

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CARLA DAIANE LEITE**

**PRODUTOS ALTERNATIVOS NO MANEJO DE DOENÇAS DA  
VIDEIRA**

**TESE**

**PATO BRANCO  
2017**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CARLA DAIANE LEITE**

**PRODUTOS ALTERNATIVOS NO MANEJO DE DOENÇAS DA  
VIDEIRA**

**TESE**

**PATO BRANCO**

**2017**

CARLA DAIANE LEITE

**PRODUTOS ALTERNATIVOS NO MANEJO DE DOENÇAS DA  
VIDEIRA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Idalmir dos Santos

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria

PATO BRANCO

2017

**L533p**

**Leite, Carla Daiane.**

**Produtos alternativos no manejo de doenças da videira / Carla Daiane Leite. – 2017.**

**71 f. : il. ; 30 cm**

**Orientador: Prof. Dr. Idalmir dos Santos**

**Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria**

**Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.**

**Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2017.**

**Bibliografia: f. 45-59**

**1. Plantas - Doenças e pragas. 2. Uva - subprodutos. I. Dos Santos, Idalmir, orient. II. Faria, Cacilda Márcia Duarte Rios, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.**

**CDD (22. ed.) 630**

Ficha Catalográfica elaborada por:  
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630  
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Pato Branco  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia**



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Título da Tese nº 032**

**PRODUTOS ALTERNATIVOS NO MANEJO DE DOENÇAS DA VIDEIRA**

por

**CARLA DAIANE LEITE**

Tese apresentada às treze horas e trinta minutos do dia treze de junho de dois mil e dezessete, como requisito parcial para obtenção do título de DOUTORA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

---

**Prof. Dr. Idalmir dos Santos**

UTFPR/Pato Branco  
Orientador

---

**Profª. Drª. Marisa de Cacia Oliveira**

UTFPR/Pato Branco

---

**Profª. Drª. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni**

UFPR/Pato Branco

---

**Prof. Dr. Gilmar Franzener**

UFFS/Laranjeiras do Sul

---

**Drª. Aline José Maia**

UNICENTRO/Guarapuava

---

**Prof. Dr. Moeses Andriago Danner**

Coordenador do PPGAG

“O Termo de Aprovação, devidamente assinado, encontra-se arquivado na Coordenação do Programa”

A Deus pelo amor;

A meu marido Wilson, a quem agradeço e amo;

Ao meu orientador Idalmir, gratidão e amizade;

Aos familiares, amigos, colegas e professores que fazem parte da  
minha vida;

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar, iluminar e permitir que seguisse em frente em busca dos meus objetivos.

Ao meu marido Vilson pelo seu imenso amor, confiança, apoio e compreensão.

A minha família, em especial minha irmã Katia, meu pai (*in memoriam*), meu cunhado e 'irmão' José Carlos, minha mama Emilia, minha mãe Edina, minha sobrinha Fernanda. Amo vocês!

Ao meu orientador Dr. Idalmir dos Santos, o qual serei eternamente grata. Obrigada pela confiança, paciência, ensinamentos acadêmicos e de vida. Você mora no meu coração!

Ao professor Dr. Renato V. Botelho, pelo incentivo financeiro e científico, fundamentais para a realização deste trabalho. Obrigada pelas palavras, correções e apoio.

A professora Dr<sup>a</sup>. Rosangela Dallemole-Giaretta pela amizade e ensinamentos. Admiro-a!

A professora Dr<sup>a</sup>. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria, pela co-orientação, confiança, ensinamentos e amizade.

Ao professor Dr. Sérgio Mazaro pela amizade e ensinamentos. Obrigada por tudo.

A minha grande amiga Elizabeth A. Koltz (Beth) que acolheu-me gentilmente em sua vida. Você é um tesouro!

A Patrícia Piacentini (Paty) pelo carinho e a gentileza em receber-me em sua moradia. Agradeço também as meninas da república.

A minha amiga Marielle M. Marcondes que é uma pessoa maravilhosa. Só no doutorado que conseguimos nos conhecer melhor. Obrigada por tudo.

A amiga Kelly Pazolini que mostrou a importância de agilidade.

A Drieli Reiner pela ajuda, companheirismo, pernoites e amizade.

Aos meus amigos Adriano Suchoronczek, Regina Lopes e Carine Rusin pelas longas discussões sobre bioquímica, pela amizade e companheirismo.

A minha amiga Carla Garcia pela ajuda, amizade e ensinamentos.

A professora Dr<sup>a</sup>. Patrícia Carla Giloni por toda paciência em esclarecer dúvidas.

Ao meu “braço direito” Marcos V. Horst agradeço pela paciência e dedicação. Esse trabalho é fruto do nosso esforço.

Ao meu querido Douglas Bortuli, por todas as vezes que ajudou-me, principalmente no preparo dos extratos e experimentos. Sempre muito gentil.

A minha querida Jessica Vanessa pela amizade e apoio nos experimentos.

A Aline José Maia pelo incentivo em cursar doutorado, pelas dicas e ensinamento na área de indução de resistência.

A parceria entre Universidade Tecnológica Federal do Paraná e Universidade Estadual do Centro Oeste no desenvolvimento deste trabalho.

A banca examinadora por compartilhar conhecimento e pelas contribuições.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

A equipe dos laboratórios de Fitopatologia na UTFPR/PB e da UNICENTRO, Guarapuava.

Enfim, agradeço a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram com para o meu crescimento pessoal e desenvolvimento desta tese.



“Antes de ser um excelente profissional seja um bom ser humano”.

Autor desconhecido

## RESUMO

LEITE, Carla Daiane. Produtos alternativo no manejo da videira. 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2017.

A busca por substâncias capazes de agir na defesa vegetal é necessária para o manejo de doenças, especialmente na vitivinicultura orgânica. Na primeira parte dos testes, avaliou-se as concentrações 0; 3; 6; 9 e 12% de extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), tratamentos padrões calda bordalesa (CB) 1% e *Saccharomyces cerevisiae* (SC) ( $1 \text{ mL L}^{-1}$ ) no controle do míldio (*Plasmopara viticola*) em discos de folhas e em plantas de videira, além da indução de  $\beta$ -1-3-glucanases e quitinase em videira e síntese de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. A composição química do bagaço de uva e o perfil cromatográfico do EABU a 12% foram determinados com objetivo de identificar compostos com possível ação contra míldio. O EABU aplicado em discos foliares, na concentração de 12%, reduziu em mais de 50% a severidade do míldio. Em condições de campo, o extrato foi eficiente de forma análoga ao tratamento padrão CB. Além disso, induziu a atividade das enzimas de defesa  $\beta$ -1-3-glucanases e quitinase 24 e 48 horas após o início dos primeiros sintomas da doença. A síntese de fitoalexinas também foi resposta ao tratamento com EABU. Os minerais identificados fósforo, enxofre, potássio, cálcio e magnésio e os compostos fenólicos ácidos gálico, cafeíco e vanílico e; os flavonóides catequina e epicatequina podem ter agido na defesa contra o míldio da videira. Na segunda parte deste trabalho, empregou-se a canola na forma de extrato aquoso (EAC) no controle do míldio da videira e como saches de farinha dessa brássica no controle do mofo cinzento *in vivo* e *in vitro* em *Botrytis cinerea*. As concentrações do EAC foram às mesmas do experimento com anterior. E, em saches utilizou-se 0; 0,8; 1,7; 2,55 e 3,4g. Constatou-se, nos dois ciclos de cultivo da videira, que o extrato prejudicou o desenvolvimento do míldio controlando entre 20 a 30% em relação ao tratamento testemunha, na concentração de 6% de extrato. A farinha de canola, possivelmente liberou compostos voláteis em todas as concentrações capazes de reduzir o crescimento micelial, produção de conídios de *B. cinerea* e o mofo cinzento em bagas de uva cv. Rubi.

**Palavras-chave:** Míldio da videira. Bagaço de uva. Indução de resistência. Mofo cinzento. Canola.

## ABSTRACT

LEITE, Carla Daiane. Alternative products for grapevine management. 71 f. Thesis (Ph.D in Agronomy) – Graduate Program in Agronomy (Concentration Área: Crop), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2017.

The search for substances capable of acting in the defense of plants is a necessity for the management of diseases in the vitiviniculture organic. In the first part of the tests, 0 concentrations were evaluated; 3; 6; 9 and 12% aqueous extract of grape marc (AEGM), standard treatments Bordeaux mixture (BM) 1% and *Saccharomyces cerevisiae* (SC) (1 mL L<sup>-1</sup>) in the control of mildew (*Plasmopara viticola*) in leaf and in vine plants, as well as the induction of  $\beta$ -1,3-glucanases and chitinase in vines and the synthesis of phytoalexins in sorghum mesocotyls. The chemical composition of the grape marc and the chromatographic profile of the AEGM at 12% were measured with a purpose of identification with anti-mildew action. The AEGM applied in foliar discs in the concentration of 12% reduced in more than 50% the severity of the mildew. In field conditions, the extract was efficient in a manner analogous to the CB standard. In addition, it induced the activity of the defense enzymes  $\beta$ -1-3-glucanases and chitinase 24 and 48 hours after the onset of the disease's first symptoms and phytoalexin synthesis. The minerals identified as phosphorus, sulfur, potassium, calcium and magnesium and the phenolic compounds galic, caffeic and vanillic acids; the catechin and epicatechin flavonoids. In the second part of this work, the *Brassica napus* in the form of aqueous extract (AEB) without control of the media and as sachets (0; 0.8; 1.7; 2.55 and 3.4g), releasing volatile compounds without raw carbon control *in vivo* and *in vitro* is used. As extract concentrations as their previous works. It was verified that the aqueous extract of *B. napus* harmed the development of mildew by controlling between 20 and 30% in relation to the control treatment, when 6% of extract was used in the two cycles of grapevine cultivation. Canola meal possibly released volatile compounds at all concentrations capable of reducing *B. cinerea* mycelial growth and conidia production as gray mold on cv. Rubi.

**Keywords:** Grape pomace. Mildew. *Brassica napus*. Induction of resistance. Gray mold.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Área abaixo da curva do progresso do míldio (AACPD) (*Plasmopara viticola*) em discos de folhas de videira cv. BRS Carmem em três repetições do experimento, testando concentrações de extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos<sup>®</sup>) e calda bordalesa (CB) 1%. \*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 30
- Figura 2** - Área abaixo da curva do progresso do míldio (AACPD) (*Plasmopara viticola*) em videira cv. BRS Carmem nos ciclos A) 2013/2014 e B) 2014/2015, utilizando concentrações de extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos<sup>®</sup>) e calda bordalesa (CB) à 1%. \*Médias seguidas da mesma letra não diferem-se estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017 ..... 31
- Figura 3** - Perfil cromatográfico do extrato aquoso de bagaço de uva obtida por CLAE-DAD a 280 nm UTFPR, Pato Branco - PR, 2017 ..... 32
- Figura 4** - Síntese de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo tratados com extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos<sup>®</sup>) e calda bordalesa 1% em dois experimentos. \*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 34
- Figura 5** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases (mg glicose<sup>-1</sup> min.<sup>-1</sup> g peso fresco<sup>-1</sup>) em videira cv. BRS Carmem cultivada em vinhedo orgânico nos ciclos 2013/2014 (A e B) e 2014/2015 (C e D) nos períodos de 24 horas e 48 horas, respectivamente, após os primeiros sintomas da doença na testemunha e aplicação dos tratamentos extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos<sup>®</sup>) e calda bordalesa (CB) 1%. \*Médias seguidas da mesma letra não diferem-se estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 35
- Figura 6** - Atividade de quitinase (Abs min.<sup>-1</sup> g peso fresco<sup>-1</sup>) em videira cv. BRS Carmem nos ciclos A e B) 2013/2014 e C e D) 2014/2015 nos períodos de 24 horas e 48 horas, respectivamente, após os primeiros sintomas da doença na testemunha e aplicação dos tratamentos extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos<sup>®</sup>) e calda bordalesa à 1%. <sup>ns</sup> não significativo; \*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 37
- Figura 7** - Área abaixo da curva do progresso do míldio (AACPD) (*Plasmopara viticola*) em videira cv. BRS Carmem cultivada em vinhedo orgânico tratada com concentrações crescente de extrato aquoso de canola (EAC) nos ciclos 2013/2014 e 2014/2015. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017. .... 39
- Figura 8** - Crescimento micelial de *B. cinerea* (cm) submetido à presença de compostos voláteis proveniente de diferentes concentrações de farinha de canola (g). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 40
- Figura 9** - Produção de conídios de *B. cinerea* submetido à presença de compostos voláteis proveniente de diferentes concentrações de farinha de canola. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 41
- Figura 10** - Severidade do mofo cinzento em bagas de uva cv. Rubi submetidas em compostos voláteis de saches de canola. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017..... 42

## LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

EABU	Extrato Aquoso de Bagaço de Uva
EAC	Extrato Aquoso de Canola
AACPD	Área Abaixo da Curva do Progresso de Doença
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization
GLSs	Glucosinolatos
ITCs	Isotiocianatos.

## LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
µm	Micrometro
mL	Mililitro
L	Litro
mg	Miligrama
g	Gramma
mm	Milímetro
h	Hora
rpm	Rotação por minuto
min.	Minuto
pH	Potencial hidrogeniônico
nm	Nanômetro
p:v	Peso:volume
µL	Microlitro
µg	Micrograma
U	Unidade
Abs	Absorbância
Atm	Atmosfera
Cu SO <sub>4</sub>	Sulfato de cobre
H <sub>2</sub> O	Água
Ca (OH) <sub>2</sub>	Hidróxido de cálcio
K	Potássio
Ca	Cálcio
S	Enxofre
N	Nitrogênio
P	Fósforo
Mg	Magnésio
cv.	Cultivar
sp.	Espécie
T	Tonelada

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\Sigma$   
®

Somatório  
Marca registrada

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>5</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>7</b>
2.1 A cultura de videira cv. BRS Carmem e cv. Rubi.....	7
2.2 Míldio da videira ( <i>Plasmopara viticola</i> ) .....	7
2.2.1 Sintomatologia.....	8
2.2.2 Etiologia e Epidemiologia .....	8
2.3 Principais medidas de controle do míldio da videira.....	10
2.4 Mofo cinzento ( <i>Botrytis cinerea</i> ).....	11
2.4.1 Sintomatologia.....	11
2.4.2 Etiologia e Epidemiologia .....	12
2.5 Principais medidas de controle do mofo cinzento .....	13
2.6 O uso de subprodutos da vitivinicultura no manejo de doenças de plantas .....	13
2.7 Utilização de brássicas no controle de doenças de plantas.....	14
2.8 Indução de resistência em plantas por extratos vegetais .....	17
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
3.1 Obtenção de bagaço de uva e farinha de canola.....	20
3.2 Preparo dos tratamentos .....	20
3.3 Caracterização química do bagaço de uvas e perfil cromatográfico do extrato aquoso de bagaço de uva .....	21
3.4 Efeito do extrato aquoso de bagaço de uva no controle do míldio em discos de folhas de videira cv. BRS Carmem .....	22
3.5 Produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo tratados com extrato aquoso de bagaço de uva.....	23
3.6 Extrato aquoso de bagaço de uva no controle do míldio em videira cv. BRS Carmem.....	24
3.7 Atividade de $\beta$ -1,3-glucanases (EC 3.2.1.39) e quitinase (E.C. 3.2.1.14) videira tratadas com extrato aquoso de bagaço de uva .....	25
3.8 Extrato aquoso de canola no controle do míldio da videira cv. BRS Carmem.....	26
3.9 Compostos voláteis de farinha de canola no controle <i>in vitro</i> de <i>Botrytis cinerea</i> e no mofo cinzento em bagas de uva cv. Rubi.....	26
3.10 Análise estatística .....	28
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>29</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>43</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>44</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>45</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de técnicas de manejo fitossanitário adequado, a partir de produtos que contenham substâncias ativas com diferentes mecanismos de ação, deve ser avaliada em sistemas de produção agrícola, principalmente na vitivinicultura orgânica que adota técnicas específicas sustentáveis.

Os oomicetos e os fungos representam a mais importante classe de patógenos causadores de doenças em videira (DOREY et al., 2014), destacando-se *Plasmopara viticola* e *Botrytis cinerea*, como agentes causadores do míldio e mofo cinzento, respectivamente. Essas doenças são responsáveis por danos na vitivinicultura mundial, afetando tanto a qualidade quanto a produção de uvas e, conseqüentemente, vinhos e sucos (AGRIOS, 2005).

O controle do míldio e do mofo cinzento ocorre, principalmente, via aplicação de fungicidas sintéticos (AMORIM et al., 2016) que podem ocasionar a seleção de microrganismos e impactar negativamente ao meio ambiente, a economia e a saúde humana (GHINI; KIMATI, 2000; BETTIOL; GHINI, 2003). Segundo Chavarria; Dos Santos (2013) existem regiões do Brasil, como no Estado do Paraná, onde são realizadas até 60 aplicações de fungicidas em uvas *Vitis vinifera* durante dois ciclos por ano. Em busca da sustentabilidade agrícola, nos últimos anos, a pesquisa estuda substâncias promissoras para o manejo de doenças.

O bagaço de uva ou subproduto da uva (sementes, cascas e engaços da uva) apresenta substâncias relacionadas à defesa vegetal (OLIVEIRA et al., 2016), como resveratrol, ácido linoléico, ácido palmítico, entre outras (CAMPOS, 2005; SILVÁN et al., 2013). O potencial deste resíduo vegetal como fungicida natural quanto propriedades nutracêuticas é atribuído, principalmente, aos compostos bioativos estilbenos que muitas vezes são desperdiçados mundialmente (GUERRERO et al., 2016)

A ação contra microrganismos foi verificada no setor alimentício, quando o extrato de uva inibiu o crescimento *in vivo* e *in vitro* de leveduras *Zygosaccharomyces rouxii* e *Z. bailii* (SAGDIC et al., 2011). No cenário agrícola, o bagaço de uva incorporado ao solo controlou fitonematoides (ALBUQUERQUE et al,

2001; NICO; JIMÉNEZ-DÍAZ; CASTILHO, 2004; REINER et al., 2016) e extratos de bagaço de uva de mistura de cultivares chilenas indicaram atividade antifúngica quando aplicados *in vitro* em patógeno de pós-colheita de uva (MENDOZA et al., 2013). Em condições de campo, o bagaço ou outro subproduto da indústria vinícola ainda é pouco estudado no manejo de doença, em especial contra doenças de parte aérea da videira.

Outro recurso vegetal com potencial fitossanitário é aquele derivado de espécies de Brassicaceae, atribuído pela presença de compostos com propriedades antimicrobianas quando aplicados em solos, sementes, plantas e pós-colheita de frutas (DE CORATO et al., 2015) sob diferentes formas de utilização. Os compostos com ação antimicrobiana presentes em brássicas são substâncias sulfuradas (NEVES et al., 2007), isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos e oxazolidinotona (MORRA; BOREK, 2010; AL-GENDY et al., 2010), sendo os voláteis amplamente utilizados como agentes biofumigantes (SERRANO-PÉREZ et al., 2017). No entanto, há poucos estudos sobre a ação de canola no manejo de doenças de parte aérea de videira e em pós-colheita de uva.

Neste contexto, o bagaço de uva, muitas vezes desperdiçado, e brássicas, de fácil aquisição, podem ser matéria-prima para o controle alternativo de doença de videira. Com isso o objetivo do trabalho foi avaliar o extrato aquoso de bagaço de uva no manejo do míldio (*P. viticola*) e na indução de resistência de videira cv. BRS Carmem, além da ação do extrato aquoso de canola controle do míldio e o emprego dos compostos voláteis de farinha de canola em sachês na pós-colheita de uva cv. Rubi contra mofo cinzento (*B. cinerea*).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A cultura de videira cv. BRS Carmem e cv. Rubi

A diversidade da vitivinicultura mundial é caracterizada por uvas finas (*Vitis vinifera*), uvas americanas (*V. labrusca* e outras espécies) e uvas híbridas. Entre as cultivares de uva tem-se aquelas destinadas, principalmente, para o consumo *in natura*, indústria cosmética e processamento que origina vinhos, suco e outros. Neste contexto, destaca-se a videira cv. BRS Carmem para a produção de sucos e a cv. Rubi para o consumo *in natura* (CAMARGO et al., 2011).

A videira cv. BRS Carmem foi desenvolvida pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), a partir do cruzamento entre cv. Muscat Belly A x H 65.9.14: cv. BRS Rúbea, resultando em ciclo tardio, boa fertilidade, sabor e cor de mosto. Tornou-se uma cultivar interessante devido à ampliação do período de processamento, melhoria da qualidade do suco de uva na região Sul do Brasil e a tolerância as principais doenças (CAMARGO, et al., 2010; CAMARGO et al., 2008), podendo ser uma alternativa para a viticultura orgânica com finalidade de fabricação de suco de uva (PROTAS; CAMARGO; MELO, 2002).

A cv. Rubi (*Vitis vinifera* L.) é uma importante uva fina de mesa brasileira. Oriunda de mutação somática da videira cv. Itália, diferindo-se apenas pela coloração rosada da película das bagas. Essa tonalidade pode variar de acordo a amplitude térmica ocorrida durante o período de maturação, ou seja, com temperaturas quentes durante o dia e frias durante a noite. A aplicação de produtos como ethephon e adubos a base de potássio podem influenciar a coloração da uva (NACHTIGAL; CAMARGO, 2005; POMMER et al., 2003).

### 2.2 Míldio da videira (*Plasmopara viticola*)

Originário da América do Norte, o míldio da videira, também conhecido por mofo ou mufa, é uma doença destrutiva em países produtores de uva. Reduzindo em até 75% a produção dessa fruta, quando não ocorre controle e as condições são favoráveis ao patógeno (AMORIM et al., 2016). Os danos

ocasionados pelo míldio podem ser tanto a curto quanto em longo prazo, visto que as safras subseqüentes ao ataque do patógeno podem ser comprometidas, devido ao enfraquecimento da planta e desfolha (GALLOTTI; GRIGOLETTI JUNIOR; SÔNEGO, 2002).

### **2.2.1 Sintomatologia**

O míldio pode lesionar toda a parte aérea verde da videira, sendo os tecidos jovens mais suscetíveis. Nas folhas, observa-se pontos de coloração verde-clara, ocasionado pelo encharcamento do mesófilo, denominado o sintoma de "mancha de óleo", identificada pelo aspecto translúcido desse órgão com bordas indefinidas, quando visualizado contra a luz (AMORIM et al., 2016).

Na face abaxial das folhas, em condições de alta umidade relativa (> 95%), observa-se uma eflorescência branca, densa, aspecto cotonoso formado pelo micélio, esporangióforos e esporângios (frutificação do patógeno). Na face adaxial das folhas, as manchas tornam-se circulares com coloração amarela que evoluem para lesões avermelhadas que coalescem em bordas indefinidas até a necrose foliar. Geralmente, a severidade diferencia-se entre cultivares de videira, entretanto a queda de folhas doentes reduz os açúcares das bagas e a produtividade do próximo ciclo da videira (BURRUANO, 2000; BEDENDO, 2011; AMORIM et al., 2016).

Nas inflorescências infectadas ocorre o escurecimento da ráquis, podendo ainda haver a massa branca pulverulenta, seguido do secamento e queda dos botões florais. Em bagas desenvolvidas, o patógeno infecta pelos pedúnculos tornando-as escuras, duras, com superfícies deprimidas, resultando na queda das mesmas. Este sintoma nesta fase de desenvolvimento é denominado de "míldio larvado" ou "grão preto" (POMMER et al., 2003).

### **2.2.2 Etiologia e Epidemiologia**

*Plasmopara viticola* ((Berkeley & M. A. Curtis Berleses & De Toni, 1888)) é um parasita obrigatório pertencente ao Reino Chromista, Classe Oomycetes, Ordem Perosporales, Família Peronosporaceae que apresentam parede

celular constituída de  $\beta$ -glucana, celulose e aminoácido hidroxiprolina. A síntese de lisina ocorre pela via do ácido diaminopimélico e a laminarina é o principal composto de reserva, entre outras características (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2011).

Nos tecidos do hospedeiro, o oomiceto *P. viticola* cresce intercelularmente, via hifas cenocíticas (8-10  $\mu\text{m}$  de diâmetro) que emitem haustórios globosos no interior da célula atacada. A reprodução assexual ocorre a partir de estômatos ou lenticelas, onde são emitidos esporangiósforos (140-250  $\mu\text{m}$ ) geradores de esporângios (14 x 11  $\mu\text{m}$ ) ovalados e hialinos (AMORIM et al., 2016). Temperatura entre 20 e 25 °C, umidade ótima acima de 95% e a presença de água livre por um período mínimo de duas horas no escuro ocorre a reprodução assexual, iniciando novo ciclo de vida do patógeno (SÔNEGO; GARRIDO; GRIGOLETTI JUNIOR, 2005).

Os esporângios produzem vesículas que diferenciam em 1 a 10 zoósporos biflagelados (6 a 8 x 4 a 5  $\mu\text{m}$ ). Ao romper-se ocorre a liberação de zoósporos que nadam em meio líquido sobre o tecido vegetal, estimulados por exsudados liberados pelo hospedeiro. Nessa ocasião, os zoósporos podem perder os flagelos e germinar. O progresso da colonização do patógeno resulta em formação de novos zoósporos (SÔNEGO; GARRIDO; GRIGOLETTI JUNIOR, 2005; BURRUANO, 2000).

A fase sexuada do oomiceto ocorre no interior de tecido vegetal, principalmente em folhas, que durante o inverno, quando o solo atinge 10 °C e precipitação acima de 10 mm, tais tecidos decompõem liberando oósporos (estrutura de sobrevivência) disseminados pelo vento, respingos de chuva e/ou de irrigação. Na presença de água, os oósporos germinam formando tubo germinativo contendo esporângio piriforme capaz de produzir 30-56 zoósporos, ocorrendo assim à infecção primária. No Brasil, a sobrevivência ocorre via micélio no interior de tecidos vivos (BEDENDO, 2011; AMORIM et al., 2016).

O ciclo de vida do patógeno completa-se em quatro dias, quando há condições favoráveis e presença do hospedeiro suscetível, podendo ocorrer infecções secundárias (SÔNEGO; GARRIDO; GRIGOLETTI JUNIOR, 2005; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2011). A severidade do míldio tem relação direta com o número de horas diárias com umidade relativa do ar maior que 90% e duração do

molhamento foliar diário (GENTA et al., 2010).

### 2.3 Principais medidas de controle do míldio da videira

O míldio da videira é referência nos primórdios do controle químico de doenças em plantas devido a descoberta da calda bordalesa ( $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O} + \text{Ca}(\text{OH})_2$ ) ocorrida no século 19 (AMORIM; KUNIYUKI, 2005; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2011). Sendo que até hoje, este fungicida é permitido, inclusive, na agricultura orgânica brasileira (BRASIL, 2003). Amplamente utilizado, pode ocasionar pressão de seleção de microrganismos, contaminação de solo, de água e em seres humanos pode causar câncer e até mesmo a morte (ANDREAZZA et al., 2013), como constatado por Casali et al. (2008) ao apontarem o aumento do teor total de cobre nas camadas com 20–40 cm de solos de vinhedos da Serra Gaúcha. A calda bordalesa pode causar fitotoxidez em partes jovens da videira, apesar de que mantém as folhas verdes por mais tempo (AMORIM et al., 2016).

Além da calda bordalesa, geralmente, utilizam-se produtos químicos sintéticos para o controle do míldio, que, segundo Garrido et al. (2004), pode necessitar entre 12 a 20 pulverizações por ano, podendo chegar até 60, em regiões tropicais. Produtos empregados pelos produtores de uva são fungicidas de contato (imóveis) e sistêmicos ou a mistura desses. A despesa com a aplicação de produtos químicos pode representar até 30% do custo de produção da uva brasileira (SÔNEGO; GARRIDO; GRIGOLETTI JUNIOR, 2005) e causar resistência de patógenos (PERUCH et al., 2007).

A integração entre medidas de controle do míldio, tais como espaçamento e poda de inverno e/ou verde (reduz o molhamento foliar), evitar o plantio em baixadas e em solos mal drenados, adubações adequadas, cultivares resistentes (*V. vinifera* são mais suscetíveis ao míldio em relação americanas ou híbridas) (GARRIDO; SÔNEGO, 2007; REBENDO, 2011; BOSO et al., 2014).

O cultivo protegido na cultura da videira apresenta-se como uma alternativa de manejo do míldio, principalmente em regiões que apresentam excesso de chuvas (CHAVARRIA; DOS SANTOS, 2013).

Produtos alternativos como óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus*

*officinalis*), extrato de cinamomo (*Melia azedarach*), quitosana, fosfito de potássio demonstraram eficazes no controle do míldio da videira cv. Isabel (*V. labrusca*) e Merlot (*V. vinifera*) (MAIA et al., 2014a; MAIA et al., 2014b; PEREIRA et al., 2012; LEITE et al., 2011; SILVA et al., 2012; MAIA et al., 2010). Em teste *in vitro*, os zoóporos de *P. viticola* tiveram sua motilidade afetada por substâncias oriundas do metabolismo celular de extrato de fungo endofítico *Phomopsis* sp. CAFT69 e pela presença de compostos fenólicos da planta *Endodesmia calophylloides* (TALONTSI et al., 2012).

A utilização de recursos renováveis de origem vegetal no manejo do míldio da videira foi evidenciada por Mulholland et al. (2017) ao testarem extrato de casca de espécies florestais.

## **2.4 Mofo cinzento (*Botrytis cinerea*)**

O gênero *Botrytis* causa doença em hortaliças, ornamentais e frutos, ocorrendo com frequência em ambientes úmido. A doença pode ser causar *damping-off* em plântulas, além de frutos, folhas, tubérculos e em bulbos gerar podridões (AGRIOS, 2005).

Na videira, denomina-se de mofo cinzento, podridão cinzenta ou podridão de botritis, sendo que assume importância em bagas de uva por influenciar a qualidade de vinhos por afetar compostos fenólicos (KY et al., 2012; DOREY et al., 2014). É considerada uma doença de pós-colheita caracterizada pela podridão de frutos, devido à destruição de tecido vegetal agredidos pela ação de enzimas e toxinas (BLUM et al., 2006).

### **2.4.1 Sintomatologia**

A doença pode manifestar-se em folhas, ramos e inflorescências, porém os danos mais severos ocorrem nos cachos, sendo que a deterioração dos frutos pode ser na pré e/ou pós-colheita (AMORIM et al., 2016).

O sintoma típico do mofo cinzento da videira é a podridão do cacho coberta por uma massa de esporos cinza-esverdeada em extensão variável nas

bagas de uva (AMORIM et al., 2016). Inicialmente ocorrem manchas circulares de coloração lilás que, posteriormente, tornam-se pardas. Em condições favoráveis de umidade, o fungo se desenvolve na polpa, consumindo os açúcares e emitindo órgãos de frutificação que podem recobrir toda a baga, formando uma massa de conídios (NAVES et al., 2005).

#### 2.4.2 Etiologia e Epidemiologia

O agente causal do mofo cinzento é o fungo necrotrófico *Botrytis cinerea* Pers., pertencente ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Subfilo Pezizomycotina, Classe Leotiomycetes, Subclasse Leotiomycetidae, Ordem Helotiales, Família Sclerotiniaceae, Gênero *Botrytis*, Espécie *Cinerea*. A fase teleomórfica é denominada de *Botryotinia fuckeliana*, que até o momento, não existe relato de sua ocorrência no Brasil (AMORIM et al., 2016).

O gênero *Botrytis* apresenta produção de micélio acinzentado, composto por hifas e conidióforos ramificados contendo no ápice conídios unicelulares, ovóides, incolores ou acinzentados (TÖFOLI et al., 2011). Em tecidos infectados e condições desfavoráveis, o patógeno produz escleródios negros, duros e irregulares, capazes de produzir hifas e conídios, que podem penetrar diretamente o hospedeiro. Em condições específicas, esses escleródios podem, também, produzir apotécios dos quais se originam os ascósporos. A disseminação dos conídios ocorre pelo ar, água e fruto a fruto (BLUM, 2006). As condições ótimas para o desenvolvimento do patógeno são temperaturas amenas entre 15 a 20 °C e alta umidade (AMORIM et al., 2016).

A infecção na floração ocorre quando o fungo permanece latente até a maturação do fruto (AMORIM et al., 2016). A invasão precoce ocorre através de receptáculo de flor e, em menor extensão, estigma e estilos. Os mecanismos de infecção são via penetração direta do micélio no hospedeiro ou em lesões, o qual permanece em estado de latência até a maturação dos frutos (VIRET et al., 2004). O fungo causa alterações metabólicas nos tecidos atacadas, devido à produção de enzimas pectinolíticas, cutinolíticas e celulolíticas para infectar as plantas (HARMAN, 2000).

Os tecidos necróticos de cachos de uva, atacada por *B. cinerea*,



representam importante fonte de inóculo para safra posteriores de uva (CALVO-GARRIDO et al., 2014).

## **2.5 Principais medidas de controle do mofo cinzento**

O controle do mofo cinzento deve ser priorizado a partir de técnicas do manejo integrado de doenças, aplicadas, se possível, preventivamente, entre as quais destaca-se maior espaçamento entre plantas, níveis adequados de irrigação e nutrição para evitar situações de estresse para as plantas e a aplicação de fungicidas (TÖFOLI et al., 2011), boa disposição espacial dos ramos sobre o aramado e poda verde (desbrota, desnetamento, desfolha, desponete, etc.), colheita de todos os cachos para que não mumifiquem na planta, prevenção de ferimentos e retirada de restos culturais infectados do campo (NAVES et al., 2005). Estes autores enfatizam que os fungicidas devem ser pulverizados no final da floração, antes da compactação dos cachos e mudança de cor da uva.

Na pós-colheita, as medidas de controle do mofo cinzento são restritas, sendo o controle biológico a ferramenta mais aceita apesar de pouco utilizada (AGRIOS, 2005).

A aplicação de compostos voláteis oriundo de plantas de interesse para a indústria alimentícia é estudada para o manejo de doenças de pós-colheita. O controle de *B. cinerea in vitro* e do mofo cinzento em morangos foi observada por Aguilar-González et al. (2015) quando vaporizou-se óleo de *Brassica nigra*, efeito similar propiciado pelos óleos essenciais de plantas medicinais (TZORTZAKIS; ECONOMAKIS, 2007; LORENZETTI et al., 2011).

## **2.6 O uso de subprodutos da vitivinicultura no manejo de doenças de plantas**

A produção brasileira de uva, estimada em 2014, foi de 1.454.183 toneladas distribuída em 78.765 ha (FAO, 2017). Cerca da metade da produção de uva é destinada para a elaboração de vinhos e sucos que geram resíduos ou subprodutos, entre os quais tem-se o bagaço de uva (sementes, cascas e engaços) (PERIN; SCHOTT, 2011; MELLO, 2013).

O resíduo ou subproduto de uva é produzido a partir da prensagem de uvas realizada na transformação de vinhos e sucos ou após a fermentação na produção de vinho tinto, com rendimento de aproximadamente 18% da uva processada (MENDOZA et al., 2013).

Na composição de bagaço pode-se encontrar nutrientes, como o potássio (BUSTAMANTE et al., 2008), flavonóides como a catequina, epicatequina e quercetina e os ácidos fenólicos gálico, cafeíco, e cumárico, além do estilbeno trans-resveratrol, e dos ácidos graxos linoléico, palmítico, entre outros compostos (ZAGKLIS; PARASKEVA, 2015; KARLING et al., 2017).

Compostos oriundos do bagaço de uva são considerados bactericidas (SILVÁN et al., 2013), fungicidas naturais (GUERRERO et al., 2016), mas também amplamente explorados pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas devido a características antioxidantes (MELO et al., 2011), como observado por Rockenbach et al. (2011) em extrato de sementes e de cascas de *Vitis vinifera* e *V. labrusca*.

Nesse contexto, a utilização de bagaço de uva pode ser apontada como uma perspectiva importante no manejo de videira, uma vez que a ação de seus componentes, como ácidos fenólicos e flavonóides, já foi evidenciada contra bactérias patogênicas ao homem (CHENG, 2012; OLIVEIRA, 2013) e ação nematicida na aplicação via solo no controle de fitonematoides (SPANGHERO, 2009; RIVERA; ABALLAY, 2008; ALBUQUERQUE et al., 2001; D'ADDABO; SASANELLI, 1998), como observado por Reiner et al. (2016) pela ação nematicida contra *Meloidogyne javanica in vitro* e em casa de vegetação.

## **2.7 Utilização de brássicas no controle de doenças de plantas**

As brássicas são consideradas plantas biocidas no manejo de pragas, plantas daninhas e patógenos. Essa característica promissora para o setor agrícola é atribuída à síntese de compostos que ocorrem naturalmente no metabolismo secundário das plantas. O grupo de metabólitos, presente na família das Brassicaceae, são denominados de glucosinolatos (GLSs) que são glicosídeos sulfurados (AVATO et al., 2013; D'ADDABBO et al., 2014), podendo ser utilizados como extrato, planta ou pó oriundo de diferentes partes da planta.

Na literatura, há sugestão de vários tipos de uso de plantas, sendo o uso de extratos clássico, o qual recebe diferentes denominações em função do método de obtenção. Geralmente, utiliza-se o extrato bruto aquoso (obtido por maceração, infusão ou decocção) ou alcoólico (tintura ou maceração) ou óleo essencial (SCHWAN-ESTRADA et al., 2012).

A concentração de GLSs varia de acordo com estágio fenológico da planta, assumindo papel importante na defesa vegetal (VELASCO et al., 2007), sendo disponíveis em maior proporção quando o tecido vegetal de sementes, de folhas ou de raízes de brássicas são rompidos e ocorre a atuação da enzima mirosinase (tioglucosidase, EC 3.2.1.147) que hidrolisa o GLSs, presente em vacúolos, gerando os isotiocianatos (ITCs), nitrilas e tiocianatos (ANDERSSON et al., 2009; MORRA; BOREK, 2010; AL-GENDY et al., 2010).

Nas brássicas oleaginosas há GLSs mensurado em 7,1 vezes mais que outra planta, entretanto a concentração deste composto varia em função de condições adversas, solo, temperatura, adubação, pH, etc (VELASCO et al., 2007; VELASCO et al., 2008). A ação biocida, conforme constatado por Vervoort et al. (2014), as condições do solo podem influenciar o efeito nematicida de ITCs.

A família de Brassicaceae é estudada mundialmente no manejo de patógenos habitante de solo, onde compostos fungitóxicos são liberados pela decomposição de brássicas em ambiente úmido, no entanto, existem diferenças quanto a qualidade e quantidade desses compostos (AMBRÓSIO et al., 2009), visto que pode-se tratar de diferentes espécies de planta (canola, brócolis, couve, couve-flor, colza, mostarda ou rábano). A produção de compostos voláteis fungitóxicos é capaz de inviabilizar as estruturas de resistência de fitopatógenos habitante de solo (AMBROSIO et al., 2008).

A biofumigação do solo via a incorporação de matéria orgânica no solo, principalmente com resíduos de brássicas, ricas em enxofre e nitrogênio, liberam substâncias tóxicas que potencializa a ação contra patógenos habitantes de solo, suprimindo estruturas de resistência, como observado por Serrano-Pérez et al. (2017) em clamidósporos de *Phytophthora nicotianae*. Interessante salientar que esta prática agrícola atua em sinergia com agentes de controle biológico conforme evidenciado em experimento que avaliou a biofumigação da parte aérea de *Brassica*

*juncea* associado à aplicação de *Trichoderma* spp. no manejo de *Fusarium graminearum* (PERNIOLA et al., 2014), maximizando o desempenho da população de Actinomyces do solo (ASCENCION et al., 2015).

A solarização do solo associada com brócolis (*B. oleracea* var. *italica* L.) afetou a sobrevivência dos fungos *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* Raça 2, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI e *Sclerotium rolfsii* (AMBRÓSIO et al., 2009). A decomposição do brócolis produz compostos voláteis pertencente ao grupo de cetonas, alcoóis, ésteres, ácidos e sulfurados (BASSETO et al., 2012) que podem ter ação contra patógenos.

Handiseni et al. (2013) identificou que a farinha de semente de *B. juncea*, *B. napus* e *Sinapis alba* reduziu significativamente a infecção de *R. solani* em trigo (*Triticum aestivum* L.). Além desse efeito, a farinha destas brássicas pode liberar aleloquímicos biologicamente ativos eficientes no manejo fitossanitário em geral (YU; MORISHITA, 2014; SALVADOR et al., 2016).

O extrato aquoso de mostarda (*B. juncea*) associado à termoterapia controlou o podridão-parda (*Monilinia fructicola*) análogo ao fungicida, fato confirmado pela baixa produção de conídios do patógeno, quando comparado com a testemunha (PAZOLINI et al., 2016).

Os compostos voláteis de brássicas têm papel importante no contexto de doenças de plantas, devido a presença de vários compostos fungitóxicos, entre os quais tem-se os fenólicos (KHALIQ et al., 2011).

O emprego de compostos voláteis de brássicas foi utilizado com sucesso em microrganismos causadores de doenças em humanos, conforme evidenciado por Lin et al. (2000) ao comprovar a ação do isotiocianato de alila vaporizado contra *Salmonella montevideo*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. A vaporização e contato direto de extrato de *B. nigra* inibiu o crescimento de fungos em 30 dias de *Aspergillus niger*, *A. ochraceus* ou *Penicillium citrinum* (MEJÍA-GARIBAY et al., 2015).

Os ITCs podem apresentar comportamento distinto entre brássicas, como confirmado por SERRANO-PÉREZ et al. (2017) ao utilizar biofumigação de *B. carinata*, *Sinapis alba* e *B. oleracea* no crescimento micelial de *Phytophthora nicotianae*. Por outro lado, os ITCs volatilizados têm ação fungitóxica contra o mofo

cinzento (MARI et al., 2014).

A vaporização de óleo de *B. nigra* controlou *B. cinerea in vitro* e do mofo cinzento em morangos, possivelmente atribuído a 98,42% de isotiocianato de alila (AGUILAR-GONZÁLEZ et al., 2015).

Atmosfera enriquecida com 5 mg L<sup>-1</sup> de ITCs durante 24 horas foi fungitóxica para *Penicillium expansum* em peras, destacando esse composto volátil no manejo de patologias em pós-colheita alternativo aos fungicidas sintéticos (MARI et al., 2002).

Segundo Mazumder et al. (2016) a atividade biológica conhecida dos GLSs é muito limitada e, por conseguinte, outros estudos ainda precisam ser conduzidos para melhor entendimento deste promissor composto para agricultura mundial.

Em patossistemas de doenças de parte aérea, tem-se relato que o oídio (*Podosphaera fuliginea*) em cucurbitáceas foi controlado após aplicação de extrato de canola (*B. napus*) (PIVA, 2013).

Uma abordagem inovadora para o manejo de doenças de pós-colheita, com menor impacto na saúde dos consumidores e meio ambiente, é a aplicação de compostos voláteis oriundos de espécie vegetais. Visto que essa técnica é aplicada com sucesso quando utiliza-se brássicas no controle de patógenos habitante de solo via biofumigação (MOCCELLIN, 2011).

## **2.8 Indução de resistência em plantas por extratos vegetais**

Os extratos de plantas ou outros compostos podem ativar mecanismos de defesa que se encontram em forma latente na planta, protegendo contra infecção subsequente por patógenos devido a fatores como compostos fenólicos, fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese (STANGARLIN et al., 2011).

As plantas estão expostas ao ataque de fitopatógenos e por não possuírem sistema imunológico, como os animais, desenvolveram ao longo do processo evolutivo mecanismos de defesa natural em respostas a diferentes estresses bióticos ou abióticos (TAIZ; ZEIGER, 2013; SILVA et al., 2008). Esses mecanismos podem permanecer latentes até ativação via aplicação de elicitores

(MANDAL, 2010).

De maneira geral, os mecanismos de defesa vegetal podem ser estruturais e/ou bioquímicos pré ou pós-formados com respostas que variam entre os patossistemas (SILVA et al., 2008).

Os mecanismos de defesa estruturais ou físicos são caracterizados por barreiras físicas à penetração e/ou colonização do patógeno. Os mecanismos bioquímicos de resistência das plantas são divididos em pré-formados ou pós-formados, presentes e/ou acumuladas como substâncias em concentrações adequadas. Os pré-formados são fenóis, alcalóides, lactonas, terpenos, proteínas e peptídeos. E, pós-formados são glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fitoalexinas e enzimas hidrolíticas (ex: quitinase,  $\beta$ -1-3-glucanases) (PASCHOLATI, 2008), sendo capazes de inibir o desenvolvimento do patógeno ou gerar condições adversas para a sobrevivência no hospedeiro (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

As proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas)  $\beta$ -1-3-glucanases e quitinase são proteínas de baixo peso molecular, estáveis, termoestáveis e altamente resistentes a proteases, presentes na célula vegetal e estimulada via resistência sistêmica adquirida (RSA) (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999). Os principais mecanismos de ação das PR-proteínas baseiam-se na hidrólise sobre a parede celular, permeabilidade da membrana plasmática, toxicidade direta e na sinalização de defesa (STANGARLIN et al., 2011). Ou seja, enzimas com atividade hidrolítica, devido à hidrólise da quitinase em quitina (polímero N-acetilglucosamina) e  $\beta$  1,3-glucanases em  $\beta$  1,3-glucana (PASCHOLATI, 2008).

O mecanismo bioquímico de defesa vegetal é governado a partir do reconhecimento do agente agressor identificado por padrões moleculares associados aos microrganismos mediado por genes, que traduzem o sinal ocorrendo a resposta de defesa (PASCHOLATI, 2008). O patógeno libera substâncias por ele sintetizadas, permitindo o reconhecimento pelo hospedeiro. Simultaneamente ocorre a transdução desse reconhecimento ou sinal resultando extensa reprogramação do metabolismo celular vegetal, envolvendo mudanças na atividade gênica (WALTERS et al., 2007), ativando tanto o mecanismo bioquímico quanto o estrutural.

Microrganismos filamentosos, como é o caso do agente causal do míldio da videira, secretam várias proteínas que permitem a infecção, porém a

planta identifica tal processo e traduz como um sinal que pode ativar seus mecanismos de defesa (CHALFOUN et al., 2014; ALI et al., 2012). Conforme verificado por Perazzolli et al. (2008) ao aplicarem um agente de controle biológico *Trichoderma harzianum* T39 que induziu resistência sistêmica em plantas videira contra míldio em casa de vegetação.

Maia et al. (2014a; 2014b) verificaram que os óleos essenciais de alecrim e capim-limão induziram resistência pela ativação de quitinase em folhas de videira submetida ao tratamento em campo contra míldio.

Os nutrientes podem agir como sinalizadores para indução de resistência. Para o manejo do míldio, destaca-se compostos a base de potássio, como é o caso do fosfito de potássio que proporcionou aumento da atividade de peroxidase, quitinase e polifenoloxidase reduzindo a severidade de míldio (PEREIRA et al., 2012). Outro benefício do fosfito foi promover o aumento de 24% no comprimento dos cachos de videira cv. Isabel, além de incrementar em 60% o teor de sólidos solúveis totais em relação à testemunha (PINTO et al., 2013).

A resposta de defesa vegetal pode ocorrer através de fitoalexinas (LO; NICHOLSON, 2008), o que entende-se como resposta localizada a infecções microbianas, causando oclusões citoplasmáticas próximas ao local de tentativa de penetração do patógeno (PASCHOLATI, 2008). A síntese de fitoalexinas *in vitro*, estimulada a partir de aplicação de substâncias elicitoras, pode ser avaliada em mesocótilos de sorgo e cotilédones de soja como plantas indicadores (MATIELLO; BONALDO, 2013).

A indução de resistência em plantas tem potencial para ser uma medida complementar para o controle de doenças da videira, aliada a outras medidas de proteção (CAVALCANTI, et al. 2014). Uma estratégia para reduzir a aplicação de fungicidas sintéticos é o emprego de elicitores que induzem respostas de defesa da planta. Neste contexto, o extrato aquoso de bagaço de uva ainda deve ser estudado na indução de resistência ao míldio da videira em condições de campo.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram instalados experimentos com objetivo de testar o extrato aquoso de bagaço de uva (EABU) ou de canola (EAC) no manejo do míldio da videira cv. BRS Carmem. E, a ação de compostos voláteis liberados de farinha dessa brássica no controle *in vitro* de *B. cinerea* e na severidade do mofo cinzento em bagas de uva cv. Rubi.

Os experimentos foram conduzidos na área experimental do setor de Fruticultura e no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Campus CEDETEG, Departamento de Agronomia, Guarapuava, no estado do Paraná.

#### 3.1 Obtenção de bagaço de uva e farinha de canola

Logo após o processo fermentativo da uva cv. Tannat (*V. vinifera* L.), coletou-se um lote de bagaço (cascas, sementes e engaços) oriundo de vinícola comercial situada no município de Bituruna-PR.

A canola (*B. napus* L.) cv. Hyola 61 foi cultivada no município de Candoí, no estado do Paraná, de acordo com recomendações técnicas para a cultura. No estágio de pleno florescimento, fase de maior acúmulo de glucosinolatos, realizou-se o corte manual da parte aérea da canola.

Os materiais vegetais (bagaço de uva e canola) foram secados separadamente, até peso constante, em estufa com ar circulante a  $40 \pm 2$  °C e triturados em moinho de faca tipo Willy em peneiras de 1 mm, obtendo-se uma farinha, armazenada em recipientes de plástico hermeticamente fechado, mantida no escuro em câmara fria  $5 \pm 2$  °C até o momento das análises.

#### 3.2 Preparo dos tratamentos

Para o preparo dos extratos aquosos de EABU ou de EAC, adicionou-se água da rede de abastecimento a 70 °C sobre os materiais vegetais, na proporção de 12:100 (p:v). Essa mistura permaneceu em repouso, dentro de



recipientes cobertos com papel alumínio, durante, aproximadamente, 12 horas a 22 °C no escuro. Na sequência, os extratos foram filtrados e a concentração inicial (12%) foi diluída em 0; 3; 6; 9% de EABU ou de EAC.

Nos ensaios com EABU, também testou-se os tratamentos padrões calda bordalesa (CB) a 1% ((CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O + Ca(OH)<sub>2</sub>) e *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) 1 mL L<sup>-1</sup> do produtos comercial Agro-Mos<sup>®</sup>.

Os sachês artesanais de canola foram elaborados a partir da adição de 0; 3; 6, 9 e 12g de farinha dessa brássica dentro de saquinho de tecido de poliéster tipo voil (15 cm x 4 cm), posteriormente fechado com fita crepe.

### **3.3 Caracterização química do bagaço de uvas e perfil cromatográfico do extrato aquoso de bagaço de uva**

O bagaço de uva e o EABU foram analisados quanto às características químicas da matéria-prima deste estudo, além da identificação de compostos presentes no extrato. O objetivo dessas análises foi conhecer os possíveis agentes de controle do míldio e/ou de indução de resistência em plantas de videira.

A caracterização química do bagaço de uva cv. Tannat foi realizada a partir de análises os teores de macronutrientes do material seco, segundo metodologia de Silva (2009). As concentrações de nitrogênio (N) em tecidos secos foram determinadas por digestão usando ácido sulfúrico e o método semimicro-Kjeldahl. Após a digestão ácido nítrico-perclórica, o fósforo (P) foi determinado por espectrofotometria de absorção molecular, o enxofre (S) por turbidimetria de sulfato de bário, o potássio (K) por fotometria de emissão de chama e outros nutrientes, o cálcio (Ca) e o magnésio (Mg) por espectrofotometria de absorção atômica.

As análises cromatográficas foram realizadas segundo metodologia descrita por Oldoni et al. (2015). Foi utilizado um equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) Varian 920-LC acoplado a uma coluna analítica Varian C-18 RP (250 x 4.6 mm, 5 µm) e detector de arranjo de diodos (DAD). Foram injetados 10 µL do EABU, na concentração de 12%, com fase móvel composta por água:ácido acético (99:1; v:v) (solvente A) e metanol:ácido acético (99:1; v:v) (solvente B) em modo gradiente a fluxo constante de 1 mL min<sup>-1</sup>. O gradiente iniciou

com 5% de solvente B a 7% de B em 7 minutos, 20% de B em 15 minutos, 50% de B em 30 minutos, 90% de B em 50 minutos, e 95% de B em 55 minutos. A coluna foi mantida a uma temperatura constante de 30 °C e a identificação foi realizada pela comparação do tempo de retenção e absorção na região do ultravioleta a 280, 320 e 360 nm com padrões autênticos dos ácidos fenólicos: vanílico, gálico, cafeico, p-cumárico e ferúlico; os flavonóides: catequina, epicatequina, rutina e quercetina e o estilbeno trans-resveratrol.

### **3.4 Efeito do extrato aquoso de bagaço de uva no controle do míldio em discos de folhas de videira cv. BRS Carmem**

Folhas novas e sadias de videiras cv. BRS Carmem (*V. vinifera* x *V. labrusca*) foram coletadas nas primeiras horas do dia (período da manhã). Na sequência, o tecido vegetal foi desinfestado em hipoclorito de sódio a 1% de cloro ativo, durante 60 segundos, e enxaguados em água destilada estéril por três vezes. As folhas permaneceram sobre papel toalha estéril até a absorção do excesso de água. Com auxílio de perfurador manual, discos foliares foram cortados com 18 mm de diâmetro. Com auxílio de uma pinça, os discos com a face abaxial voltada para cima, foram depositados sobre espumas umedecidas com água destilada, contidas em caixas de acrílico transparentes tipo gerbox (11,0 x 11,0 x 3,5 cm) previamente desinfestadas com álcool 70%, totalizando nove discos por repetição.

Cada tratamento foi pulverizado com borrifador manual sobre os discos de folhas, dispostos em delineamento inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições contendo nove discos. Esse ensaio foi repetido por três vezes.

A inoculação ocorreu a partir de suspensão de *P. viticola*, calibrada em  $1 \times 10^4$  esporângios mL<sup>-1</sup>, pulverizada na forma de nevoa sobre os discos, posteriormente mantidos em câmara úmida a 20 °C e fotoperíodo de 12 horas. Ao constatar os primeiros sintomas de míldio, avaliou-se a severidade da doença a cada 24 horas, totalizando seis avaliações. Em microscópio estereoscópico no aumento de 60 vezes, quantificou-se a severidade baseada na escala diagramática de Azevedo (1997), posteriormente convertida em área abaixo da curva de

progresso da doença (AACPD), proposta por Shaner; Funney (1977) pela fórmula  $AACPD = \sum(Y_i + Y_{i+1}/ 2) * (t_{i+1} - t_i)$ , em que  $y_i$  é a severidade da doença na  $i$ -ésima observação,  $t_i$  é o tempo em dias na  $i$ -ésima observação e  $n$  é o número total de avaliações.

### **3.5 Produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo tratados com extrato aquoso de bagaço de uva**

Para avaliar o potencial indutor *in vitro* de EABU utilizou-se metodologia proposta por Nicholson et al. (1988) e Wulff (1999) que determina a síntese de fitolalexina em mesocótilo de sorgo.

Sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cv. Jumbo foram desinfestadas em hipoclorito de sódio 1%, durante 15 minutos, seguido de rápido enxague e embebição em água destilada estéril por seis horas em temperatura ambiente (22 °C). Decorrido esse período, as sementes foram distribuídas equidistante sobre papel filtro umedecido para formação de rolos, permanecendo por quatro dias a 28 °C. Para paralisar a elongação dos mesocótilos, as plântulas formadas foram expostas a luz constante por quatro horas.

Os mesocótilos foram excisados a 0,5 cm acima do nó escutelar e colocados em três tubos de ensaios contendo um mL dos tratamentos citados anteriormente. Os tubos permaneceram em câmara úmida a 25 °C sob luz fluorescente durante 60 horas. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições.

Após esse período os mesocótilos levemente secos em papel toalha e cortados, descartando 5 mm da base do tecido vegetal. Os segmentos foram pesados e colocados em tubos de ensaio tipo *ependorf* contendo 1,4 mL de metanol 80% acidificado (0,1% HCl) e mantidos a 4 °C por 96 horas para extração da fitoalexina estimada em espectrofotômetro de absorvância (ABS) a 480 nm por grama de peso fresco ( $ABS_{480}$  grama peso fresco<sup>-1</sup>).

### **3.6 Extrato aquoso de bagaço de uva no controle do míldio em videira cv. BRS Carmem**

O experimento foi realizado em vinhedo com manejo orgânico, durante os ciclos 2013/2014 e 2014/2015, em Guarapuava-PR, latitude de 25°23'36"S, longitude de 51°27'19"O e altitude de 1.120 m. O solo foi classificado como latossolo bruno distroférico de textura argilosa. O clima foi definido como Cbf subtropical mesotérmico úmido, conforme classificação de Koppen (AYODE, 1998). Durante a condução dos experimentos, no primeiro e segundo ciclo constatou-se temperatura e umidade média de 26,3 °C e 95%, respectivamente.

Mudas de videiras cv. BRS Carmem enxertadas sobre cv. Paulsen P1103 foram plantadas em setembro de 2013, segundo recomendação técnica para a cultura, e conduzidas em espaldeira em sistema de cordão esporonado, com espaçamento 3,0 x 2,0 m e as videiras foram irrigadas via gotejamento.

Os tratamentos (EABU e padrões) foram pulverizados semanalmente, sempre nas horas mais frescas do dia (período da tarde), a partir do início da brotação das gemas da videira, totalizando 14 pulverizações por ciclo (2013/2014 e 2014/2015). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com cinco repetições, sendo cada planta uma parcela experimental.

As avaliações da severidade do míldio iniciaram a partir dos primeiros sintomas da doença ocorrida naturalmente em meados de janeiro de 2014 e de dezembro de 2015. Avaliou-se três folhas do ápice de três ramos por planta, previamente identificadas com fios coloridos. Essa atividade foi desenvolvida por dois avaliadores experientes e executada no período da manhã, totalizando seis avaliações por ciclo. Foi estimada a AACPD a partir dos dados de severidade do míldio da videira, conforme descrito no ensaio com discos foliares.

### **3.7 Atividade de $\beta$ -1,3-glucanases (EC 3.2.1.39) e quitinase (E.C. 3.2.1.14) videira tratadas com extrato aquoso de bagaço de uva**

Para avaliar a indução de resistência da videira cv. BRS Carmem tratadas com EABU ao ataque do patógeno *P. viticola*, ocorrido naturalmente, realizou-se coleta de folhas, uma ou duas folhas situadas na região do ápice da planta, 24 horas e 48 horas após os primeiros sintomas do míldio nos dois ciclos, após a 4ª e 5ª aplicação dos tratamentos, respectivamente.

As folhas coletadas foram envolvidas por papel alumínio e imediatamente mergulhadas em nitrogênio líquido, contido em isopor e, armazenadas a -30 °C até o preparo do extrato enzimático para as análises bioquímicas.

O extrato enzimático foi obtido a partir de folhas pesadas (g), em balança analítica, homogenizadas em almofariz contendo nitrogênio líquido. Seguido da adição de 2 mL de tampão acetato de sódio 50 mM pH 5,2. Na sequência, as amostras foram centrifugadas a 13.000 x g por 20 minutos e o sobrenadante (extrato enzimático) transferido para tubos de ensaio tipo *ependorf*, capacidade 1,5 mL. Todo esse procedimento foi executado em sala com ar condicionado em temperatura inferior a 17 °C. Durante o preparo do extrato enzimático, os materiais utilizados e as amostras permaneceram imersos em gelo para não afetar as análises bioquímicas.

A atividade da  $\beta$ -1,3-glucanases (EC 3.2.1.39) foi quantificada, segundo metodologia descrita por Stangarlin et al. (2000), via reação colorimétrica de glicose liberada da laminarina utilizando hidrazida do ácido p-hidroxibenzóico (PAHBAH). Para a reação acrescentou-se em tubos de ensaio 150  $\mu$ L do extrato enzimático em 150  $\mu$ L de laminarina (2 mg mL<sup>-1</sup>). No tubo de ensaio controle adicionou-se somente 150  $\mu$ L do extrato enzimático e no tubo controle 150  $\mu$ L de tampão acetato e laminarina. Os tubos em triplicata foram incubados 40 °C por 1 hora, quando adicionou-se extrato enzimático somente no tubo controle. Neste momento, estimou-se o teor de açúcares redutores via adição de 30  $\mu$ L da amostra com os 150 mL do reagente PAHBAH (2,5%) preparado segundo Lever (1972) deixados 10 minutos a 100 °C, seguido resfriamento e leitura de absorbância 410 nm. Esses dados foram plotados em curva padrão de glicose e os resultados expressos em mg de glicose<sup>-1</sup>

$\text{min}^{-1} \text{g}^{-1}$  de peso fresco.

A atividade da quitinase (E.C. 3.2.1.14) foi determinada de acordo com metodologia desenvolvida por Wirth; Wolf (1992) e procedimento descrito por Guzzo; Martins (1996), que consiste na hidrólise enzimática de polímeros solúveis de carboximetilquitina em oligômeros de quitina. Adicionou-se 70  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático em 130  $\mu\text{L}$  de acetato de sódio 50 mM pH 5,2 mais 60  $\mu\text{L}$  de carboximetilcurdlan-remazol brilhante azul (CM-Curdlan-RBB; 4 mg  $\text{mL}^{-1}$ ; Sigma®). Essa solução foi incubada a 35 °C durante 80 minutos em banho maria. Após, paralisou-se a reação com a adição de 50  $\mu\text{L}$  de HCl 0,5 M e banho de gelo por 10 minutos. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 620 nm e os resultados expressos em  $\text{Abs min}^{-1} \text{g}^{-1}$  de peso fresco.

### **3.8 Extrato aquoso de canola no controle do míldio da videira cv. BRS Carmem**

As concentrações 0; 3; 6; 9 e 12% EAC foram avaliadas no controle do míldio da videira em condições de campo, conforme metodologia descrita no item 3.6 deste trabalho.

### **3.9 Compostos voláteis de farinha de canola no controle *in vitro* de *Botrytis cinerea* e no mofo cinzento em bagas de uva cv. Rubi**

Para avaliar o efeito do extrato aquoso de canola (EAC) foi instalado experimento em condições de campo, ciclo 2013/2014 e 2014/2015, nas condições descritas no item 3.6 deste trabalho. Sendo os tratamentos avaliados 0, 3, 6, 9 e 12% de EAC.

O fungo *B. cinerea* utilizado neste estudo, foi isolado diretamente de bagas de uva que apresentavam sintomas típicos do mofo cinzento e sinais do fungo logo após o período de 48 horas em câmara úmida. Para avaliar a patogenicidade do isolado, obteve-se cultura pura do patógeno posteriormente inoculada em bagas de uva. Os sintomas do mofo cinzento foram reproduzidos e o patógeno reisolado. O isolado foi multiplicado em meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA) e armazenado em geladeira a 4 °C até a utilização.

Para verificar o efeito dos compostos voláteis da farinha de canola *in vitro*, placas de poliestireno bipartidas estéreis, contendo meio de cultura BDA, recebeu discos de 8 mm de micélio do patógeno. No lado oposto ao repique, adicionou-se 0 (somente água), 0,9; 1,8; 2,7 e 3,4g de canola (considerando a área da placa). A farinha de canola foi umedecida com água destilada estéril na proporção de 1:2 (p:v). As placas foram tampadas e vedadas com camada tripla de parafilm. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo que cada placa uma unidade experimental.

As placas foram incubadas a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas até o momento da avaliação do crescimento micelial e produção de conídios do patógeno, que ocorreu quando o tratamento testemunha atingiu a borda de uma das placas. Para variável crescimento micelial, utilizou-se um paquímetro digital para medir o diâmetro do micélio. Na sequência quantificou-se a produção de conídios, em microscópio óptico aumento de 400 vezes, a partir de suspensão obtida pela raspagem com alça de Drigalski do micélio fúngico, durante um minuto, logo após adicionar 5 mL de água destilada esterilizada com Tween 80 a 0,5%. A suspensão foi filtrada em duas camadas de gaze estéril e depositada em tubos de ensaio de capacidade de 10 mL.

Para o ensaio *in vivo*, cachos de uva cv. Rubi foram desinfestados com hipoclorito de sódio 1% e enxaguadas por três vezes em água destilada estéril. Na sequência, selecionou-se bagas de uva, cortando-as na região do pedicelo, posteriormente distribuídas em bandejas de poliestireno.

Foi realizado ferimento na região equatorial das bagas, seguido da inoculação de 20 µL de  $10^5$  conídios mL<sup>-1</sup> de *B. cinerea*. Logo após a inoculação, saches artesanais, contendo farinha de canola nas concentrações de 0; 3; 6, 9 e 12g foram depositados na região central de bandejas contendo dezesseis bagas de uva inoculadas. Os saches foram umedecidos cuidadosamente com água destilada estéril na proporção de 1:2 (p:v). As bandejas foram fechadas com filme PVC (policloreto de vinila), mantidas em 25 °C e fotoperíodo de 12 horas durante sete dias.

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições contendo nove bagas, sendo cada bandeja foi considerada

como uma unidade experimental.

A partir dos primeiros sintomas do mofo cinzento iniciou-se a avaliação da severidade de acordo com metodologia proposta por Camili et al. (2010). Em que o critério estabelecido foi o percentual de área da baga da lesão expressa pela escala de notas de severidade entre 1 e 6, correspondendo, aproximadamente, <0,2; 0,5; 1,0; 2,0 e >3,0 cm<sup>2</sup> de área lesionada, equivalendo a 2; 5; 10; 20; 30 e 50% da área, respectivamente.

### **3.10 Análise estatística**

Os dados dos experimentos foram submetidos à análise da variância. Quando significativa aplicada regressão polinomial para os tratamentos quantitativos e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott 5% de probabilidade de erro para os dados qualitativos. Utilizou-se o programa estatístico ASSISTAT, versão 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2009).



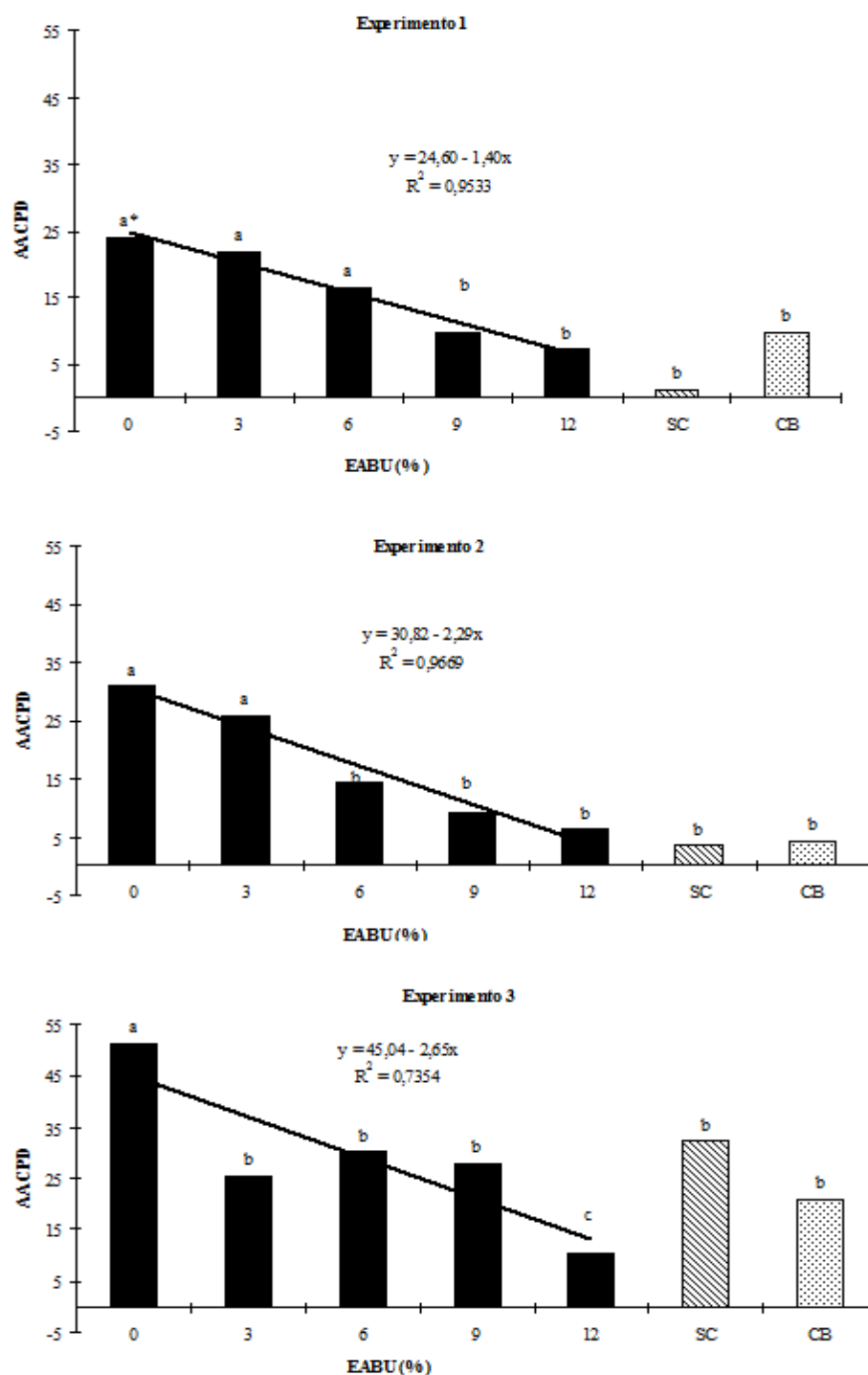
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A severidade do míldio, representada pela AACPD em discos de folhas de videira cv. BRS Carmem apresentou efeito linear negativo devido caracterizada pela redução diretamente proporcional ao aumento das concentrações de extrato aquoso de bagaço de uva (EABU) (Figura 1). Constatou-se que a maior concentração de extrato (12%) controlou o míldio em 69,79%, 79,80% e 79,77%, respectivamente, nos três experimentos (Figura 1). Este teste foi importante para avaliar indícios de eficiência do EABU, possivelmente expressa devido à composição mineral e fenólica do bagaço e extrato.

A presença dos nutrientes no bagaço de uva pode ter agido no controle do míldio da videira, considerando que esse subproduto era composto de 20,7 g kg<sup>-1</sup> de N; 10,1 g kg<sup>-1</sup> de K; 5,9 g kg<sup>-1</sup> de S; 3,0 g kg<sup>-1</sup> de Ca; 1,9 g kg<sup>-1</sup> de P e 0,6 g kg<sup>-1</sup> de Mg. Entre esses nutrientes destaca-se o potássio (K) como elemento potencializador da ação direta contra o agente causal do míldio da videira, conforme constatado por Perreira et al. (2012) ao utilizarem fosfito de potássio no manejo desta doença em videira cv. Merlot em condições de campo.

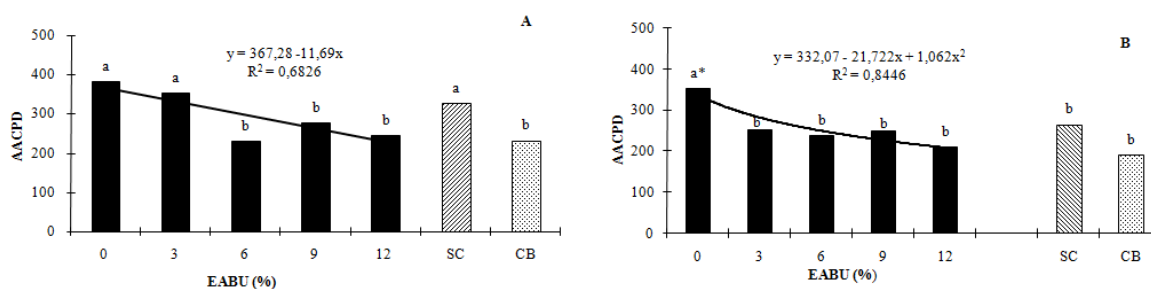
O potássio está relacionado com a regulação do funcionamento dos estômatos da folha (KORNDÖRFER, 2006) e isso pode prejudicar o processo infeccioso do oomiceto via estas estruturas (AMORIM et al., 2016). O bagaço de uva é rico em potássio, quando comparados com outros nutrientes, como constatado na composição química de resíduos de diferentes de cultivares de videira em 87 vinícolas (BUSTAMANTE, 2008).

Na Figura 1 constatou-se que o EABU nas concentrações de 6% e 9% não apresentou diferença entre tratamentos padrões CB e SC. Esse último tratamento, obtido da parede celular de *S. cerevisiae* foi tóxico ao desenvolvimento do míldio em discos foliares, exceto no último ensaio em que agressividade do patógeno foi superior aos demais testes. Essa ação antimicrobiana pode ser atribuída à presença de sulfato de cobre presente na molécula comercial desta levedura (COSTA et al., 2010).



**Figura 1** - Área abaixo da curva do progresso do míldio (AACPD) (*Plasmopara viticola*) em discos de folhas de videira cv. BRS Carmem em três repetições do experimento, testando concentrações de extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos®) e calda bordalesa (CB) 1%. \*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Em condições de campo, o EABU promoveu a redução da AACPD do míldio nos dois ciclos de avaliação com controle entre 27,65% e 40,29% (Figura 2A e Figura 2B).



**Figura 2** - Área abaixo da curva do progresso do míldio (AACPD) (*Plasmopara viticola*) em videira cv. BRS Carmem nos ciclos A) 2013/2014 e B) 2014/2015, utilizando concentrações de extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos®) e calda bordalesa (CB) à 1%. \*Médias seguidas da mesma letra não diferem-se estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017

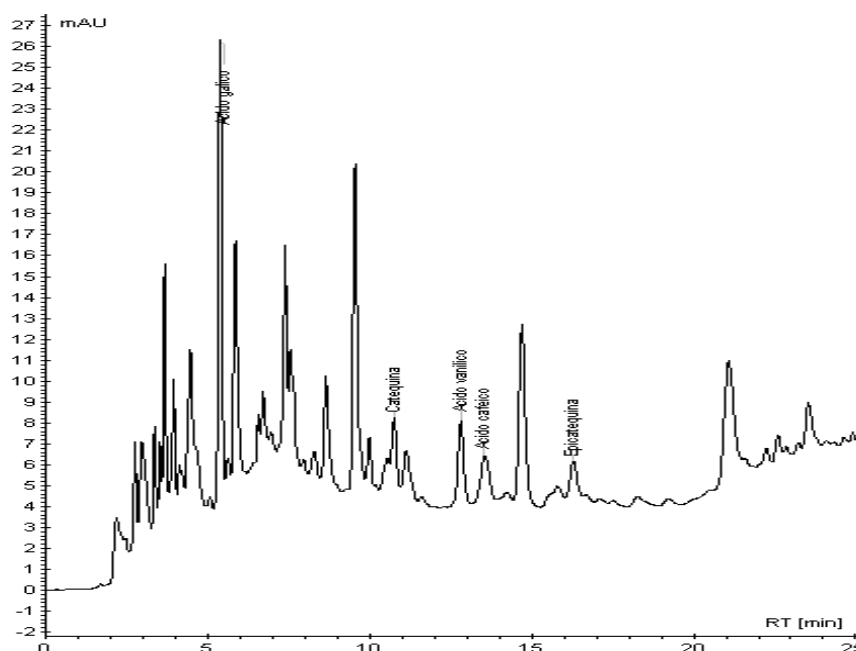
No primeiro ciclo (2013/2014) as concentrações 6%, 9% e 12% de EABU reduziram a severidade do míldio de forma análoga ao tratamento padrão CB (Figura 2A). Apesar dessa calda ser amplamente utilizada em sistemas orgânicos, Garrido et al. (2004) enfatizam que produtos à base de cobre tem contribuído ao desequilíbrio do agroecossistema, pois acumula-se no solo por longo tempo, devido, principalmente, a grande quantidade utilizada anualmente de sulfato de cobre no controle do míldio que atinge 30 kg ha<sup>-1</sup>. Além disso, o cobre da CB pode modificar negativamente a atividade microbiológica do solo de vinhedos, favorecendo a ocorrência de doenças na videira (MACKIE et al., 2013), indicando que o EABU pode ser uma alternativa no manejo do míldio.

No ciclo 2014/2015, as concentrações de EABU apresentaram efeito quadrático em função de seu aumento quanto a severidade do míldio, havendo controle de pouco mais de 40% quando utilizou-se 12% de extrato (Figura 2B). A presença de compostos minerais no bagaço de uva, como é o caso do potássio ou a idade das folhas de videira podem agir contra o oomiceto, visto que influenciam na colonização de estômatos por zoósporos de *P. viticola* (STEIMETZ et al., 2012). Além disso, os resíduos de uva podem agir diretamente sobre o patógeno, como observado por Oka et al. (2007) quando aplicaram o subproduto em solo solarizado

no manejo de nematoide de galha.

Ácido cafeíco e seus derivados, ácido p-cumárico e ácido ferúlico são acumulados em folhas de videira em função de estresse abiótico (KRÓL et al., 2015) e biótico, como aquele ocasionado por *P. viticola* quando induzem a síntese de compostos fenólicos com ação na defesa vegetal (ALI et al., 2012). A eficácia de compostos fenólicos, presentes em resíduos de conífera, foi comprovada por Gabaston et al. (2017) em ensaio de discos de folhas de videira inoculadas com *P. viticola*.

O extrato aquoso de bagaço de uva (EABU) apresentou perfil cromatográfico complexo, com sinais eluindo até 25 minutos de corrida, o que indica a predominância de compostos com características polares (Figura 3), podendo ser justificado pelo solvente água empregado como extrator. Foram identificados os ácidos fenólicos gálico, cafeíco e vanílico e os flavonóides catequina e epicatequina nas concentrações de 37,86 ug g<sup>-1</sup>, 29,69 ug g<sup>-1</sup>, 19,63 ug g<sup>-1</sup>, 60,70 ug g<sup>-1</sup> e 48,96 ug g<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes compostos existem naturalmente no metabolismo secundário das plantas em diferentes concentrações (TAIZ; ZEIGER, 2013; COMARELLA et al., 2012), sendo agentes na defesa fitossanitária de doenças.



**Figura 3** - Perfil cromatográfico do extrato aquoso de bagaço de uva obtida por CLAE-DAD a 280 nm UTFPR, Pato Branco - PR, 2017

Os compostos fenólicos, classificados como flavonóides (catequina e epicatequina), identificados no EABU (Figura 3) esta relacionado às características particulares da cv. Tannat, como a presença de grande quantidade de sementes (BOIDO et al., 2011), o que proporciona sabor e adstringência aos vinhos e sucos de uva (ABE, et al., 2007). Os resultados deste trabalho corroboram com aqueles observados por Alonso et al. (2002) que enfatiza os compostos fenólicos com abundantes e presentes em subprodutos de uva são ácido gálico, catequina e epicatequina.

Entre os compostos fenólicos identificados no EABU (Figura 3) a catequina apresenta atividade antifúngica contra *Phytophthora megasperma* Drechsler e *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) (BAIDEZ et al. 2006).

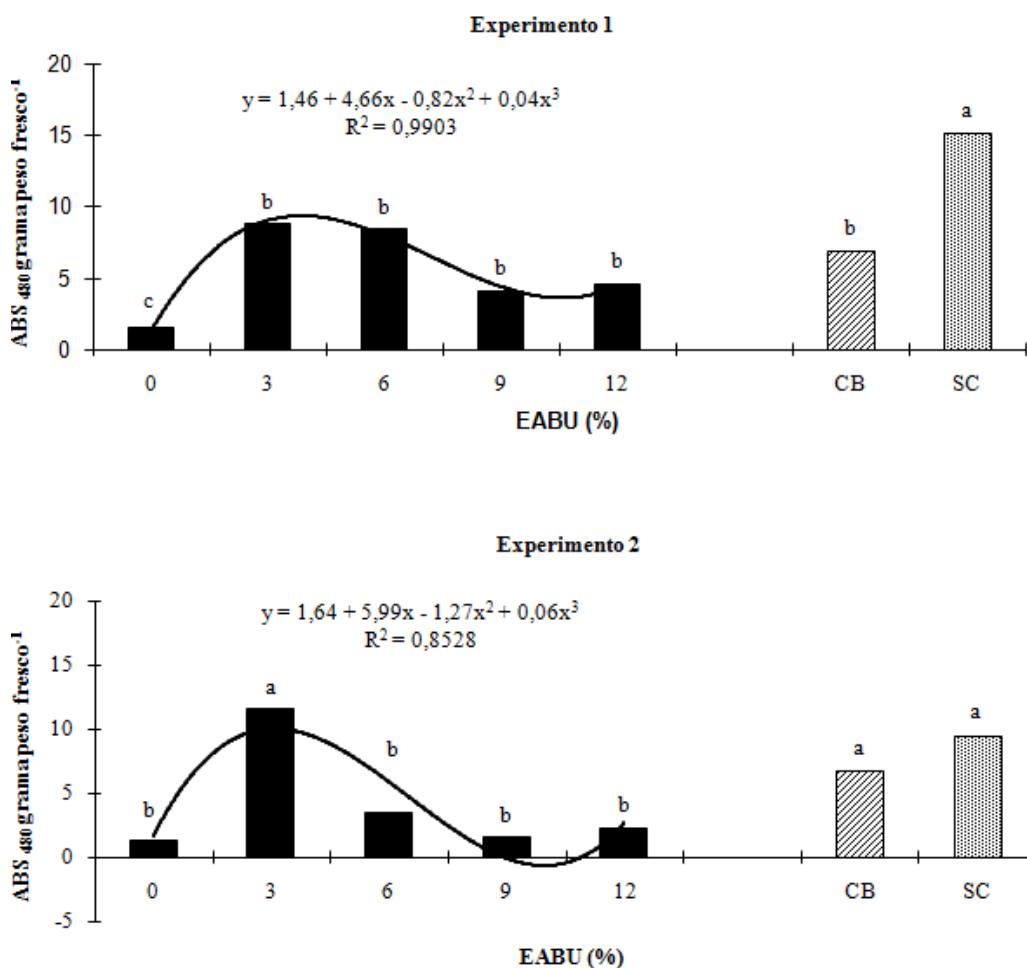
Tanto os componentes químicos quanto os fenólicos constatados no bagaço e EABU podem ter afetado o desenvolvimento do míldio da videira. O bagaço de uva utilizado neste trabalho, continha grande quantidade de sementes que, segundo Adámez et al. (2012) caracteriza uma fonte rica de compostos polifenólicos que apresentam efeitos antioxidantes e antimicrobianos.

Para verificar o possível efeito elicitor *in vitro* do EABU, avaliou-se a síntese de fitoalexinas mesocótilos de sorgo constando-se que, em geral, a concentração de 3% de EABU proporcionou o maior acúmulo deste composto quando comparado com os demais tratamentos (Figura 4). Com isso, pode-se supor que o EABU pode induz mecanismos de defesa da planta pós-formados. Visto que produção de metabólitos secundários, como fitoalexinas são resultado da ativação da rota metabólica do ácido chiquímico (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008; DANNER et al., 2008; TAIZ; ZEIGER, 2013), possivelmente devido a presença de compostos fenólicos do EABU.

O produto SC apresentou acúmulo mais que 10 vezes em mesocótilos de sorgo quando comparados com aqueles não tratados (Figura 4). Essa ação deste tratamento deve-se a presença de moléculas elicitoras presente nesta levedura, conforme constato por Zanardo et al. (2009) via cromatografia de troca aniônica, eficazes no controle de *Colletotrichum lagenarium* em cotilédones de pepineiro.

A calda bordalesa, independente do experimento, ao estimular a produção da deoxiantocianidina em mesocótilos de sorgo (Figura 4). Essa situação é

algo que deve ser investigada em outras plantas indicadoras e até mesmo na videira. O cobre regula a atividade de enzima chave na biossíntese de diversos flavonóides envolvidos na indução de resistência (BRAGA, 2008).



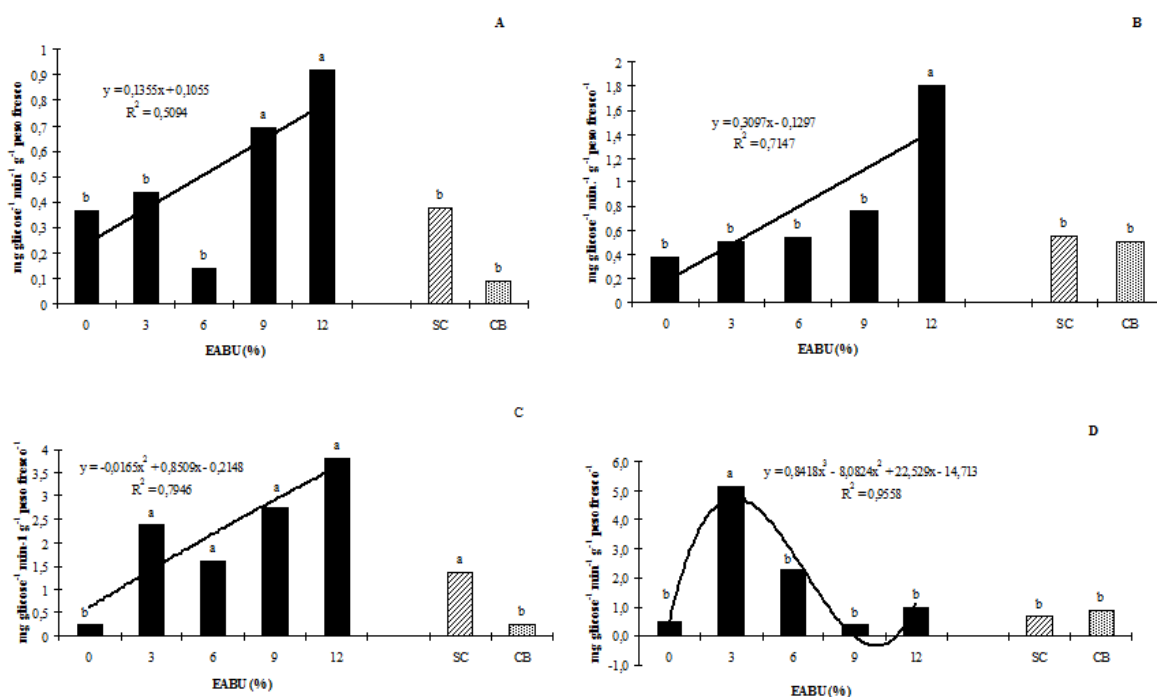
**Figura 4** - Síntese de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo tratados com extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos<sup>®</sup>) e calda bordalesa 1% em dois experimentos. \*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Em condições de campo, nos dois ciclos de cultivo da videira cv. BRS Carmem, constatou-se aumento na atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases e quitinase nos períodos de 24 horas e 48 horas após aplicação do EABU em relação ao tratamento testemunha (concentração 0) (Figuras 5 e 6). As plantas reagem às agressões com diferentes respostas de defesa, capazes de conter a invasão do patógeno, como o

aumento da concentração de proteínas de defesa como glucanases e quitinase (OLIVEIRA et al., 2016).

A atividade das enzimas de defesa em plantas de videira, no ciclo 2013/2014, foi superior na concentração de 12% de EABU que aumentou  $\beta$ -1,3-glucanases em mais de 50% em relação às plantas testemunhas (Figura 5 A e B). Outra evidência constata foi o efeito indutor do EABU quando comparado com o tratamento padrão CB (Figura 5A e B), que, segundo Amorim et al. (2016), pode ser indício do modo de ação de contato da calda ou pelo fortalecimento da parede celular da planta devido a síntese de lignina.

O EABU é uma alternativa eficaz no manejo do míldio da videira, visto que cerca de 12-14 pulverizações de cobre são feitas anualmente para o controle desta doença em anos com condições climáticas normais (CABÚS et al., 2017).



**Figura 5** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases (mg glicose<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> g peso fresco<sup>-1</sup>) em videira cv. BRS Carmem cultivada em vinhedo orgânico nos ciclos 2013/2014 (A e B) e 2014/2015 (C e D) nos períodos de 24 horas e 48 horas, respectivamente, após os primeiros sintomas da doença na testemunha e aplicação dos tratamentos extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos<sup>®</sup>) e calda bordalesa (CB) 1%. \*Médias seguidas da mesma letra não diferem-se estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

O aumento da atividade  $\beta$ -1,3-glucanases no segundo ciclo (2014/2015) ocorreu 24 horas e 48 horas após aplicação do EABU, porém de maneira distinta (Figura 5C e D). Na primeira coleta, o extrato apresentou efeito linear com ação indutora de  $\beta$ -1,3-glucanases em todas as concentrações testadas, sendo estatisticamente igual ao tratamento com levedura SC (Figura 5C). Zanardo et al. (2009) identificaram, via cromatografia de troca aniônica, no extrato bruto de *S. cerevisiae* autoclavado, moléculas elicitoras de resistência contra *Colletotrichum lagenarium*, em cotilédones de pepineiro. Por outro lado, o efeito indutor de composto a base de bagaço de uva agiu na defesa contra o patógeno foliar *Septoria lycopersicie* em tomate (KAVROULAKIS, et al. 2005).

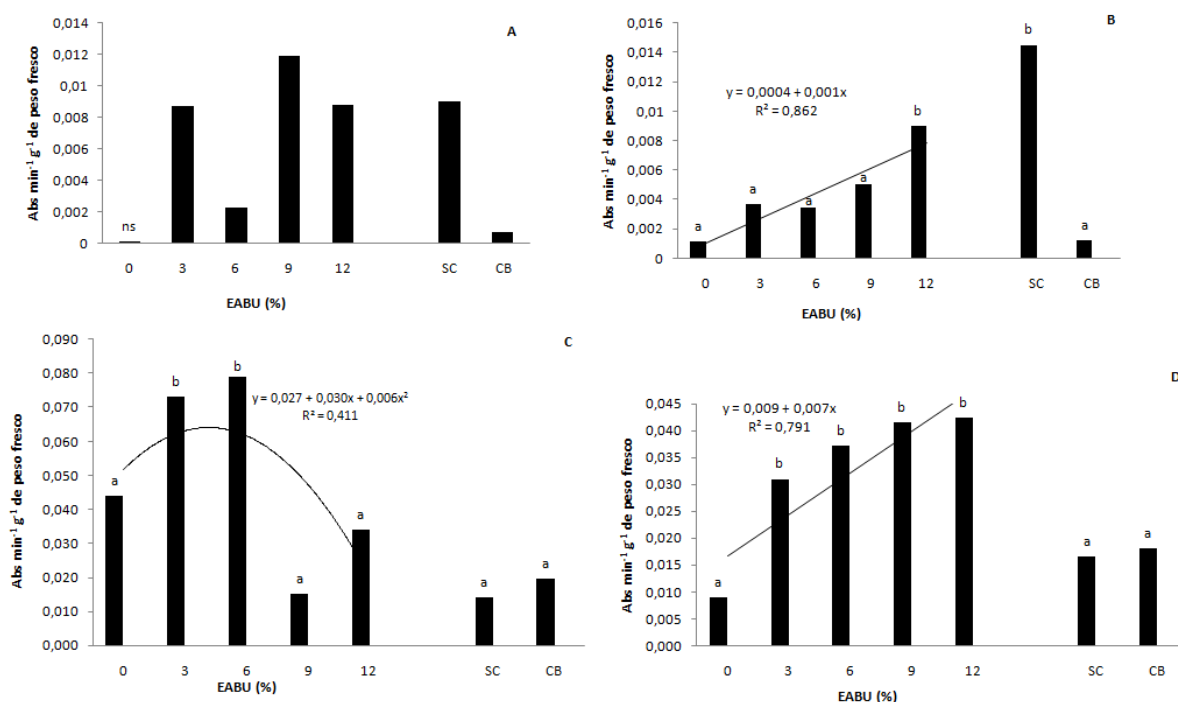
No ciclo 2014/2015 da videira, constatou-se no período de 48 horas após aplicação do EABU pico de atividade  $\beta$ -1,3-glucanases apenas na concentração de 3% de extrato (Figura 5D). Conforme verificado por Perazzolli et al. (2008), ao aplicarem um agente de controle biológico *Trichoderma harzianum* T39 que induziu resistência sistêmica em plantas videira contra míldio em casa de vegetação.

A resposta distinta de defesa da videira, caracterizada pela atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases neste trabalho, pode ter sido influenciada pela idade da folha da videira, visto que o míldio ocorreu naturalmente em estágio de desenvolvimento da videira distintos entre os ciclos avaliados. Em folhas adultas (totalmente expandidas) pode ocorrer redução na colonização de estômatos por zoósporos de *P. viticola* e maior acúmulo de compostos de defesa (fitoalexinas, peróxido de hidrogênio e fenóis) (STEIMETZ et al., 2012). Apesar que indução de resistência adquirida varia entre cultivares de videira, pois o ácido salicílico (sinalizador) mantém elevado após a infecção do oomiceto, antes do início dos primeiros sintomas do míldio (LIU et al., 2016).

Constatou-se atividade de quitinase em folhas de videira cv. BRS Carmem tratadas com EABU, porém com diferentes respostas entre os períodos de coleta e ciclos de cultivo (Figura 6). Em condições de campo, Maia et al. (2014a) constataram incremento da atividade de quitinase em plantas de videiras tratadas com óleos essenciais de plantas medicinais. Resultado análogo ao presente trabalho, porém com variações de resposta dependendo do período de maior



expressão das enzimas (Figura 6). Uma hipótese a síntese de enzimas de defesa relacionada ao EABU pode esta relacionada aos compostos fenólicos ou fenóis que são substâncias, geralmente, situadas em vacúolos da célula vegetal a partir da síntese nas vias ácido shiquímico e cinâmico (fenilpropanóides) que apresenta ação direta contra o patógeno ou na defesa vegetal originaria de indução de resistência (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).



**Figura 6** - Atividade de quitinase (Abs min.<sup>-1</sup> g peso fresco<sup>-1</sup>) em videira cv. BRS Carmem nos ciclos A e B) 2013/2014 e C e D) 2014/2015 nos períodos de 24 horas e 48 horas, respectivamente, após os primeiros sintomas da doença na testemunha e aplicação dos tratamentos extrato aquoso de bagaço de uva (EABU), *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (SC) (1 mL L<sup>-1</sup> de Agro-Mos<sup>®</sup>) e calda bordalesa à 1%. <sup>ns</sup> não significativo; \*médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

No primeiro ciclo de cultivo (2013/2014), não houve efeito das concentrações de EABU para atividade de quitinase no período de 24 horas após os primeiros sintomas e aplicação dos tratamentos (Figura 6A). A atividade da quitinase foi expressa somente na concentração de 12% de EABU e o tratamento SC na coleta de 48 horas, sendo o incremento do padrão 10 vezes mais que essa concentração de EABU (Figura 6B).

No patossistema *Puccinia psidii* x eucalipto os autores Boava et al. (2010) identificaram incremento na atividade de quitinase em tecido foliar 72 horas após a inoculação do patógeno. Supondo que apesar da elevada severidade do míldio no campo, as plantas apresentaram habilidade defesa quando houve estímulo a síntese de proteínas de defesa. Essa hipótese poderá ser estudada em trabalhos futuros por meio da análise da expressão gênica.

As concentrações mais baixa, 3 e 6% de EABU, estimularam a atividade da quitinase nos dois períodos de coleta, sendo que esse resultado foi potencializado no ciclo 2014/2015 para as demais concentrações de extrato com o passar do tempo (48 horas) (Figura 6C e D). Fato não observado na segunda coleta de tecido foliar para a quantificação da atividade desta PR-proteínas, quando evidencia-se que na primeira safra a concentração de 9% de EABU expressou seu potencial. No segundo ciclo de avaliação, a quitinase aumentou proporcionalmente às concentrações do EABU.

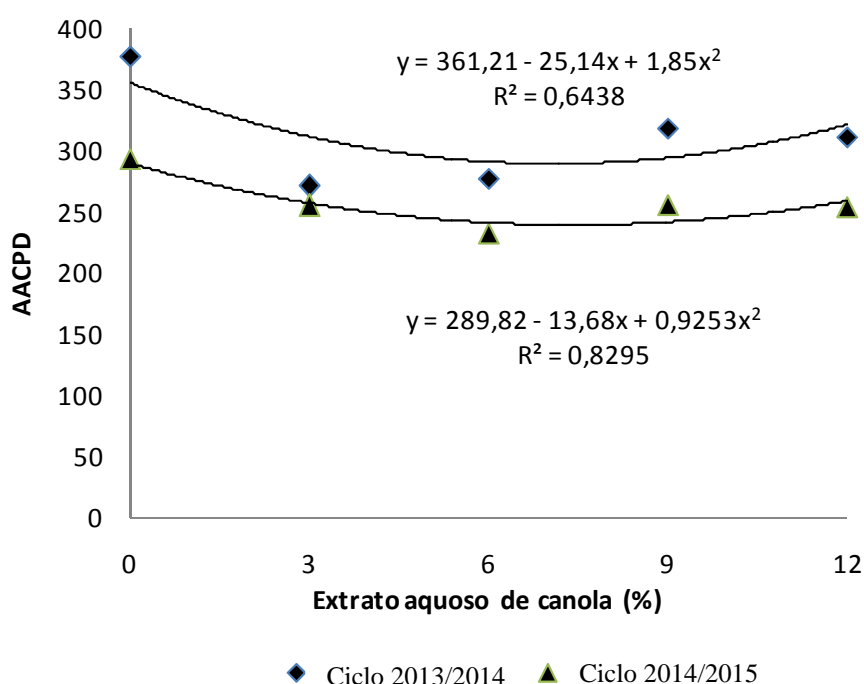
A indução de resistência ao agente causal do míldio em espécies de videira resistentes pode durar até cinco dias (DURRANT; DONG, 2004). Como neste trabalho não foi avaliado o efeito indutor em longo prazo, sugere-se que novos trabalhos busquem essa resposta para definir o intervalo entre aplicações para o manejo do míldio da videira.

Os experimentos de avaliação do extrato aquoso de canola (EAC) indicaram ação de controle nos patossistemas avaliados (Figura 7, 8 e 9).

O míldio da videira foi reduzindo em 20 a 30% em relação às plantas testemunha, nos dois ciclos da cultura (Figura 7). Confirmando o efeito positivo de produtos alternativos no manejo desta doença (ROSA et al., 2008), podendo ser potencializado quando há outros produtos ou técnicas combinadas com as brássicas segundo constatado por Aguilar-González et al. (2015) e Pazzolini et al. (2016). Os primeiros autores concluíram que óleo de mostarda apresenta ação sinérgica com o óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) contra mofo cinzento em morango. Os outros autores comprovaram que extrato de brássica aplicado junto com a termoterapia intensificou o controle da podridão parda em pêsego.

Houve efeito quadrático em função das concentrações de EAC e o controle do míldio da videira. No primeiro ciclo, as concentrações 3% e 6% do extrato reduziram

em 28,26% e 26,62% a AACPD do míldio em relação à testemunha (Figura 7). Este comportamento manteve-se no segundo ciclo somente para a concentração de 6% de EAC controlando a doença em 20,57% em relação ao tratamento testemunha. Resultados distintos aos observados por Piva (2013) no patossistema oídio (*Podosphaera fuliginea*) em cucurbitáceas, quando os autores constataram controle maior que 90% e 50% da severidade e incidência, respectivamente, após aplicação de 12% de extrato de canola.

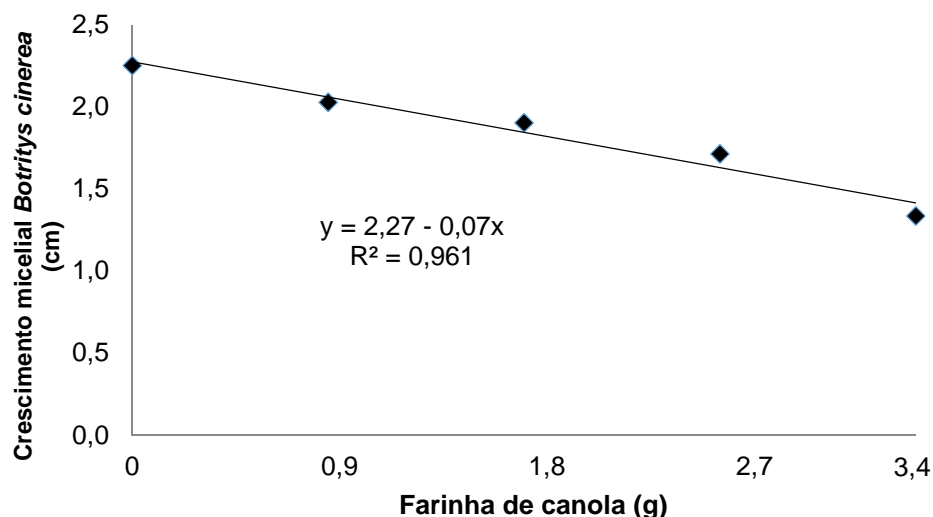


**Figura 7** - Área abaixo da curva do progresso do míldio (AACPD) (*Plasmopara viticola*) em videira cv. BRS Carmem cultivada em vinhedo orgânico tratada com concentrações crescente de extrato aquoso de canola (EAC) nos ciclos 2013/2014 e 2014/2015. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

O modo de obtenção do EAC utilizado neste experimento pode ter ocasionado à perda dos compostos fungitóxicos, considerando que a farinha de canola permaneceu em repouso antes da aplicação foliar em videiras. Apesar da presença dos glucosinolatos, substâncias biocidas presente na canola em maior concentração no estágio de plena floração da planta (PEDRAS et al., 2006; VELASCO et al., 2007), condição de obtenção dessa brássica, utilizada neste experimento.

Nas condições deste experimento, supõe-se que os compostos voláteis e princípios ativos do extrato podem ter perdido a eficácia devido ao baixo percentual de controle. Visto que, Serrano-Pérez et al. (2017) observaram efeito de inibição do crescimento micelial e germinação de clamidósporos de *Phytophthora nicotianae* diminuindo no terceiro e sexto dia de biofumigação de mostarda. Barros et al. (2014) afirma que brássicas perdem os voláteis caso não seja utilizado cobertura no solo em juvenis de segundo estágio de nematoide expostos a macerados mostarda.

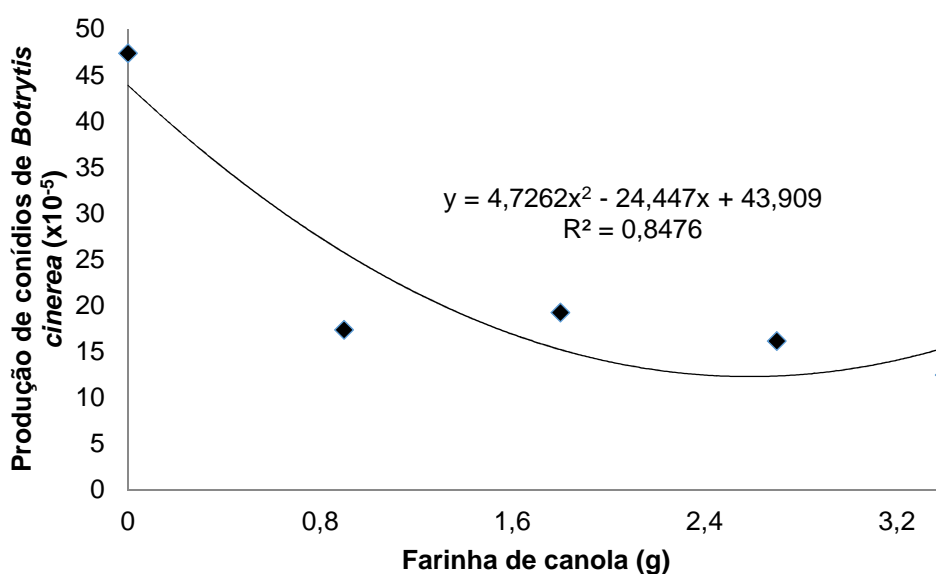
Observou-se redução no crescimento micelial do fungo *B. cinerea* foi linear decrescente expressa em 10; 15,6; 23,9 e 40,8% em função do aumento da concentração de farinha de canola (Figura 8). Por outro lado a produção de conídios do patógeno foi afetada de forma mais agressiva pelos compostos voláteis da canola (Figura 9). Oriundos da atividade de hidrólise dos glucosinolatos em isotiocianados, pois são capazes de inibir o desenvolvimento *R. solani* em trigo (*Triticum aestivum* L.) (HANDISENI et al., 2013).



**Figura 8** - Crescimento micelial de *B. cinerea* (cm) submetido à presença de compostos voláteis proveniente de diferentes concentrações de farinha de canola (g). UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

A concentração de 12g e 3,4g de farinha de canola destacaram-se com efeito fungitóxico no crescimento micelial e na produção de conídios do agente causal do mofo cinzento da uva (Figura 8, 9 ou 10). Atribuindo aos compostos voláteis da

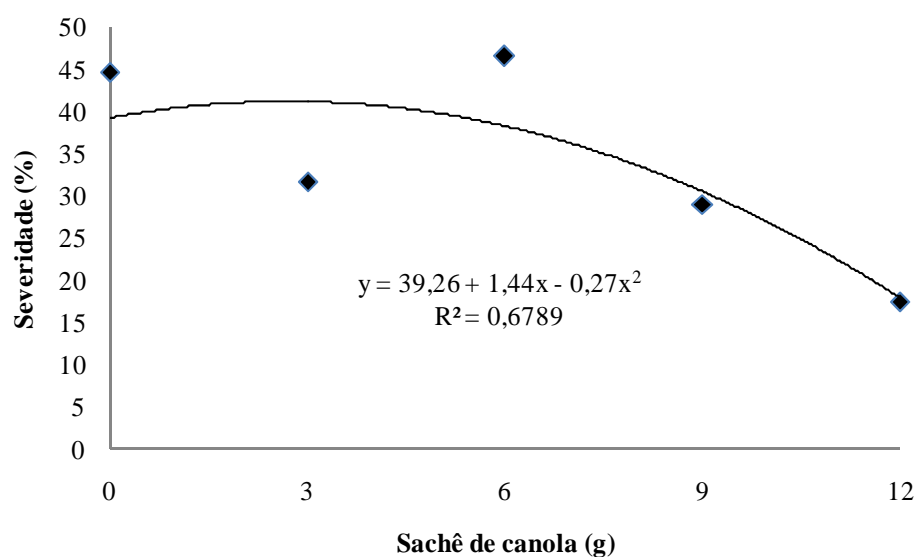
canola a redução no desenvolvimento *in vitro* de *B. cinerea*. Esse fungo mostrou-se sensível aos voláteis de diferentes óleos essenciais (capim-limão, palmarosa, citronela, cravo, canela, menta, lavanda, tangerina, eucalipto, melaleuca e laranja) dispostos sobre papéis de filtro meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) LORENZETTI et al., 2011).



**Figura 9** - Produção de conídios de *B. cinerea* submetido à presença de compostos voláteis proveniente de diferentes concentrações de farinha de canola. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Os dados deste trabalho são análogos Cuzzi (2013) ao utilizar a canola no controle do mofo cinzento do morango e no crescimento micelial e produção de conídios de *B. cinerea*. Esses resultados indicam o potencial da canola em podridão pós-colheita

A farinha de canola reduziu a severidade da doença causada por *B. cinerea*, atingindo controle de 60,82% no sache com 12g de farinha de canola, em relação às bagas cv. Rubi sem tratamento (Figura 10). Este patógeno também foi controlado, tanto *in vitro* quanto em morangos, quando vaporizou-se óleo de *B. nigra* conferida ação fungitóxica de isotiocianatos (AGUILAR-GONZÁLEZ et al., 2015). Fato confirmado por Mari et al. (2008) ao testar cinco isotiocianatos em podridão em pós-colheita de pêsego.



**Figura 10** - Severidade do mofo cinzento em bagas de uva cv. Rubi submetidas em compostos voláteis de saches de canola. UTFPR, Pato Branco - PR, 2017.

Nas condições deste trabalho percebeu-se que durante a condução do experimento houve perdas de compostos voláteis, evidenciada pelo odor característico, mesmo assim constatou-se controle do mofo cinzento em bagas de uva em todas as concentrações de sache testada (Figura 10). Segundo Barros et al. (2014), a ação dos compostos voláteis de brássicas é maximizada quando esses são retidos no local onde há patógeno aumentando a eficácia de controle. O tempo de exposição do patógeno aos compostos voláteis de farinha de sementes de *B. carinata* foi de quatro horas para que houvesse controle em até 91,5% do mofo cinzento em morango (UGOLINI et al., 2014).

A redução da severidade do mofo cinzento ajustou-se ao modelo quadrático, sendo que a exposição das bagas à ação dos compostos voláteis do sache de farinha de canola afetou exponencial o desenvolvimento da doença (Figura 10). Resultados conferem com aqueles encontrado por Aguilar-González et al. (2015) ao vaporizar óleo de *B. nigra* em morango inoculado com *B. cinerea*.

## 5 CONCLUSÕES

Os resultados da composição química do bagaço de uva e análise dos compostos fenólicos do EABU evidenciaram a presença de agentes minerais e compostos fenólicos com potencial do resíduo vegetal como agente contra o míldio da videira.

O EABU é promissor no controle do míldio e indução de resistência em videira cv. BRS Carmem, permitindo o reaproveitamento de resíduos da vitivinicultura como opção para o controle alternativo de míldio da videira. Em geral, as concentrações 9% e 12% de EABU destacaram-se no manejo dessa doença pela ação direta contra o patógeno e como substância elicitora.

A síntese de fitoalexina em mesocótilo de sorgo sugere-se que o EABU apresenta potencial na indução de resistência de plantas os patógenos por diferentes mecanismos de reação.

A canola, na forma de extrato aquoso ou farinha, foi eficiente no controle do míldio da videira e do mofo-cinzento em bagas de uva.

A ação fungitóxica dos compostos voláteis confirma-se em *B. cinerea in vitro* e *in vivo* no controle do mofo cinzento.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Produtos alternativos no manejo de doenças da videira são ferramentas sustentáveis para a vitivinicultura, destacando a utilização de EABU no controle e indução de resistência de videira ao míldio. E, compostos voláteis de brássicas fungitóxicos ao mofo cinzento em uva.

A ativação de outras enzimas relacionadas a respostas de defesa da planta contra patógeno da videira deve ser estudada para o manejo.

Novos estudos de forma de extração dos compostos biocidas da canola devem ser testados no controle do míldio da videira.

Estudos em condições de campo são essenciais para o desenvolvimento da agricultura sustentável.



**REFERÊNCIAS**

ABE, L.T.; DA MOTA, R.V.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, n.2, p.394-400, 2007.

ADÁMEZ, J.D.; SAMINO, E.G.; SÁNCHEZ, E.V.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. *In vitro* estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Control*, v.24, p.136-141. 2012.

AGRIOS, G.N. *Fruit and general disease caused by ascomycetes and deuteromycetes (mitosporic fungi)* In: AGRIOS, G.N. *Plant Pathology*. 5 ed. San Diego: Academic Press, 2005. cap.11, p.501-521.

AGUILAR-GONZÁLEZ, A.E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/ or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v.32, p.181–185, 2015.

ALBUQUERQUE, P.H.S.; PEDROSA, E.M.R; MOURA, R.M. Efeito de vinhaça e extrato de torta de filtro sobre a eclosão de *Meloidogyne incognita* Raça 1 e *M. javanica*. *Nematologia Brasileira*, v.25, n.2, p.175-183, 2001.

AL-GENDY, A.A.; EL-GINDI, O.D.; HAFEZ, A.S.; ATEYA, A.M. Glucosinolates, volatile constituents and biological activities of *Erysimum corinthium* Boiss. (Brassicaceae). *Food Chemistry*, v.118, n.3, p.519-524, 2010.

ALI, K.; MALTESE, F.; FIGUEIREDO, A.; REX, M.; FORTES, A.M.; ZYPRIANC, E.; PAIS, M.S.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y.H. Alterations in grapevine leaf metabolism upon inoculation with *Plasmopara viticola* in different time-points. *Plant Science*, v.191-192, p.100-107, 2012.

ALONSO, J.; GUILLÉN, D.A.; BARROSO, C.G.; PUERTAS, B.; GARCÍA, A. Determination of antioxidant activity of wine byproducts and its correlation with polyphenolic content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.50, n.21, p.5832–5836, 2002.

AMBRÓSIO, M.M.Q.; BUENO, C.J.; PADOVANI, C.R.; SOUZA, N.L. Controle de fitopatógenos do solo com materiais vegetais associados à solarização. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.4, p.354-358, 2008.

AMBRÓSIO, M.M.Q.; BUENO, C.J.; PADOVANI, C.R.; SOUZA, N.L. Sobrevivência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo, em microcosmo, simulando solarização com prévia incorporação de materiais orgânicos. *Summa Phytopathologica*, v.35, n.1, p.20-25, 2009.

AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. *Doenças da videira*. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.). Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. v.2, 4.ed., Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005, p.639-651.

AMORIM, L.; SPÓSITO, M.B.; KUNIYUKI, H. *Doenças da videira*. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.). Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. v.2, 5.ed., Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016, p.745-758.

ANDERSSON, D.; CHAKRABARTY, R.; BEJAI, S.; ZHANG, J.; RASK, L.; MEIJER, J. Myrosinases from root and leaves of *Arabidopsis thaliana* have different catalytic properties. *Phytochemistry*, v.70, p.1345–1354, 2009.

ANDREAZZA, R.; CAMARGO, F.A.O.; ANTONIOLLI, Z.N.; QUADRO, M.S.; BARCELOS, A.A. Biorremediação de áreas contaminadas com cobre. *Revista de Ciências Agrárias*, v.36, n.2, p.127-136, 2013.

ASCENCION, L.C.; LIANG, W.J.; YEN, T.B. Control of *Rhizoctonia solani* damping-off disease after soil amendment with dry tissues of Brassica results from increase in Actinomycetes population. *Biological Control*, v.82, p.21-30, 2015.

AVATO, P.; D'ADDABBO, D.; LEONETTI, P.; ARGENTIERI, M.P. Potencial Nematicida de Brassicaceae. *Phytochemistry Reviews*, v.12, p.791-802, 2013.

AYOADE, J.O. *Introdução à Climatologia para os Trópicos*. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 1998.

AZEVEDO, L.A.S. *Manual de quantificação de doenças de plantas*. São Paulo: Luiz Antonio Siqueira de Azevedo, 1997. 114p.

BAIDEZ, A.G.; GÓMEZ, P.; DEL RÍO, J.A.; ORTUNO, A. Antifungal capacity of major phenolic compounds of *Olea europaea* L. against *Phytophthora megasperma* Drechsler and *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.69, p.224-229, 2006.

BARROS, A.F.; CAMPOS, V.P.; SILVA, J.C.P.; PEDROSO, M.P.; MEDEIROS, F. .V.; POZZA E.A.; REALE, A.L. Nematicidal activity of volatile organic compounds emitted by *Brassica juncea*, *Azadirachta indica*, *Canavalia ensiformis*, *Mucuna pruriens* and *Cajanus cajan* against *Meloidogyne incognita*. *Applied Soil Ecology*, v.80, p.34-43, 2014.

BASSETO, M. A.; BUENO, C. J.; AUGUSTO, F.; PEDROSO, M. P.; FURLAN, M. F.; PADOVANI, C. R.; FURTADO, E. L.; SOUZA, N. L. Solarização em microcosmo: efeito de materiais vegetais na sobrevivência de fitopatógenos de solo e na

produção de voláteis. *Summa Phytopathologica*, v.38, n.2, p.123-130, 2012.

BEDENDO, I.P. Míldios. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. v.2, 4. ed., Piracicaba: Agronômica Ceres, p.467-472, 2011.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. *Epidemiologia de doenças de plantas*. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. v.2, 4. ed., Piracicaba: Agronômica Ceres, p.101-132, 2011.

BETTIOL, W.; GHINI, R. *Proteção de plantas em sistemas agrícolas*. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. *Métodos Alternativos de Controle Fitossanitário*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.79-96, 2003.

BI, Q.; MA, Z.I. Sensitivity, resistance stability, and cross-resistance of *Plasmopara viticola* to four different fungicides. *Crop Protection*, v.89, p.265-272, 2016.

BLUM, L.E.B. *Patógenos pós-colheita*. In: BLUM, L.E.B.; CARES, J.E.; UESUGI, C.H. (Eds.). *Fitopatologia o estudo das doenças de plantas*. 1 ed. Brasília: Editora Otimismo, 2006, p.242-248.

BOAVA, L.P.; KUHN, O.J.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M.; FURTADO, E.L. Atividade de quitinases e peroxidases em folhas de eucalipto em diferentes estágios de desenvolvimento após tratamento com acibenzolar-S-metil (ASM) e inoculação com *Puccinia psidii*. *Tropical Plant Pathology*, v.35, n.2, p.124-128, 2010.

BOIDO, E.; GARCÍA-MARINO, M.; DELLACASSA, E.; CARRAU, F. Characterisation and evolution of grape polyphenol profiles of *Vitis vinifera* L. cv. Tannat during ripening and vinification. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, v.17, p.383–393, 2011.

BOSO, S.; ALONSO-VILLAVARDE, V.; GAGO, P.; SANTIAGO, J.L.; MARTÍNEZ, M.C. Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) of different *Vitis* varieties. *Crop Protection*, v.63, p.26–35, 2014.

BRAGA, M.R. *Fitoalexinas*. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Eds). *Interação planta-patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008, 305-346.

BRASIL. *Lei 10.831 de 23 de dezembro de 2003*. Diário Oficial da União, Brasília, 24/12/2003.

BURRUANO, S. The life-cycle of *Plasmopara viticola*, cause of downy mildew of vine. *Mycologist*, v.14, p. 179–182, 2000.

BUSTAMANTE, M.A. Agrochemical characterization of the solid by-products and residues from the winery and distillery industry. *Waste Management*, v.28, p.372-380, 2008.

CABÚS, A.; PELLINI, M.; ZANZOTTI, R.; DEVIGILI, L.; MAINES, R.; GIOVANNINI, O.; MATTEDI, L.; MESCALCHIN, E. Efficacy of reduced copper dosages against *Plasmopara viticola* in organic agriculture. *Crop Protection*, v.96, p.103-108, 2017.

CALVO-GARRIDO, C.; VINAS, I.; ELMER, P.A.G.; USALLC, J.; TEIXIDO, N. Suppression of *Botrytis cinerea* on necrotic grapevine tissues by early-season applications of natural products and biological control agents. *Pest Management Science*, v.70, p.595–602, 2014.

CAMARGO, U.A.; MAIA, J.D.G.; RITSCHER, P.S. BRS Carmem: nova cultivar de uva tardia para suco. *Comunicado Técnico*, 84. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2008. 4p.

CAMARGO, U.A.; MAIA, J.D.G.; RITSCHER, R. *Embrapa Uva e Vinho: novas cultivares brasileiras de uva*. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2010, 64p.

CAMARGO, U.A.; TONIETTO, J.; HOFFMANN, A. Progressos na viticultura brasileira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.33, n.1, p.144-149, 2011.

CAMILI, E.C.; BENATO, E.A.; PASCHOLATI, S.F.; CIA, P. Vaporização de ácido acético para o controle pós-colheita de *Botrytis cinerea* em uva 'Itália'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.32, n.2, p.436-443, 2010.

CAMPOS, L.M.A.S. *Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (Vitis vinifera): parâmetros de processo e modelagem matemática*. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Santa Catarina. 121p, 2005.

CASALI, C.A.; MOTERLE, D.F.; RHEINHEIMER, D.S.; BRUNETTO, G.; CORCINI, A.L.M.; KAMINSKI, J.; DE MELO, G.W.B. Formas e dessorção de cobre em solos cultivados com videira na Serra Gaúcha do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, v.32, n.4, p.1479-1487, 2008.

CAVALCANTI, F.R.; PEREIRA, V.F.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M Aspectos da indução de resistência em plantas de videira. *Documentos*, 88. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2014. 20p.

CHALFOUN, N.R.; CASTAGNARO, A.P.; DÍAZ-RICCI, J.C.; *Uma subtilisina secretada por Acremonium strictum induz a resposta defensiva contra patógenos em plantas*. In: SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; SILVA, C.M.; MAIA, A.J.; FARIA, C.M.D.R.; COLELLA, J.C.T. Indução de resistência em plantas a patógenos. Maringá: UEM/MPA, 2014. p.29-54.

CHAVARRIA, G.; DOS SANTOS, H.P. Cultivo protegido de videira: manejo fitossanitário, qualidade enológica e impacto ambiental. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.35, n.3, p.910-918, 2013.

CHENG, V.J.; BEKHIT, A. E. A.; MCCONNELL, M.; MROS, S.; ZHAO, J. Effect of extraction solvent, waste fraction and grape variety on the antimicrobial and antioxidant activities of extracts from wine residue from cool climate. *Food Chemistry*, v.134, p.474-482, 2012.

COMARELLA, C.G.; SAUTTER, C.K.; EBERT, L.C. Polifenóis totais e avaliação sensorial de suco de uvas Isabel tratadas com ultrassom. *Brazilian Journal of Food Technology*, IV SSA, p. 69-73. 2012.

COSTA, J.C.B.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JUNIOR, P.M.; CAMILO, F.C.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, R.B. Indução de resistência em mudas de cacaueteiro contra *Moniliophthora perniciosa* por produto à base de mananoligossacarídeo fosforilado. *Tropical Plant Pathology*, v.35, n.5, 2010.

CUZZI, C. *Extratos de canola no controle de Botrytis cinerea in vitro e do mofo cinzento em pós-colheita de morangos*. 2013. 62 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2013.

D'ADDABO, T.; LAQUALE, S.; LOVELLI, S.; CANDIDO, V.; AVATO, P. Biocide plants as a sustainable tool for the control of pests and pathogens in vegetable cropping systems. *Italian Journal of Agronomy*, v.9, p.137-145, 2014.

D'ADDABO, T.; SASANELLI, N. The suppression of *Meloidogyne incognita* on tomato by grape pomace soil amendments. *Nematologia Mediterranea*, n.26, p.145-149, 1998.

DANNER, M.A.; SASSO, S.A.Z.; MEDEIROS, J.G.S.; MARCHESE, J.A.; MAZARO, S.M. Indução de resistência à podridão-parda em pêssegos pelo uso de eliciadores em pós-colheita. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.43, p.793-799, 2008.

DE CORATO, U.; PANE, C.; BRUNO, G.L.; CANCELLARA, F.A.; ZACCARDELLI, M. Co-products from a biofuel production chain in crop disease management: A review. *Crop Protection*, v.68, p.12-26, 2015.

DOREY, S.; BAILLIEUL, F.; BARKA, E.A.; CLÉMENT, C. *Mechanisms of induced tolerance of grapevine to Botrytis cinerea*. In: SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; SILVA, C.M.; MAIA, A.J.; FARIA, C.M.D.R.; COLELLA, J.C.T. Indução de resistência em plantas a patógenos. Maringá: UEM/MPA, 2014. p.255-272.

DURRANT, W.E.; DONG X. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, v.42, p.185-209, 2004.

FAO. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Download data. Versão eletrônica disponível, 2014. Disponível: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acessado em 02 mar., 2017.

GABASTON, J.; RICHARD, T.; BIAIS, B.; WAFFO-TEGUO, P.; PEDROT, E.; JOURDES, M.; CORIO-COSTET, M.F.; MÉRILLON, J.M. Stilbenes from common spruce (*Picea abies*) bark as natural antifungal agent against downy mildew (*Plasmopara viticola*). *Industrial Crops & Products*, v.103, p.267–273, 2017.

GALLOTTI, G.J.M.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SÔNEGO, O.R. *Controle das doenças da videira*. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Eds) *Controle de Doenças de Plantas Fruteiras*. Viçosa: UFV, v.2, p.939-1023, 2002.

GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.R. *Manejo de Doenças de videira*. In: NEF/UFLA (Org.) *Manejo integrado de doenças de fruteiras*. Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2007. Lavras: UFLA, p. 65-86, 2007.

GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.R. VALDEBENITO-SANCHUEZA, R.M. *Controle racional de doenças da videira e da macieira*. In: STADNIK, M.J; TALAMINI, V. (Eds). *Manejo Ecológico de doenças de plantas*. Florianópolis: CCA/UFSC, p. 221-244, 2004.

GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.S. *Podridão Cinzenta da Uva: Epidemiologia, Sintomatologia e Controle*. 2005. Bento Gonçalves, RS Circular Técnica, 59. 7p.

GENTA, W.; TESSMANN, D.J; ROBERTO, S.R.; VIDA, J.B.; COLOMBO, L.A.; SCAPIN, C.R.; RICCE, W.S.; CLOVIS, L.R. *Manejo de míldio no cultivo protegido de videira de mesa 'BRS Clara'*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.45, n.12, p.1388-1395, 2010.

GHINI, R.; KIMATI, H. *Resistência de fungos a fungicidas*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GUERRERO, R. F.; BIAIS, B.; RICHARD, T.; PUERTAS, B.; WAFFO-TEGUO, P.; MERILLON, J. M.; CANTOS-VILLAR, E. Grapevine cane's waste is a source of bioactive stilbenes. *Industrial Crops and Products*, v. 94, p. 884-892, 2016.

GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F. Local and systemic induction of  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Phytopathology*, v.144, n.9/10, p.449-454. 1996.

HANDISENI, M.; BROWN, J.; ZEMETRA, R.; MAZZOLA, M. Effect of Brassicaceae seed meals with different glucosinolate profiles on *Rhizoctonia* root rot in wheat. *Crop Protection*, v.48, p. 1-5, 2013.

HARMAN, G.E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, v.84, n.4, p.376–393, 2000.

JACOMETTI, M.A.; WRATTEN, S.D.; WALTER, M. Review: Alternatives to synthetic fungicides for *Botrytis cinerea* management in vineyards. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, v.16, p.154-172, 2010.

KARLING, M.; BICAS, T.C.; LIMA, V.A.; OLDONI, T.L.C. Grape and apple pomaces from southern Brazil: valorization of by-products through investigation of their antioxidant potential. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.0, p.1-9, 2017.

KAVROULAKISA, N.; EHALIOTISA, C.; NTOUGIASA, S.; ZERVAKISA, G.I.; PAPADOPOULOU, K.K. Local and systemic resistance against fungal pathogens of tomato plants elicited by a compost derived from agricultural residues. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.66, p.163-174, 2005.

KHALIQ, A.; MATLOOB, A.; CHEEMA, Z.A.; FAROOQ, M. Allelopathic activity of crop residue incorporation alone or mixed against rice and its associated grass weed jungle rice (*Echinochloa colona*). *Chilean Journal of Agricultural Research*, v.71, n.3, p.418-422, 2011.

KORNDORFER, G.H. *Elementos benéficos*. IN: FERNANDES, M.S. Nutrição mineral de plantas. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.355- 374.

KRÓL, A.; AMAROWICZ, R.; WEIDNER, S. The effects of cold stress on the phenolic compounds and antioxidant capacity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *Journal of Plant Physiology*, v.189, p.97–104, 2015.

KY, I., LORRAIN, B.; JOURDES, M.; PASQUIER, G.; FERMAUD, M.; GÉNY, L.; REY, P.; DONECHE, B.; TEISSEDRE, P.L. Assessment of grey mould (*Botrytis cinerea*) impact on phenolic and sensory quality of Bordeaux grapes, musts and wines for two consecutive vintages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, v.18, p.215–226, 2012.

LEITE, C.D.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.D.R.; MAIA, A.J. Extrato de alho e óleo vegetal no controle do míldio da videira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.33, n.2, p.429-436, 2011.

LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. *Analytical Biochemistry*, v.47, n.1, p.273-279, 1972.

LIN, C.M.; PRESTON, J.E.; WEI, C.I. Antibacterial mechanism of allyl isothiocyanate. *Journal of Food Protection*, v.63, p.727–734, 2000.

LIU, S.L.; WU, J.; ZHANG, P.; HASI, G.; HUANG, Y.; LU, J.; ZHANG, Y.L. Response of phytohormones and correlation of SAR signal pathway genes to the different resistance levels of grapevine against *Plasmopara viticola* infection. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.107, p.56-66, 2016.

LO, S.C.C.; NICHOLSON, R.L. *Compostos fenólicos e a importância nas doenças de plantas*. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Eds). *Interação planta-patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008, 285-304.

LORENZETTI, E.R.; MONTEIRO, F.P.; SOUZA, P.E.; SOUZA, R.J.; SCALICE, H.K.; DIOGO JR, R.; PIRES, M.S.O. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.13, p.619-627, 2011.

MAIA, A.J.; OLIVEIRA, J.S.B.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FARIA, C.M.D.R.; BATISTA, A.F.; COSTA, W.F.; BATISTA, A.F. The control of Isariopsis leaf spot and downy mildew in grapevine cv. Isabel with the essential oil of lemon grass and the activity of defensive enzymes in response to the essential oil. *Crop Protection*, v.63, p.57-67, 2014b.

MAIA, A.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FARIA, C.M.D.R.; OLIVEIRA, J.S.B.; JARDINETTI, V.A.; BATISTA, B.N. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução de resistência em videira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.49, n.5, p.330-339, 2014a.

MANDAL, S. Induction of phenolics, lignina and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. *African Journal of Biotechnology*, v.9, n.47, p.8038–8047, 2010.

MARI, M.; DI FRANCESCO, A.; BERTOLINI, P. Control of fruit postharvest diseases: old issues and innovative approaches. *Stewart Postharvest Review*, v.10, n.1, 2014.

MARI, M.; LEONI, O.; BERNARDI, R.; NERI, F.; PALMIERI, S. Control of brown rot on stonefruit by synthetic and glucosinolate-derived isothiocyanates. *Postharvest Biology and Technology*, v.47, p.61-67, 2008.

MARI, M.; LEONI, O.; LORI, R.; CEMBALI, T. Antifungal vapour-phase activity of allyl-isothiocyanate against *Penicillium expansum* on pears. *Plant Pathology*, v.51, n.2, p.231–236, 2002.

MATIELLO, J.; BONALDO, S.M. Atividade elicitora de fitoalexinas em soja e sorgo por extratos e tinturas de espécies medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.15, n.4, 2013.



MAZUMDER, A.; DWIVEDI, A.; PLESSIS, J.D. *Sinigrin and Its Therapeutic Benefits*, *Molecules*, v.21, p.1-11, 2016.

MEJÍA-GARIBAY, B.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO A. Composition, diffusion, and antifungal activity of black mustard (*Brassica nigra*) essential oil when applied by direct addition or vapor phase contact. *Journal of Food Protection*, v.4, p.636-858, 2015.

MELLO, L.M.R. Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2012. *Comunicado Técnico*, 137. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2013.

MELO, P.S.; BERGAMASCHI, K.B.; TIVERON, A.P.; MASSARIOLI, A.P.; OLDONI, T.L.C.; ZANUS, M.C.; PEREIRA, G.E.; ALENCAR, S.M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. *Ciência Rural*, v.41, n.6, p.1088-1093, 2011.

MENDOZA, L.; COTORAS, M.; VIVANCO, M.; MATSUHIRO, B.; TORRES, S.; AGUIRRE, M. Evaluation of antifungal properties against the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* of anthocyanin rich-extracts obtained from grape pomaces. *Journal of the Chilean Chemical Society*, v.58, p.1725-1727, 2013.

MOCCELLIN, R. *Espécies de brássicas no controle de fitopatógenos habitantes do solo*. Dissertação de Mestrado, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Pato Branco-PR, 2011.

MORRA, M.J.; BOREK, V. Glucosinolate preservation in stored Brassicaceae seed meals. *Journal of Stored Products Research*, v.46, p.98–102, 2010.

MULHOLLAND, D.A.; THUERIG, B.; LANGAT, M.K.; TAMM, L.; NAWROT, D.A.; JAMES, E.E.; QAYYUM, M.; SHEN, D.; ENNIS, K.; JONES, A.; HOKKANEN. H.; DEMIDOVA, N.; IZOTOV, D.; SCHARER, H.J. Efficacy of extracts from eight economically important forestry species against grapevine downy mildew (*Plasmopara viticola*) and identification of active constituents. *Crop Protection*, v.102, p.104-109, 2017.

NACHTIGAL, J.C.; CAMARGO, U.A. Sistema de Produção de Uva de Mesa no Norte do Paraná. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. 2005. *Sistemas de Produção*, 10. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/MesaNorteParana/cultivares.htm>>. Acesso em: 02 de julho de 2017.

NAVES, R.L.; TESSMANN, D.J.; GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.R. Sistema de Produção de Uva de Mesa no Norte do Paraná. Embrapa Uva e Vinho, 2005. *Sistema de Produção*, 10. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/MesaNorteParana/>

doencas.htm. Acesso em: 10/02/2017.

NEVES, W.S.; FREITAS, L.G.; COUTINHO, M.M.; PARREIRA, D.F.; FERRAZ, S.; COSTA, M.D. Biofumigação do solo com espécies de brássicas para o controle de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, v.31, n.3, 2007.

NICHOLSON, R.L., JAMIL, F.F., SNYDER, B.A., LUE, W.L.; HISPkind, J. Phytoalexin synthesis in the juvenile sorghum leaf. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.33, p.271-278, 1988.

NICO A.I., JIMÉNEZ-DÍAZ R.M., CASTILLO P. Control of rootknot nematodes by composted agroindustrial wastes in potting mixtures. *Crop Protection*, v.23, p. 581-587, 2004.

OKA Y., SHAPIRA N., FINE P. Control of root-knot nematodes in organic farming systems by organic amendments and soil solarization. *Crop Protection*, v. 26, 1556-1565. 2007.

OLDONI, T.L.C.; OLIVEIRA, S.C.; ANDOLFATTO, S.; KARLING, M.; CALEGARI, M.A.; SADO, R.Y.; MAIA, F.M.C.; ALENCAR, S.M.; LIMA, V.A. Chemical characterization and optimization of the extraction process of bioactive compounds from propolis produced by selected bees journal of the Brazilian chemical society. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.26, p.2054-2062, 2015.

OLIVEIRA, D.A.; SALVADOR, A.A.; SMÂNIA, J.R.A.; SMÂNIA, E.F.A.; MARASCHIN, M.; FERREIRA, S.R.S Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of Biotechnology*, v.164, 423-432, 2013.

OLIVEIRA, M.D.M.; VARANDA, C.M.R., FÉLIX, M.R.F. Induced resistance during the interaction pathogen x plant and the use of resistance inducers. *Phytochemistry Letters*, v.15, p.152-158, 2016.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. *Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008. 627p.

PAZOLINI, K.; DOS SANTOS, I.; DALLEMOLE GIARETTA, R.; MARCONDES, M.M.; REINER, D.A.; CITADIN, I. The use of brassica extracts and thermotherapy for the postharvest control of brown rot in peach. *Scientia Horticulturae*, v.209, p.41-46, 2016.

PEDRAS, M.S.C.; SARWAR, M.G.; SUCHY, M.; ADIO, A.M. The phytoalexins from cauliflower, caulilexins A, B and C: Isolation, structure determination, syntheses and antifungal activity. *Phytochemistry*, v. 67, p.1503–1509, 2006.

PERAZZOLLI, M.; DAGOSTIN, S.; FERRARI, A.; ELAD, Y.; PERTOT, I. Induction of systemic resistance against *Plasmopara viticola* in grapevine by *Trichoderma harzianum* T39 and benzothiadiazole. *Biological Control*, v.47, p.228–234, 2008.

PEREIRA, V.F.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; REGINA, M.A.; MOTA, R.V.; VITORINO, L.R.R. Fosfito de potássio no controle do míldio da videira e características físico químicas de uvas Merlot. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.47, n.11, p.1581-1588, 2012.

PERIN, E.C.; SCHOTT, I.B. *Utilização de farinha extraída de resíduos de uva na elaboração de biscoito tipo cookie*. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, 2011.

PERNIOLA, O.S.; STALTARI, S.; CHORZEMPA, S.E.; GASSÓ, M.M.A.; MOLINA, M.D.C. Control biológico de *Fusarium graminearum*: utilización de *Trichoderma* spp. y biofumigación con parte aérea de *Brassica juncea*. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrárias*, v.46, n.2, p.45-56, 2014.

PERUCH, L.A.M.; MEDEIROS, A.M.; BRUNA, E.D.; STADINIK, M. Biomassa cítrica, extrato de algas, calda bordalesa e fosfito no controle do míldio da videira, cv. Niágara Branca. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, v.6, n.2, p.143-148, 2007.

PINTO; K.M.S.; NASCIMENTO, L.C.; OLIVEIRA, A.K.; LEITE, R.P.; SILVA, J.P. Resistência induzida em frutos de videira 'Isabel' (*Vitis labrusca*) e seus efeitos sobre a qualidade pós-colheita. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.35, n.1, p.210-217, 2013.

PIVA, C.A.G. *Extratos de canola e própolis no controle de oídio em pepineiro*. 2013. 91 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2013.

POMMER, C.V.; TERRA, M.M.; PIRES, E.J. *Cultivares, melhoramento e fisiologia: Cultivares de videira*. In: POMMER, C.V. (Ed.) Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.109-294, 2003.

PROTAS, J.F.S.; CAMARGO, U.A.; MELO, L.M.R. *A viticultura brasileira: realidade e perspectivas*. In: REGINA, M.A. Viticultura e enologia: atualizando conceitos. Caldas: EPAMIG/FECD, p.17-3, 2002.

REINER, D.A.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; SANTOS, I. DOS; OLDONI, T.L.C.; LOPES, E.A.; CHIARANI, A. Efeito nematicida de um subproduto da indústria vinícola em *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. *Ciência Técnica Vitivinícola*, v.31, p.24–30, 2016.

RIVERA, R.; ABALLAY, E. Nematicide effect of various organic soil amendments on *Meloidogyne ethiopica* on potted vine plants. *Chilean Journal of Agricultural Research*, v.68, n.3, p.290-296, 2008.

ROCKENBACH, I.I.; GONZAGA, L.V.; RIZELIO, V.M.; GONÇALVES, A.E.S.S.; GENOVESE, M.I.; FETT, R. Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International*, v.44, p.897–901, 2011.

ROSA, R.C.T.; CAVALCANTI, V.A.L.B.; COELHO, R.S.B.; PAIVA, J.E. Efeito de produtos alternativos e de fungicidas no controle do míldio da videira. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.3, p.256-258, 2008.

SAGDIC, O.; OZTURK, I.; OZKAN, G.; YETIM, H.; EKICI, L.; YILMAZ, M.T. RP-HPLC–DAD analysis of phenolic compounds in pomace extracts from five grape cultivars: Evaluation of their antioxidant, antiradical and antifungal activities in orange and apple juices. *Food Chemistry*, v.126, p.1749-1758, 2011.

SALVADOR, O.P.; CHORZEMPA, E.S.; STALTARI, S.; MOLINA, M.D.C. Biofumigación in vitro con *Brassica juncea* y *Sinapis alba*. Inhibición de la germinación y del crecimiento de plántulas de malezas. *Revista de la Facultad de Agronomía*, v.115, n.1, p.91-98, 2016.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; BONALDO, S.M. *Uso de extratos vegetais e cogumelos na indução de resistência de plantas a patógenos*. In: RODRIGUES, R.A.; FORTUNATO, A.A.; RESENDE, R.S. *Indução de resistência em plantas*. Universidade Federal de Viçosa; Departamento de Fitopatologia, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, 2012, 358p.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. *Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal*. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Eds). *Interação planta-patógeno: Fisiologia, bioquímica e biologia molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008, 227-283.

SERRANO-PÉREZ, P.; PALO, C.; RODRÍGUEZ-MOLINA, M.D.C. Efficacy of *Brassica carinata* pellets to inhibit mycelial growth and chlamydospores germination of *Phytophthora nicotianae* at different temperature regimes. *Scientia Horticulturae*, v.216, p.126–133, 2017.

SHANER, G.; FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in Knox Wheat. *Journal of Phytopathology*, v.67, n.8, p.1051-1056, 1977.

SILVA R.A.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I.; OLIVARES F.L. Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos. *Documento 250*. Seropédica: Embrapa Agrobiologia. p.49,

2008.

SILVA, C.M.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.R.D.; STADLER, T.P. Controle alternativo do míldio da videira com extrato aquoso de cinamomo e óleo vegetal. *Arquivos Instituto Biológico*, v.79, n.4, p.587-594, 2012.

SILVA, F. de A.S.; AZEVEDO, C.A.V. de. *Principal components analysis in the software Assistat-Statistical Attendance*. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7., 2009, Reno. Proceedings. Michigan: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SILVA, F.C. *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. 2.ed., Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 627p.

SILVÁN, J.M; MINGO, E.; HIDALGO, M.; PASCUAL-TERESA, S.; CARRASCOSA, A.V.; MARTINEZ-RODRIGUEZ, A.J. Antibacterial activity of a grape seed extract and its fractions against *Campylobacter* spp. *Food Control*, v.29, p.25-31, 2013.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L.R.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. *Circular Técnico*, 56. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005.

SPANGHERO, A.M.; SALEMB, A.Z.M.; ROBINSON, P.H. Chemical composition, including secondary metabolites and rumen fermentability of seeds and pulp of Californian (USA) and Italian grape pomace. *Animal Feed Science and Technology*, v.152, p.243-255, 2009.

STANGARLIN, J.R.; KUHN, J.O.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. *Scientia Agraria Paranaensis*, v.10, p.18-46, 2011.

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F; LABATE, C.A. Efeito de *Phaeoisariopsis griseola* na atividade de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (rubisco), clorofilase,  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 24, p. 59-66, 2000.

STEIMETZ, E.; TROUVELOT, S.; GINDRO, K.; BORDIER, A.; POINSSOT, B.; ADRIAN, M.; DAIRE, X. Influence of leaf age on induced resistance in grapevine against *Plasmopara viticola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.79, p.89-96, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 5.ed. Porto Alegre:Artemed, 2013. 954p.

TALONTSI, F.M.; ISLAM, M.T.; FACEY, P.; DOUANLA-MELI, C.; TIEDEMANN, A.V.; LAATSCH, H. Depsidones and other constituents from *Phomopsis* sp. CAFT69 and

its host plant *Endodesmia calophylloides* with potent inhibitory effect on motility of zoospores of grapevine pathogen *Plasmopara viticola*. *Phytochemistry Letters*, 5, p.657–664, 2012.

TÖFOLI, J.G.; FERRARI, J.T.; DOMINGUES, R.J.; NOGUEIRA, E.M.C. *Botrytis* sp. em espécies hortícolas: hospedeiros, sintomas e manejo. *Biológico*, v.73, n.1, p.11-20, 2011.

TZORTZAKIS, N.G.; ECONOMAKIS, C.D. Antifungal activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) essential oil against key postharvest pathogens. *Innovative Food Science e Emerging Technologies*, v.8, n.2, p.253-258, 2007.

UGOLINI, L.; MARTINI, C.; LAZZERI, L.; D'AVINO, L.; MARI, M. Control of postharvest grey mould (*Botrytis cinerea* Per. Fr.) on strawberries by glucisinate-derived allyl-isothiocyanate treatments. *Postharvest Biology and Technology*, v.90, p.34-39, 2014.

VAN LOON, L.C; VAN STRIEN, E.A. The families of pathogenesis related proteins, their activities, and comparative analysis of PR1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.55, p.85–97, 1999.

VELASCO, P.; CARTEA, M.E.; LEZ, C.G.; VILAR, M.; ORDAÑA, A. Factors affecting the glucosinolate content of kale (*Brassica oleracea acephala* Group). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, v.55, p.955–962, 2007.

VELASCO, P.; SOENGAS, P.; VILAR, M.; CARTEA, M.E. Comparison of glucosinolate profiles in leaf and seed tissues of different *Brassica napus* crops. *Journal American Society for Horticultural Science*, v.133, n.4, p.551-558, 2008.

VERVOORT, M.T.W; VONK, J.A.; BROLSMA, K.M.; SCHÜTZE, W.; QUIST, C.W.; GOEDE, R.G.M.; HOFFLAND, E.; BAKKER, J.; MULDER, C.; HALLMANN, J.; HELDER, J. Release of isothiocyanates does not explain the effects of biofumigation with Indian mustard cultivars on nematode assemblages. *Soil Biology & Biochemistry*, v.68, p.200-207, 2014.

VIRET O., KELLER M., JAUDZEMS V. G., COLE F. M. *Botrytis cinerea* infection of grape flowers: light and electron microscopical studies of infection sites. *Phytopathology*, v.94, p.850–857, 2004.

WALTERS, D.; NEWTON, A.; LYON, G. *Induced resistance for plant defence – a sustainable approach to crop protection*. Oxford: Blackwell, 2007. 258p.

WIRTH, S.J.; WOLF, G.A. Micro-plate colorimetric assay for endo-acting cellulase, xylanase, chitinase, 1,3- $\beta$ -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. *Soil Biology and Biochemistry*, v.24, p.511-519, 1992.

WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Caracterização parcial de elicitores de fitoalexinas em sorgo isolados de *Saccharomyces cerevisiae*. *Fitopatologia Brasileira*, v.24, p.428-435. 1999.

YU, J.; MORISHITA, D.W. Response of seven weed species to corn gluten meal and white mustard (*Sinapis alba*) seed meal rates. *Weed Technology*, v.28, p.259–265, 2014.

ZAGKLIS, D.P.; PARASKEVA, C.A. Purification of grape marc phenolic compounds through solvent extraction, membrane filtration and resin adsorption/desorption. *Separation and Purification Technology*, v.156, p.328–335, 2015.

ZANARDO, N.M.T.; PASCHOLATI, S.F.; FIALHO, M.B. Resistência de plântulas de pepineiro a *Colletotrichum lagenarium* induzida por frações de extrato de *Saccharomyces cerevisiae*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.44, p.1499-1503, 2009.