entre março e setembro de 2020 na Quinta D. Matilde e Normal Climatológica (71-00) (IPMA).

Avaliação da eficácia da confusão sexual

Análise das capturas de machos de traça-da-uva em armadilhas sexuais

Para efeitos de análise da curva de voo da traça-da-uva, consideraram-se as capturas da armadilha da parcela testemunha 4, por ter sido a armadilha com maior número de capturas (Figura 4). Estes dados permitiram identificar três voos bem definidos, sendo que o voo mais intenso foi o terceiro (Figura 4). Apesar de não ter sido possível registar as primeiras capturas, dado que quando se instalaram as armadilhas o primeiro voo já se tinha iniciado, é possível perceber que em 2020, o voo da traça-da-uva na Quinta D. Matilde foi mais precoce (cerca de uma a duas semanas) do que o observado em média na RDD, que geralmente ocorre na terceira

semana de março. O segundo voo iniciou-se a 4 de junho, quando a data média de início ocorre em meados de junho, e o terceiro voo iniciou-se a 16 de julho, quando a data média tem lugar no final de julho (Carlos *et al.*, 2018). No início de setembro verificou-se ainda um ligeiro aumento de capturas, sugerindo a ocorrência de um quarto voo no final de agosto/início de setembro, o que estaria de acordo com Carlos *et al.* (2018) para a RDD. Contudo, a ausência na regularidade das contagens das armadilhas não permitiu confirmar a existência deste voo (Figura 4).

No total de capturas dos vários voos da traça-da-uva, os valores mais elevados ocorreram nas parcelas não sujeitas a CS, designadamente na testemunha 4 e 18, com um total de 1111 e 25 capturas, respetivamente (Figura 4 e Quadro II).

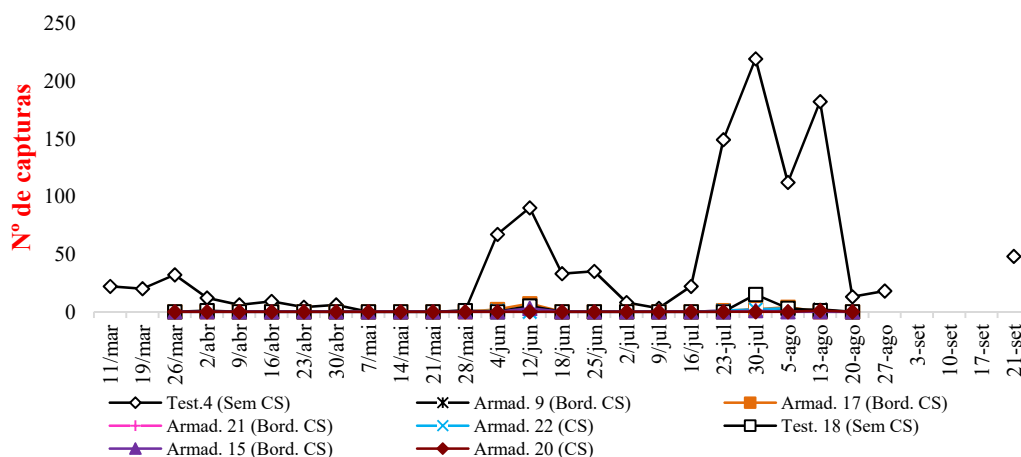


Figura 4. Número de machos capturados no total dos quatro voos da traça-da-uva, durante o presente estudo, na Quinta D. Matilde.

Quadro II

Número total de capturas de machos obtido nas armadilhas sexuais, durante o presente estudo, nos vários pontos de amostragem, na Quinta D. Matilde

Ponto amostragem	Modalidade	Tipo de difusor	Número total de capturas
4	Testemunha	-	1111
6	CS	ISONET-LTT®	0
7	CS	ISONET-LTT®	0
9	Bordadura CS	ISONET-LTT®	0
17	Bordadura CS	ISONET-LTT®	16
21	Bordadura CS	ISONET-LTT®	1
22	CS	ISONET-LTT®	7
18	Testemunha	-	25
13	CS	ISONET-LTT BIO®	0
15	Bordadura CS	ISONET-LTT BIO®	4
20	CS	ISONET-LTT BIO®	1

As capturas de machos de traça-da-uva, obtidas nas parcelas com CS, foram inferiores às obtidas nas parcelas testemunha, verificando-se o fenómeno típico de “shut down” (zero capturas), o que sugere uma boa eficácia do método de CS (Figura 4). Porém, em alguns pontos, em especial nos localizados em bordadura da área em CS (armadilhas 9, 15 e 17) e durante o terceiro voo, ocorreram capturas nas armadilhas, o que indica uma menor eficácia do método nesses locais, e durante esse período (Figura 4 e Quadro II).

Em relação à testemunha 18, em que se obteve um total de 25 adultos, é possível que tenha existido um arrastamento da nuvem de feromona da área tratada para aquele ponto de amostragem.

O número total de capturas foi significativamente superior na armadilha localizada na parcela testemunha 4 do que nas armadilhas localizadas onde se aplicou o ISONET-LTT®, nomeadamente nos pontos de amostragem 6 e 7 (CS), 9 (Bord. CS), 17 (Bord. CS), 21 (Bord. CS) e 22 (CS). De igual modo, o número total de capturas foi significativamente superior na armadilha localizada na parcela

testemunha 18 do que nas armadilhas localizadas onde se aplicou o difusor ISONET-LTT BIO®, designadamente nos pontos de amostragem 13 (CS), 15 (Bord. CS) e 20 (CS) (Quadro III).

Taxas de desorientação dos machos

As taxas de desorientação dos machos de traça-da-uva calculadas para cada voo da praga apresentam-se no Quadro IV.

No primeiro voo, as taxas de desorientação dos machos foram de $100,0 \pm 0,0$ em todas as parcelas tratadas com difusores. No segundo voo, variaram entre $98,5 \pm 1,1$ e $100,0 \pm 0,0$ nas parcelas tratadas com ISONET-LTT® e entre $91,4 \pm 8,6$ e $100,0 \pm 0,0$ nas parcelas tratadas com ISONET-LTT BIO®. No terceiro voo variou entre $99,1 \pm 0,6$ e $100,0 \pm 0,0$ nas parcelas tratadas com ISONET-LTT® e entre $83,3 \pm 16,7$ e $100,0 \pm 0,0$ nas parcelas tratadas com ISONET-LTT BIO®. Verificou-se assim um decréscimo na desorientação dos machos, no segundo e particularmente no terceiro voo, mais evidente quando usado o ISONET-LTT BIO® do que o ISONET-LTT®.

Quadro III

Resultados da análise qui-quadrado (χ^2) para total acumulado e total de capturas ao longo dos três voos da traça-da-uva na zona do difusor ISONET-LTT® e ISONET – LTT BIO®

Ponto de amostragem	Modalidade	Tipo de difusor	Capturas (N)	χ^2	Significância
4	Testemunha	-	1111	-	-
6	CS	ISONET-LTT®	0	1111,00	***
7	CS	ISONET-LTT®	0	1111,00	***
9	Bordadura CS	ISONET-LTT®	5	1096,09	***
17	Bordadura CS	ISONET-LTT®	16	1063,91	***
21	Bordadura CS	ISONET-LTT®	1	1108,00	***
22	CS	ISONET-LTT®	7	1090,18	***
18	Testemunha	-	25	-	-
13	CS	ISONET-LTT BIO®	0	25,04	***
15	Bordadura CS	ISONET-LTT BIO®	4	15,24	***
20	CS	ISONET-LTT BIO®	1	22,19	***

*** Diferença altamente significativa ($p < 0,001$).

Quadro IV

Taxas de desorientação dos machos de traça-da-uva (média \pm desvio-padrão) nos pontos de amostragem com confusão sexual, calculadas com referência à armadilha 4 para os locais com ISONET-LTT®, e à armadilha 18 para os locais com ISONET-LTT BIO®

Ponto de amostragem	Tipo de difusor	Modalidade	1º Voo	2º Voo	3º Voo
6	ISONET-LTT®	CS	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0
7	ISONET-LTT®	CS	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0
9	ISONET-LTT®	Bordadura CS	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	99,5 \pm 0,2
17	ISONET-LTT®	Bordadura CS	100,0 \pm 0,0	98,5 \pm 1,1	99,1 \pm 0,6
21	ISONET-LTT®	CS	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	99,9 \pm 0,1
22	ISONET-LTT®	CS	100,0 \pm 0,0	99,8 \pm 0,2	99,3 \pm 0,4
13	ISONET-LTT BIO®	CS	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0
15	ISONET-LTT BIO®	Bordadura CS	100,0 \pm 0,0	91,4 \pm 8,6	98,9 \pm 1,1
20	ISONET-LTT BIO®	CS	100,0 \pm 0,0	100,0 \pm 0,0	83,3 \pm 16,7

Comparando os resultados com os obtidos em estudos realizados na Turquia, Itália e Espanha, verifica-se que, ao contrário dos resultados obtidos por Altindisli *et al.* (2016) e Lucchi *et al.* (2018a) para o ISONET-LTT® e de Lucchi *et al.* (2018a) e Cibriain *et al.* (2020) para o ISONET-LTT BIO®, que observaram a desorientação total dos machos, no presente estudo não se verificou esse fenómeno nas parcelas tratadas com CS, em particular no terceiro voo da praga. A localização dos pontos de amostragem, assim como as condições climáticas dos locais de estudo, poderão ser fatores que explicam as diferenças observadas entre os resultados do presente estudo e os estudos referenciados, uma vez que estas condições afetam o ciclo biológico de *L. botrana*, bem como a taxa de libertação de feromona dos difusores (Rauscher e Arn, 1979; Ogawa, 1997; Coscollá, 1998; Vassiliou, 2009; Carlos, 2010; Pavan *et al.*, 2013; Altindisli *et al.*, 2016) e a manutenção da nuvem de feromona.

Avaliação dos estragos e percentagem de diminuição de ataque

Na primeira geração, observou-se uma pressão diminuta da praga, uma vez que em todas as parcelas, incluindo as testemunhas, os estragos contabilizados foram inferiores ao referenciado para o nível económico de ataque (NEA) definido para esta fase do ciclo, que é de 100 a 200 ninhos em 100 cachos observados (Carlos and Aguiar, 2006) (Quadro V).

A maior intensidade do ataque da traça-da-uva observou-se na parcela testemunha 4, onde se contabilizaram 39 ninhos por 100 cachos, sendo que nas restantes parcelas o ataque variou entre 0 e 5 ninhos por 100 cachos. A parcela testemunha 18 registou igualmente uma reduzida infestação, o que sugere mais uma vez que a nuvem de feromona poderá ter sido arrastada para a mesma e ter exercido efeito de CS (Quadro V). A diminuição do ataque variou entre 87% e 97% nas parcelas tratadas com ISONET-LTT® e entre 0 e 100% nas parcelas tratadas com ISONET-LTT BIO®.

Quadro V

Resultados da estimativa do risco para a primeira geração da traça-da-uva na Quinta D. Matilde, realizada em 22 de maio

Ponto amostragem	Modalidade	Tipo de difusor	Ninhos / 100 cachos	% Cachos atacados	% Redução de ataque
4	Testemunha	-	39	25	-
6	CS	ISONET-LTT®	1	1	97
7	CS	ISONET-LTT®	4	3	87
9	Bordadura CS	ISONET-LTT®	2	2	95
17	Bordadura CS	ISONET-LTT®	5	4	87
21	Bordadura CS	ISONET-LTT®	4	1	90
22	CS	ISONET-LTT®	1	1	97
18	Testemunha	-	4	1	-
13	CS	ISONET-LTT BIO®	0	0	100
15	Bordadura CS	ISONET-LTT BIO®	1	1	75
20	CS	ISONET-LTT BIO®	4	4	0

Assim, o número de cachos atacados foi significativamente superior na testemunha 4 do que

nas parcelas tratadas com o ISONET-LTT®, nomeadamente nos pontos de amostragem 6 (CS), 7

(CS), 9 (Bord. CS), 17 (Bord. CS), 21 (Bord. CS) e 22 (CS) (Quadro VI), o que demonstra que a CS com recurso aos difusores ISONET-LTT®, foi eficaz na redução dos estragos. Por outro lado, não se observaram diferenças significativas no número de cachos atacados entre a testemunha 18 e as parcelas tratadas com o ISONET-LTT BIO®,

designadamente nos pontos de amostragem 13 (CS), 15 (Bord. CS) e 20 (CS) (Quadro VI), o que pode significar que a pressão naquela área foi menor e que a testemunha 18 poderá ter estado sobre o efeito da CS e, portanto, não ser possível evidenciar diferenças nos estragos.

Quadro VI

Resultados da análise qui-quadrado (χ^2) para o número de cachos atacados na estimativa do risco da primeira geração na zona do difusor ISONET – LTT® e ISONET – LTT BIO®

Ponto de amostragem	Modalidade	Tipo de difusor	Cachos atacados	χ^2	Significância
4	Testemunha	-	25	-	-
6	CS	ISONET-LTT®	1	22,19	***
7	CS	ISONET-LTT®	3	17,32	***
9	Bordadura CS	ISONET-LTT®	2	19,63	***
17	Bordadura CS	ISONET-LTT®	4	15,24	***
21	Bordadura CS	ISONET-LTT®	1	22,19	***
22	CS	ISONET-LTT®	1	22,19	***
18	Testemunha	-	1	-	-
13	CS	ISONET-LTT BIO®	0	2,00	-
15	Bordadura CS	ISONET-LTT BIO®	1	0,50	-
20	CS	ISONET-LTT BIO®	4	2,00	-

*** Diferença altamente significativa ($p < 0,001$).

Comparando os resultados obtidos no presente trabalho com os de outros estudos, nos quais foram usados os mesmos difusores, verifica-se que os existe concordância com os de Carlos *et al.* (2014) na RDD, Altindisli *et al.* (2016) na Turquia e Lucchi *et al.* (2018a) em Itália, que também reportaram diferenças significativas entre a parcela testemunha e as parcelas tratadas com o difusor ISONET-LTT®. Contudo, no que diz respeito ao difusor ISONET-LTT BIO®, Lucchi *et al.* (2018a) observaram diferenças entre parcelas testemunha e as parcelas tratadas, o que não sucedeu no presente trabalho.

No que diz respeito à segunda geração, observaram-se 35% de cachos atacados na testemunha 4, tendo sido ultrapassado o NEA

definido para esta fase do ciclo do inseto (10% de cachos atacados). Pelo contrário, na testemunha 18, não se observaram cachos atacados, o que sugere, mais uma vez, que poderá ter havido um arrastamento da nuvem de feromona da área tratada para aquele ponto de amostragem (Quadro VII).

Nas parcelas onde foi aplicado o difusor ISONET-LTT®, o ataque variou entre 0 e 5% de cachos atacados, tendo a redução de ataque variado entre 85 e 100% (Quadro VII). Nas parcelas onde se aplicou o ISONET-LTT BIO®, não foi observado qualquer ataque, o que pode sugerir uma pressão mais baixa da praga (a avaliar pela ausência de ataque na testemunha 18), devido a fatores de natureza diversa (climática, castas, tipo de vinha, orografia).

Quadro VII

Percentagem de cachos atacados e percentagem de redução de ataque da segunda geração da traça-da-uva, obtidos na estimativa do risco realizada a 17 de junho, na Quinta D. Matilde

Ponto de amostragem	Modalidade	Tipo de difusor	% Cachos atacados	% Redução de ataque
4	Testemunha	-	35	-
7	CS	ISONET-LTT®	5	85
9	Bordadura CS	ISONET-LTT®	0	100
17	Bordadura CS	ISONET-LTT®	2	94
21	Bordadura CS	ISONET-LTT®	4	89
18	Testemunha	-	0	-
13	CS	ISONET-LTT BIO®	0	100
20	CS	ISONET-LTT BIO®	0	100

Assim, na segunda geração o número de cachos atacados foi significativamente superior na

testemunha 4 do que nas parcelas tratadas com o ISONET-LTT®, nomeadamente nos pontos de

amostragem 7 (CS), 9 (Bord. CS), 17 (Bord. CS) e 21 (Bord. CS) (Quadro VIII). Pelo contrário, não foram observadas diferenças significativas entre a testemunha 18 e as parcelas tratadas com o ISONET-LTT BIO®, designadamente nos pontos de

amostragem 13 (CS) e 20 (CS) (Quadro VIII), o que reforça a hipótese de a testemunha 18 poder ter estado sob o efeito de CS, e, por conseguinte, não permitir avaliar o efeito da CS nestas parcelas.

Quadro VIII

Resultados da análise qui-quadrado (χ^2) para o número de cachos atacados na estimativa do risco da segunda geração na zona do difusor ISONET – LTT® e ISONET – LTT BIO®

Ponto de amostragem	Modalidade	Tipo de difusor	Cachos atacados	χ^2	Significância
4	Testemunha	-	34	-	-
7	CS	ISONET-LTT®	5	21,59	***
9	Bordadura CS	ISONET-LTT®	0	34,03	***
17	Bordadura CS	ISONET-LTT®	2	28,47	***
21	Bordadura CS	ISONET-LTT®	4	23,71	***
18	Testemunha	-	0	-	-
13	CS	ISONET-LTT BIO®	0	0	-
20	CS	ISONET-LTT BIO®	0	0	-

*** Diferença altamente significativa ($p < 0,001$).

No caso dos difusores ISONET-LTT®, os resultados observados durante a segunda geração da traça-da-uva, são concordantes com os obtidos em outros estudos, nos quais foram obtidas diferenças significativas entre a parcela testemunha e as parcelas tratadas com ISONET-LTT® (Carlos *et al.*, 2014; Altindisli *et al.*, 2016; Lucchi *et al.*, 2018a). Já no que respeita aos difusores ISONET-LTT BIO®, pela ausência de ataque na testemunha, resultado da baixa intensidade do ataque da praga no local e/ou de um arrastamento da nuvem de feromona, não foi possível aferir sobre a eficácia da CS nesta geração.

No que respeita à terceira geração, na primeira amostragem realizada a 5 de agosto, o ataque variou entre 0 e 2% de cachos atacados nas parcelas onde se aplicou o difusor ISONET-LTT®, com reduções de ataque a variar entre 91 e 100%. No caso das parcelas com o ISONET-LTT BIO®, o ataque também variou entre 0 e 2% de cachos atacados, com correspondentes reduções de ataque a variar entre os 77 e 100% (Quadro IX).

Apesar das duas amostragens efetuadas na terceira geração serem importantes para quantificar o ataque desta geração na Quinta D. Matilde, destaca-se a importância da amostragem realizada à vindima, pois a abertura dos cachos no laboratório permite uma quantificação mais real do ataque, avaliando com mais precisão a eficácia da CS contra esta geração. Assim, o ataque nas testemunhas à vindima variou entre 6% (testemunha 18) e 14% de cachos atacados (testemunha 4). Nos pontos de amostragem mais centrais tratados com ISONET-LTT® não se observou qualquer ataque, o que demonstra que a CS estava a funcionar naqueles locais. Por outro lado, nos pontos de amostragem 21 e 9, localizados mais em bordadura e mais expostos aos fatores de orografia, presença de linhas de água e ventos dominantes, o ataque variou entre 5 e 18% de cachos atacados, valores superiores ao NEA definido para esta fase (1-10% cachos atacados).

Quadro IX

Percentagem de cachos atacados e percentagem de redução de ataque da 3ª geração da traça-da-uva, obtidos na estimativa do risco realizada a 5 de agosto e vindima, na Quinta D. Matilde

Ponto de amostragem	Modalidade	Tipo de difusor	% Cachos atacados		% Redução de ataque	
			5 agosto	Vindima	5 agosto	Vindima
4	Testemunha	-	24	14	-	-
6	CS	ISONET-LTT®	-	0	-	100
7	CS	ISONET-LTT®	2	0	92	100
9	Bord. CS	ISONET-LTT®	2	18	91	0
17	Bord. CS	ISONET-LTT®	-	0	-	100
21	Bord. CS	ISONET-LTT®	0	5	100	62
22	CS	ISONET-LTT®	-	0	-	100
18	Testemunha	-	8	6	-	-
13	CS	ISONET-LTT BIO®	0	0	100	100
15	Bord. CS	ISONET-LTT BIO®	0	6	100	0
20	CS	ISONET-LTT BIO®	2	2	77	69

Estes resultados sugerem um arrastamento da nuvem de feromona naqueles locais, e possivelmente uma menor quantidade de feromona na atmosfera, em resultado da exaustão dos difusores.

Quanto às parcelas amostradas onde se aplicou o ISONET-LTT BIO®, o ataque variou entre 0 e 6% de cachos atacados, com a redução do ataque a variar entre 0 e 100%. O ponto de amostragem 15 (Bordadura CS), foi aquele onde se observou o resultado menos satisfatório.

Assim, na vindima, o número de cachos atacados foi significativamente superior na testemunha 4 do que nas parcelas onde se colocaram os difusores ISONET-LTT®, designadamente nos pontos de amostragem 21 (Bord. CS), 6 (CS), 7 (CS), 17 (Bord.

CS) e 22 (CS) (Quadro X). O ataque registado no ponto de amostragem 9 (Bord. CS) não foi significativamente diferente do observado na testemunha 4 (Quadros IX e X). Relativamente aos difusores ISONET-LTT BIO®, apenas se verificou que o ataque na testemunha 18 foi significativamente superior ao do ponto de amostragem 13 (CS); em relação aos pontos de amostragem 15 (Bord. CS) e 20 (CS) não se verificaram diferenças significativas (Quadro X). Novamente, estes resultados poderão estar associados a uma baixa pressão da praga na área envolvente da testemunha 18 e respetivas áreas tratadas com o ISONET-LTT BIO®, e/ou ao arrastamento da nuvem de feromona para aquela zona.

Quadro X

Resultados da análise qui-quadrado (χ^2) para o número de cachos atacados na estimativa do risco da terceira geração realizada à vindima na zona do difusor ISONET – LTT® e ISONET – LTT BIO®

Ponto de amostragem	Modalidade	Tipo de difusor	Cachos atacados	χ^2	Significância
4	Testemunha	-	25	-	-
6	CS	ISONET-LTT®	0	18,06	***
7	CS	ISONET-LTT®	0	18,06	***
9	Bordadura CS	NET-LTT®	18	0,03	-
17	Bordadura CS	ISONET-LTT®	0	18,06	***
21	Bordadura CS	ISONET-LTT®	7	4,88	*
22	CS	ISONET-LTT®	0	18,06	***
18	Testemunha	-	6	-	-
13	CS	ISONET-LTT BIO®	0	6,17	*
15	Bordadura CS	ISONET-LTT BIO®	6	0,08	-
20	CS	ISONET-LTT BIO®	2	2,13	-

* Diferença significativa ($p < 0,05$); *** Diferença altamente significativa ($p < 0,001$).

Os resultados do presente estudo estão de acordo com os obtidos por Carlos *et al.* (2014) e Lucchi *et al.* (2018a), relativamente ao difusor ISONET-LTT®, uma vez que estes autores reportaram diferenças significativas entre as parcelas testemunhas e as parcelas tratadas com CS. Relativamente aos resultados obtidos com o difusor ISONET-LTT BIO®, pode admitir-se que estão parcialmente de acordo com os de Lucchi *et al.* (2018a), visto terem sido observadas diferenças significativas entre a testemunha e as parcelas tratadas, atendendo a que o ataque foi superior na parcela testemunha.

De uma forma geral, pode concluir-se que os difusores utilizados no presente estudo, ISONET-LTT® e ISONET-LTT BIO®, foram capazes de controlar de forma satisfatória as três gerações de *L. botrana* em parcelas mais centrais, estando de acordo com o referido por Lucchi *et al.* (2018a) e Ricciardi *et al.* (2019), usando o mesmo tipo de difusores. No caso dos dois difusores, os resultados menos satisfatórios estiveram associados a parcelas tratadas localizadas em bordadura e/ou sujeitas a constrangimentos de orografia e/ou ventos,

sendo coerentes com os reportados por Carlos *et al.* (2014), que usaram os difusores ISONET-LTT®.

Evolução da feromona nos difusores em estudo

Entre março e maio, os difusores ISONET-LTT® e ISONET-LTT BIO® apresentaram elevada perda de feromona: variação entre 33,9% (cota baixa) e 35,5% (cota alta) no caso dos difusores ISONET-LTT®; entre 34,6% (cota baixa) e 36,2% (cota alta) no caso dos difusores ISONET-LTT BIO® (Quadro XI). Entre junho e julho, ocorreu uma intensificação da perda de carga difusora de ambos os difusores e, no final de julho, os difusores ISONET-LTT® só já apresentavam entre 3,0% (cota baixa) e 9,4% (cota alta) e os difusores ISONET-LTT BIO® entre 2,3% (cota baixa) e 12,4% (cota alta) - Quadro XI e Figura 3 -, observando-se assim maior taxa de libertação de feromona nas áreas de cota mais baixa.

Esta dinâmica da perda de carga difusora está diretamente relacionada com o impacto das condições climáticas, designadamente do vento, que foi especialmente forte durante junho, uma vez que de acordo com Ogawa (1997), o facto da velocidade média do vento se ter situado, de forma geral, acima

de 1,5 m/s, pode ter contribuído para a não estabilidade da nuvem de feromona nas parcelas tratadas. Assim, segundo o mesmo autor, um aumento da velocidade do vento de 1 m/s para 2,5 m/s, faz com que a taxa de libertação de feromona dos difusores aumente 13%, enquanto a concentração de feromona na atmosfera diminui para metade. De importância terá sido também a evolução das temperaturas, em particular a ocorrida ao longo

de maio e julho (Figura 3). Estes dois parâmetros terão contribuído para que se observasse o fenómeno de exaustão da feromona nos difusores no final de julho, coincidindo com o início do terceiro voo e da terceira geração da praga, período de maior risco da praga.

Estes resultados vão ao encontro dos resultados mencionados por outros autores (Altindisli *et al.*, 2016; Ogawa, 1997; Vassiliou, 2009).

Quadro XI

Evolução da percentagem de feromona e respetiva variação nos difusores ISONET-LTT® e ISONET-LTT BIO®, na Quinta D. Matilde

Data de recolha	Dias após a instalação	ISONET-LTT®				ISONET-LTT BIO®			
		Cota baixa	Variação %	Cota alta	Variação %	Cota baixa	Variação %	Cota alta	Variação %
12/03	0	100	-	100	-	100	-	100	-
14/04	33	84,8	15,2	85,6	14,4	84,7	15,3	84,8	15,2
22/05	71	64,5	20,3	66,1	19,5	63,8	20,9	65,4	19,4
17/06	97	47,9	16,6	49,1	17,0	44,3	19,5	45,8	19,6
23/07	133	3,0	44,9	9,4	39,7	2,3	42,0	12,4	33,4
20/08	161	0,0	3,0	0,0	9,4	0,0	2,3	0,0	12,4

A quantidade de feromona libertada aumentou gradualmente até junho, com o pico de difusão a ocorrer no final de julho, correspondendo a uma quantidade libertada pelos difusores ISONET-LTT® e ISONET-LTT BIO® da cota alta de 1219,3 mg/dia/ha e 1068,2 mg/dia/ha, respetivamente, e na cota baixa de 1407,0 mg/dia/ha e 1360,0 mg/dia/ha, respetivamente (Figura 5).

De uma forma geral, a quantidade de feromona libertada (mg/dia/ha) por ambos os difusores, manteve-se acima de 700 mg/dia/ha, valor sugerido por Rauscher e Arn (1979) como ideal, o que poderá ter contribuído para impedir os acasalamentos da traça-da-uva. No entanto, é possível que tenham ocorrido encontros ocasionais entre machos e fêmeas, mesmo estando em presença de elevadas concentrações de feromona de síntese (Gordon *et al.*, 2005), ou que tenha ocorrido migração de fêmeas fecundadas oriundas de vinhas vizinhas de áreas não tratadas com difusores.

A avaliação da evolução da quantidade de feromona libertada permitiu verificar diferenças significativas na perda de feromona pelos difusores quando estes são aplicados em cotas diferentes (Figura 5). Em ambos os difusores, a quantidade de feromona libertada foi superior na cota baixa, diferença que foi significativa em julho (com os dois difusores) e em maio (com o difusor ISONET-LTT BIO®). A diferença contrária, ou seja, a perda superior na cota alta do que na cota baixa, registada em agosto, terá estado relacionada com o facto de os difusores situados em cota baixa terem menos feromona disponível e, portanto, ter sido libertada menor quantidade. Os resultados obtidos estão de acordo

com Carlos *et al.* (2014), que indicaram uma taxa de libertação da feromona superior nos difusores localizados em altitudes mais baixas, próximas do rio, onde a temperatura é mais elevada. Os difusores ISONET-LTT BIO®, localizados na cota mais baixa, apresentaram o fenómeno de exaustão mais cedo. Este resultado poderá estar relacionado com as características da vinha onde foram recolhidos estes difusores, já que se tratava de vinha nova, com uma parede vegetativa pouco densa, a qual também sofreu o fenómeno de escaldão devido às altas temperaturas ocorridas na exploração (Figura 3). Segundo Gavara *et al.* (2020), a vegetação da videira apresenta a capacidade de adsorver e libertar feromona, atuando como fonte subsequente e adicional da mesma. Assim, a parede vegetativa da videira apresenta a capacidade de mitigar os efeitos do vento e da temperatura na difusão da feromona pelos difusores (Schmitz *et al.*, 1997; Sauer e Karg, 1998; Ioriatti *et al.*, 2011).

A exaustão precoce de feromona observada nos difusores analisados parece estar de acordo com os resultados referidos por Carlos *et al.* (2014) na RDD e por Altindisli *et al.* (2016) em estudos conduzidos na Turquia. Por outro lado, Lucchi *et al.* (2018a), em ensaios conduzidos em Itália, verificaram uma difusão de feromona de ambos os difusores até ao final de setembro. Porém, as diferenças entre os resultados do presente estudo e dos estudos referenciados poderão estar relacionados com as condições climáticas ocorridas nos anos em que foram realizados, uma vez que afetam a taxa de libertação de feromona dos difusores (Ogawa, 1997; Vassiliou, 2009; Carlos, 2010; Carlos *et al.*, 2013; Altindisli *et al.*, 2016).

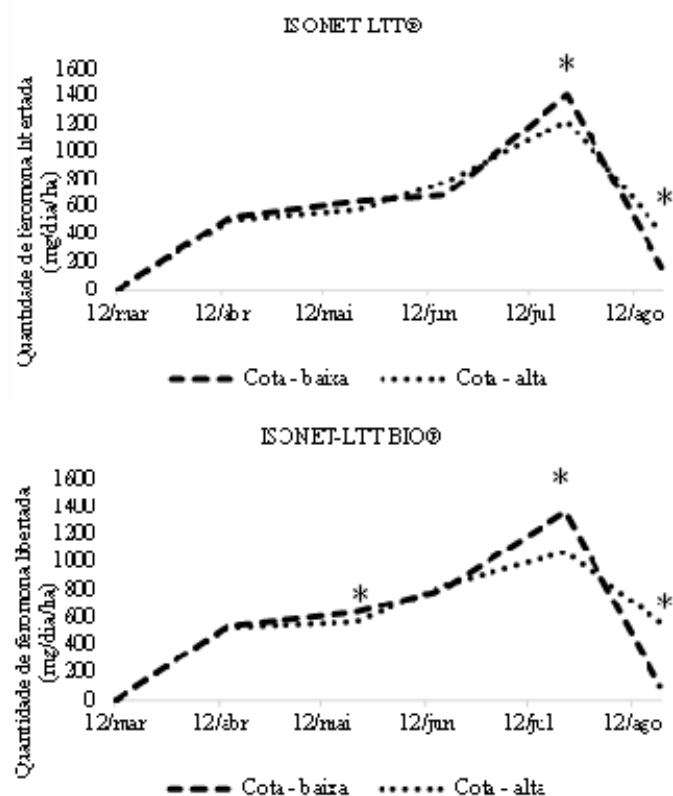


Figura 5. Evolução da quantidade de feromona libertada pelos difusores ISONET-LTT® e ISONET-LTT BIO®, em mg/dia/ha, na Quinta D. Matilde. * Diferença significativa entre os difusores da cota baixa e da cota alta.

CONCLUSÕES

O presente estudo teve por objetivo avaliar as possibilidades oferecidas pelo método de confusão sexual (CS) na proteção contra a traça-da-uva, em vinhas da RDD, situadas na Quinta D. Matilde usando dois modelos de difusores de feromona com a mesma quantidade de feromona, sendo o modelo ISONET-LTT®, constituído por polietileno e o modelo ISONET-LTT BIO® constituído por material biodegradável.

O acompanhamento das armadilhas sexuais permitiu detetar maior incidência da traça-da-uva na zona Noroeste da exploração, junto à área em que se aplicou o difusor ISONET-LTT®, onde a pressão foi significativamente maior do que na zona Nordeste.

De uma forma geral, e com ambos os difusores, os valores mais baixos de desorientação dos machos ocorreram durante o terceiro voo da praga, coincidindo com o fenómeno de exaustão de feromona nos difusores, no final de julho. O facto de 2020 ter sido um ano quente e seco, com desvios importantes em termos de temperaturas em maio e julho, assim como ocorrência de ventos fortes em junho, terá tido importância relevante na obtenção deste resultado, atendendo ao tipo de difusores

testados (passivos). A avaliação da evolução da quantidade de feromona libertada (mg/dia/ha) por ambos os difusores, permitiu verificar diferenças significativas na perda de feromona pelos difusores quando estes foram aplicados em cotas diferentes, sendo que os difusores ISONET-LTT BIO® localizados na cota mais baixa foram aqueles em que se observou o fenómeno de exaustão mais cedo.

Ambos os difusores, permitiram uma redução da intensidade do ataque de *L. botrana*, nas três gerações, com exceção de algumas parcelas que poderão ter ficado desprotegidas pelo fenómeno de perda de feromona pelos difusores, em particular em parcelas de bordadura durante o terceiro voo e terceira geração do inseto.

O difusor do tipo ISONET-LTT® foi eficaz na redução dos estragos causados pela traça-da-uva, com exceção da terceira geração, na qual se observou grande heterogeneidade de estragos, mais importantes em parcelas localizadas em bordadura e mais expostas aos fatores de orografia, presença de linhas de água e ventos dominantes. Relativamente ao difusor ISONET-LTT BIO®, os estragos foram relativamente baixos nas parcelas tratadas, embora não seja possível concluir que tal tenha sido devido exclusivamente à sua maior eficácia, uma vez que o

mesmo fenómeno foi também observado na parcela não tratada (testemunha 18), sugerindo um possível efeito de arrastamento da feromona para esta parcela.

Confirmou-se que uma vinha de encosta, com o declive, orografia e heterogeneidade das condições culturais, cria constrangimentos adicionais na manutenção da nuvem de feromona das parcelas alvo, face a vinhas planas, com condições homogêneas, onde é mais fácil a manutenção da nuvem de feromona.

A solução para este problema poderá residir na utilização de dispositivos aerossol, como o ISONET® L MisterX841 (produto ainda não autorizado em Portugal), que é um difusor do tipo “ativo”, no qual o princípio de difusão é substancialmente diferente, consistindo numa lata de alumínio pressurizada carregável com 52,1 g de feromona (acetato de (E,Z)-7,9-dodecadien-1-ilo), um solvente e um propulsor, geralmente um gás inerte. Estes difusores podem constituir uma alternativa promissora relativamente à utilização de difusores convencionais (aplicados manualmente e em altas densidades), na medida em que são aplicados à razão de 2 a 5 dispositivos por hectare, permitindo a redução do tempo e o custo de mão-de-obra, para além da diminuição do impacto ambiental causado pelo plástico. Por outro lado, estes difusores podem ser programados de forma que, em vez da libertação contínua da feromona, esta seja libertada durante os períodos de maior atividade dos adultos da praga (emissão entre as 18h00 e as 6h00). O facto de a libertação de feromona não estar dependente da temperatura, pode representar uma vantagem em climas como o da RDD, já que a quantidade de feromona libertada em cada emissão é sempre a mesma, pelo que seria oportuno e interessante que investigações futuras avaliassem a eficácia deste tipo de dispositivos na RDD. Outra solução poderá passar pelo reforço de difusores durante o mês de junho para uma melhor proteção contra a terceira geração da praga. Contudo, esta solução poderá não ser viável em termos económicos.

Por fim, o presente estudo mostrou que a aplicação do difusor biodegradável ISONET-LTT BIO® da Shin-Etsu na RDD, usado pela primeira vez na RDD apresentou resultados satisfatórios, na proteção contra *L. botrana*, apesar dos vários constrangimentos identificados. No entanto, é necessária investigação adicional para comprovar a sua eficácia em vinhas com maior área do que as que foram objeto de estudo e em anos com condições climáticas mais favoráveis ao desenvolvimento da praga, para perceber se este tipo de difusores biodegradáveis pode ser usado como método alternativo e mais sustentável de confusão sexual, por forma a reduzir os resíduos do uso da técnica no ambiente. Em relação a este último ponto, será oportuna a realização de um estudo tendo por

objetivo avaliar o grau e o tempo de degradação deste difusor nas condições da RDD.

AGRADECIMENTOS

Trabalho desenvolvido no âmbito do projeto CSinDouro, financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Rural (FEADER) e pelo Governo Português através da ação nº 1.1 “Grupos Operacionais” integrada na Medida 1” Inovação” do PDR 2020- Programa de Desenvolvimento Rural do Continente (PDR2020-101-031652 e PDR2020-101-031659); Cristina Carlos, Fátima Gonçalves, Paula Seixas e Laura Torres agradecem à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) o apoio financeiro atribuído ao CITAB (UIDB/04033/2020). Fátima Gonçalves agradece à FCT o apoio financeiro atribuído ao CIMO (UIDB/00690/2020). Os autores agradecem à CBC Iberia a disponibilização dos difusores biodegradáveis, bem como à equipa técnica da ADVID e aos técnicos da Quinta D. Matilde o apoio dado na realização dos trabalhos. Agradecem ainda à ADVID a disponibilização dos dados climáticos.

CONFLITOS DE INTERESSE: Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- ADVID, 2020. Boletim Ano Vitícola 2020. Disponível em: <https://www.advid.pt/uploads/DOCUMENTOS/Subcategoria/s/ano-vitico/Ano-viti%CC%81cola%202019-2020.pdf> (acedido em 08/02/2022).
- Aguiar A., Carlos C., Bastos M., Mexia A., 2003. Ataques de traça da uva *Lobesia botrana* em diferentes castas das regiões dos Vinhos Verdes e Douro. In: *Actas do 6º Encontro Nacional de Protecção integrada*, Castelo Branco, Portugal.
- Altindisli F.O., Ozsemerci F., Koclu T., Akkan Ü., Keskin N., 2016. Isonet LTT, a new alternative material for mating disruption of *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) in Turkey. In: *BIO Web of Conferences*, 39th World Congress of Vine and Wine, Bento Gonçalves, Brazil.
- Anfora G., Tasin M., Bäckman A.C., de Cristofaro A., Witzgall P., Ioriatti C., 2005. Attractiveness of year-old polyethylene Isonet sex pheromone dispensers for *Lobesia botrana*. *Entomol. Exp. Appl.*, **117**, 201-207.
- Carlos C., 2010. Caderno Técnico nº 4 - "A confusão sexual como meio de protecção contra a traça-da-uva na RDD". ADVID - Associação para o Desenvolvimento da Viticultura Duriense.
- Carlos C., Aguiar A., 2006. Estimativa do risco de traça da uva na RDD. Contributo para a sua aferição a nível regional. In: *Actas do 1º Encontro sobre estimativa do risco*, Castelo Branco, Portugal.
- Carlos C., Gonçalves F., Oliveira I., Torres L., 2018. Is a biofix necessary for predicting the flight phenology of *Lobesia botrana* in Douro Demarcated Region vineyards? *Crop Prot.*, **110**, 57-64.
- Carlos C., Gonçalves F., Sousa S., Nóbrega M., Manso J., Salvação J., Costa J., Gaspar C., Domingos J., Silva L., 2014. Success of mating disruption against the European grapevine moth, *Lobesia botrana* (Den. & Schiff): a whole farm

- case-study in the Douro Wine Region. *IOBC-WPRS Bulletin*, **105**, 93-102.
- Carlos C., Gonçalves F., Sousa S., Salvação J., Sharma L., Soares R., Manso J., Nóbrega M., Lopes A., Soares S., 2013. Environmentally safe strategies to control the European grapevine moth, *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) in the Douro demarcated region. *Ciência Tec. Vitiv.*, **28**, 1006-1011.
- Cibriain F., Sagüés A., Sambado P., Uriz I., Martínez A., Tres I., Aspuz J., Borja S., Abad F.J., 2020. Nuevos difusores de confusión sexual biodegradable frente a la polilla del racimo (*Lobesia botrana*): evaluación de su eficacia como método de control. *Navarra agraria*, **239**, 43-48.
- Coscollá R., 1998. Polillas del racimo (*Lobesia botrana* Den. y Schiff.). In: *Los parásitos de la vid: estrategias de protección razonada*, 29-42: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Fowler J., Cohen L., Jarvis P., 2013. Practical statistics for field biology. John Wiley & Sons, New York.
- Frescata C., Gomes C., Aires A., Oliveira M., Assunção A., 1999. Confusão sexual para limitação de *Lobesia botrana*. In: *V Encontro Nacional de Protecção Integrada*, Bragança, Portugal.
- Gavara A., Vacas S., Navarro I., Primo J., Navarro-Llopis V., 2020. Airborne pheromone quantification in treated vineyards with different mating disruption dispensers against *Lobesia botrana*. *Insects*, **11**, 289.
- Gonçalves F., Carlos C., Sousa S., Val M., Soares R., Torres, L., 2016. Confusão sexual da traça-da-uva, *Lobesia botrana*, com difusores ISONET-LTT. In: *10º Encontro Nacional de Protecção Integrada*, Beja, Portugal.
- Gordon D., Zahavi T., Anshelevich L., Harel M., Ovadia S., Dunkelblum E., Harari A.R., 2005. Mating disruption of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae): effect of pheromone formulations and concentrations. *J. Econ. Entomol.*, **8**, 135-142.
- Guerrini S., Borreani G., Voojis H., 2017. Biodegradable materials in agriculture: case histories and perspectives. In: *Soil degradable bioplastics for a sustainable modern agriculture*. 35-65. Malinconico M. (ed.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Harari A.R., Zahavi T., Steinitz H., 2015. Female detection of the synthetic sex pheromone contributes to the efficacy of mating disruption of the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. *Pest Manag. Sci.*, **71**, 316-322.
- Ioriatti C., Anfara G., Tasin M., De Cristofaro A., Witzgall P., Lucchi A., 2011. Chemical ecology and management of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ. Entomol.*, **104**, 1125-1137.
- Ioriatti C., Bagnoli B., Lucchi A., Veronelli V., 2004. Vine moths control by mating disruption in Italy: results and future prospects. *Redia-Giornale Di Zoologia*, **87**, 117-128.
- Ioriatti C., Lucchi A., 2016. Semiochemical strategies for tortricid moth control in apple orchards and vineyards in Italy. *J. Chem. Ecol.*, **42**, 571-583.
- Louis F., Schirra K.-J., 2001. Mating disruption of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in vineyards with very high population densities. *IOBC wprs Bulletin*, **24**, 75-80.
- Lucchi A., Giotti D., Bagnoli B., 2007. Efficacia della confusione sessuale contro la tignoletta. *Informatore agrario*, **17**, 58-61.
- Lucchi A., Ladurner E., Iodice A., Savino F., Ricciardi R., Cosci F., Conte G., Benelli G., 2018a. Eco-friendly pheromone dispensers - a green route to manage the European grapevine moth? *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **25**, 9426-9442.
- Lucchi A., Sambado P., Royo A.B.J., Bagnoli B., Conte G., Benelli G., 2018b. Disrupting mating of *Lobesia botrana* using sex pheromone aerosol devices. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **25**, 22196-22204.
- Maroco J., 2007. Análise estatística com utilização do SPSS. 2ª edição. Edições silabo. 822p
- Neumann U., 1995. Factors affecting the effectiveness of the mating disruption technique: principles and necessities. In: *International Conference on Integrated Fruit Production 422*, 241-246.
- Ogawa K., 1997. The key to success in mating disruption. *Bulletin OILB SROP*, **20**, 1-9.
- Pavan F., Floreani C., Barro P., Zandigiaco P., Dalla Monta L., 2013. Occurrence of two different development patterns in *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) larvae during the second generation. *Agric. For. Entomol.*, **15**, 398-406.
- Pinto A., Salvação J., Ferreira A., Nóbrega M., Nave A., Carlos C., Gomes D., Bagnoli B., Lucchi A., Torres L., Gonçalves F., 2020. Wine-baited traps to evaluate the efficacy of mating disruption against *Lobesia botrana* in Douro Demarcated Region. *IOBC - WPRS Bulletin*, **154**, 113-120.
- Rauscher S., Arn H., 1979. Mating suppression in tethered females of *Eupoecilia ambiguella* by evaporation of (Z)-9-Dodecenyl acetate in the field. *Entomologia experimentalis et applicata*, **25**, 16-20.
- Ricciardi R., Cosci F., Ladurner E., Iodice A., Savino F., Benelli G., Lucchi A., 2019. BIOOTWIN® L: new biodegradable dispensers for the control of *Lobesia botrana* (Lepidoptera, Tortricidae). *IOBC - WPRS Bulletin*, **1**, 34-34.
- Salvação J., Carlos C., Ferreira A., Nóbrega M., Fonseca G., Oliveira J., Gomes D., Soares S., Martinho A., Soares R., 2019. Geostatistical approach for spatial distribution analysis of *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.): (Lepidoptera: Tortricidae) in Douro Demarcated Region (DDR). In: *Joint Meeting of the IOBC-WPRS Working Groups "Pheromones and other semiochemicals in integrated production" & "Integrated Protection of Fruit Crops"*, 146, 57-63.
- Sauer A.E., Karg G., 1998. Variables affecting pheromone concentration in vineyards treated for mating disruption of grape vine moth *Lobesia botrana*. *Journal Chem. Ecol.*, **24**, 289-302.
- Schmitz V., Charlier L., Roehrich R., Stockel J., 1997. Etude du mécanisme de la confusion sexuelle chez l'Eudémis de la vigne, *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lep., Tortricidae) IV – Quel est le rôle de la fixation de la phéromone par le feuillage? *J. Appl. Entomol.*, **121**, 41-46.
- Schmitz V., Roehrich R., Stockel J., 1995. Disruption mechanisms of pheromone communication in the European grape moth *Lobesia botrana* Den. & Schiff. (Lep., Tortricidae) II. Influence of the population density and the distance between insects for males to detect the females in atmosphere impregnated by pheromone. *J. Appl. Entomol.*, **119**, 303-308.
- Schmitz V., Roehrich R., Stockel J., 1996. Déplacements d'adultes de *Lobesia botrana* marqués et lâchés dans un vignoble isolé. Etude de l'effet de la phéromone sexuelle synthétique sur leurs mouvements. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **30**, 67-72.
- SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.
- Stockel J., Chichignoud C., 1994. La confusion sexuelle contre les tordeuses de la vigne *Lobesia botrana* Den. et Schiff., *Eupoecilia ambiguella* Hb. vers une nouvelle stratégie de lutte. *Progrès agricole et viticole*, **111**, 347-350.

Torres-Vila L.M., Rodriguez-Molina M.C., Stockel J., 2002. Delayed mating reduces reproductive output of female European grapevine moth, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Bul. Entomol. Res.*, **92**, 241-249.

Vassiliou V.A., 2009. Control of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in vineyards in Cyprus using the mating disruption technique. *Crop Prot.*, **28**, 145-150.