



CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL EM BIOTECNOLOGIA E GESTÃO
VITIVINÍCOLA

ROSEMERI INÊS CONTE RIZZOTTO

CONTROLE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA
COM O USO DE *Trichoderma* sp. E DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Cymbopogon citratus*

CAXIAS DO SUL - RS

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
 Universidade de Caxias do Sul
 UCS - BICE - Processamento Técnico

R627c Rizzotto, Rosemeri Inês Conte, 1985-
 Controle da podridão da uva madura com o uso de *Trichoderma sp.* e
 do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* / Rosemeri Inês Conte Rizzotto.
 – 2015.
 84 f. : il. ; 30 cm

Apresenta bibliografia.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de
 Pós-Graduação em Biotecnologia, 2015.
 Orientadora: Profa. Dra. Rute Terezinha da Silva Ribeiro.

1. Pragas – Controle biológico. 2. Essências e óleos essenciais. 3. Uvas
 – Cultivo – Controle biológico. 4. *Glomerella cingulata*. I. Título.

CDU 2. ed.: 632.937

Índice para o catálogo sistemático:

1. Pragas – Controle biológico	632.937
2. Essências e óleos essenciais	665.5
3. Uvas – Cultivo – Controle biológico	634.8:632.937
4. <i>Glomerella cingulata</i>	582.282

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária
 Ana Guimarães Pereira – CRB 10/1460

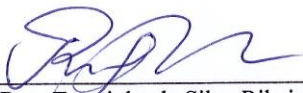
ROSEMERI INÊS CONTE RIZZOTTO

CONTROLE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA COM O USO DE *Trichoderma sp* E DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Cymbapogon citratus*

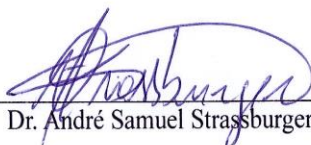
Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em
Biotecnologia e Gestão Vitivinícola da Universidade de Caxias do Sul,
visando à obtenção de grau de Mestra em Biotecnologia e Gestão
Vitivinícola.

Orientadora: Dra. Rute Terezinha da Silva Ribeiro

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27 DE ABRIL DE 2015.



Dra. Rute Terezinha da Silva Ribeiro
Orientadora



Dr. André Samuel Strassburger



Dra. Valdirene Camatti Sartori



Dr. Gabriel Fernandes Pauletti

DEDICO

À minha FAMÍLIA,
pelo incentivo, apoio, dedicação,
sendo o alicerce de minha vida,
tornando possível mais esta conquista.

AGRADECIMENTOS

À DEUS,

Agradeço por me acompanhar nos momentos difíceis, dando-me paciência, força e acima de tudo persistência, permitindo-me assim vencer mais esta etapa.

Aos meus PAIS, obrigado pelas lições de amor, fé e dignidade.

A UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL, ao Centro de Ciências Biológicas e da Saúde e a comissão do curso de Mestrado em Biotecnologia e Gestão Vitivinícola, pela oportunidade do curso de mestrado.

Em especial à Prof^a. Dr^a. RUTE TEREZINHA DA SILVA RIBEIRO, orientadora e amiga, por caminhar comigo nesta jornada, dando o apoio, a compreensão, o respeito e acima de tudo a dedicação e confiança que depositou em mim desde os anos de graduação.

Aos PROFESSORES e a toda EQUIPE do LABORATÓRIO DE FITOPATOLOGIA, Minha gratidão por repartirem comigo seus conhecimentos, transformando meus ideais em realizações.

Aos COLEGAS,

A convivência humana é a mais doce experiência que o homem pode almejar, é uma das maiores satisfações que alegra nossas vidas. Pela dedicação e pela amizade com que me acolheram neste curto espaço de tempo, meu muito obrigado!

À FLORENÇA Comercial Agro Ltda. e à DILLON Biotecnologia Ltda., pelo apoio financeiro e flexibilização de horários permitindo a minha participação nas disciplinas oferecidas durante os horários de trabalho.

“O segredo é não correr atrás das borboletas...
É cuidar do jardim para que elas venham até você.”

Mário Quintana.

RESUMO

O cultivo da videira no estado do Rio Grande do Sul é de grande importância, sendo responsável pela produção de mais da metade das uvas colhidas no país. A podridão da uva madura, causada pelo agente patogênico *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*), tem provocado sérios prejuízos nos vinhedos da Serra Gaúcha nestes últimos anos. Para o controle desta doença tem-se usado intensivamente e indiscriminadamente agrotóxicos, os quais tem causado diversos danos ao meio ambiente. O objetivo do presente trabalho foi gerar conhecimento básico e aplicado sobre o controle da podridão da uva madura, enfocando aspectos relativos ao controle biológico com *Trichoderma* spp. e óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. Para isso analisou-se *in vitro* o efeito antifúngico de diferentes concentrações do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), de isolados de *Trichoderma* spp. e de fungicidas, no controle do patógeno *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*). Com isso estabeleceu-se a concentração de 0,2% do óleo essencial, o isolado T8 de *Trichoderma* sp. e o fungicida Tebuconazole para serem aplicados nas videiras a fim de controlar a podridão da uva madura. Também avaliou-se, *In Vivo*, o biofungicida comercial Trichodel[®], composto por células do fungo *Trichoderma* spp em diferentes dosagens. No momento de colheita, avaliou-se as características das uvas tratadas e determinou-se a eficiência dos diferentes tratamentos no controle da doença. No teste no vinhedo de Niágara Branca a produtividade foi menor no tratamento com o óleo essencial de *C. citratus*, não diferindo estatisticamente com a testemunha, sem aplicação de produtos com ação sobre a doença podridão da uva madura. Os demais tratamentos apresentaram produção entre 28 e 30,5 ton/ha. Em relação ao peso médio dos cachos, também não foram observadas grandes variações, sendo que não houveram diferenças significativas entre os tratamentos, inclusive no tratamento testemunha. O teor de sólidos solúveis totais foi de 14° Brix em todos os tratamentos. Quanto à incidência e a severidade da doença, todos os tratamentos diferiram com a testemunha. O tratamento com fungicida foi o que apresentou os melhores resultados, seguido dos tratamentos alternados entre o fungicida e o óleo essencial de *C. citratus* e do tratamento com o fungicida e o antagonista *Trichoderma* sp. O biofungicida Trichodel[®] testado em diferentes dosagens não demonstrou incremento na ação sobre a doença com o aumento da dosagem. O isolado T8 de *Trichoderma* sp. não diferiu com o biofungicida. Enquanto que a menor redução foi observada no tratamento com o óleo essencial de *C. citratus*. Conclui-se que o controle alternado entre o fungicida e o antagonista *Trichoderma* spp. é a melhor forma para se promover o controle da podridão da uva madura com menor impacto ambiental, ou seja reduzindo o número de aplicações de agrotóxicos.

Palavras chave: controle biológico, óleo essencial, *Glomerella cingulata*.

ABSTRACT

The vine cultivation in Rio Grande do Sul state is of great importance, being responsible for producing more than half of the grapes harvested in the country. The rot of ripe grape, caused by the pathogen *Glomerella cingulata* (*Colletotrichum gloeosporioides*), has caused serious damage in the vineyards of the Gaucha Saw in recent years. To control this disease has been used intensively and indiscriminately pesticides, which has caused extensive damage to the environment. The objective of this study was to generate basic knowledge and applied on the control of the ripe grape rot, focusing on aspects of biological control using *Trichoderma* spp. and essential oil *Cymbopogon citratus*. To this was analyzed *In Vitro* antifungal effect of different concentrations of essential oil of lemongrass (*Cymbopogon citratus*), isolates of *Trichoderma* spp. and fungicides in controlling pathogen *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*). With this set is the concentration of 0.2% essential oil, isolated T8 *Trichoderma* sp. Tebuconazole and the fungicide to be applied on the vines to control grape ripe rot. Also it was evaluated *in vivo* commercial biofungicide Trichodel® consisting of *Trichoderma* spp cells at different dosages. At the time of harvest, it was evaluated the characteristics of the treated grapes and determined the effectiveness of different treatments in controlling the disease. In the test at the White Niagara vineyard productivity was lower in the treatment with the essential oil of *C. citratus*, did not differ statistically with the witness without application products acting on the rot of ripe grape disease. The other treatments showed production between 28 and 30,5ton/ha. Compared with the average weight of bunches also large variations were observed, and there were no significant differences between treatments, including the control treatment. The total soluble solids content was 14° Brix in all treatments. The incidence and severity of the disease, all treatments differed with the witness. Treatment with fungicide showed the best results, followed by alternate treatments between the fungicide and the essential oil of *C. citratus* and treatment with fungicide and antagonist *Trichoderma* sp. The Trichodel® biofungicide tested in different dosages showed no increase in action on the disease with increasing dosage. The isolated T8 *Trichoderma* sp. it did not differ with the biofungicide. While the smallest decrease was observed in the treatment with the essential oil of *C. citratus*. Concludes that the control alternated between the fungicide and the antagonist *Trichoderma* spp. it is the best way to promote control of the ripe grape rot with less environmental impact, ie reducing the number of pesticide applications.

Keywords: biological control, essential oil, *Glomerella cingulata*.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Cymbopogum citratus</i> identificados por GC/MS e respectivos teores.....	41
TABELA 2 -	Relação de fungicidas recomendados pela Embrapa Uva e Vinho para controle da podridão da uva madura	42
TABELA 3 -	Análise química do solo na área do vinhedo de Niágara Branca de propriedade de Francisco Conte. Flores da Cunha, RS.....	45
TABELA 4 -	Dados meteorológicos mensais da Serra Gaúcha. Ano 2013	46
TABELA 5 -	Tratamentos, época de aplicação, doses e produtos utilizados. Flores da Cunha, RS. Safra 2013/2014.....	47
TABELA 6 -	Relação do período e das condições climáticas em que foram realizadas as aplicações dos tratamentos T1 ao T8	48
TABELA 7 -	Registro de inseticidas, fungicidas e outros insumos aplicados na área do vinhedo de Niágara Branca de propriedade de Francisco Conte. Flores da Cunha, RS. Safra 2013/14.....	49

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 -** Regiões vitivinícolas brasileiras: Serra Gaúcha, Campanha, Serra do Sudeste e Campos de Cima da Serra, no Rio Grande do Sul, Planalto Catarinense, em Santa Catarina, e Vale do São Francisco, no Nordeste do país..... 17
- FIGURA 2 -** Ciclo de vida do fungo *Glomerella cingulata* na uva 21
- FIGURA 3 -** Sintomas da podridão da uva madura em Niágara Branca..... 22
- FIGURA 4 -** Estádios de maior suscetibilidade às doenças – Região Subtropical.....25
- FIGURA 5 -** Dois exemplos de mecanismos envolvidos no antagonismo exercido por *Trichoderma*: a) micoparasitismo: o micélio de *Trichoderma* penetra e invade o micélio do patógeno promovendo a sua degradação, b) competição: *Trichoderma* e patógeno competem juntos pelo mesmo espaço e por nutrientes do meio..... 30
- FIGURA 6 -** Microscopia óptica através de um sistema de captura de imagens dos micélios de fungos fitopatogênicos tratados com 0,15% de óleo essencial da *S. aromaticum*: *R. solani* (**6A**-controle e **6B**-tratamento), aumento de 40 X; *F. oxysporum* (**6C**-controle e **6D**-tratamento), aumento de 40 X; *F. solani* (**6E**-controle e **6F**-tratamento), aumento de 40 X; *M. phaseolina* (**6G**-controle e **6H**-tratamento), aumento de 100 X (2G) e de 40 X (2H)..... 35

FIGURA 7 -	Esmagamento das uvas e leitura do grau Brix com o mostímetro. Flores da Cunha, safra 2013/14	51
FIGURA 8 -	Escala de avaliação da severidade da doença podridão da uva madura (quartos destruídos)	52
FIGURA 9 -	Crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i> sob efeito de fungicidas e do óleo essencial de <i>C. citratus</i> . A, C e E: Fungicidas ao 3º dia, 7º dia e 14º dia, respectivamente; B, D e F óleo essencial nas concentrações 0; 0,01; 0,05; 0,15 e 0,20%, ao 3º dia, 7º dia e 14º dia, respectivamente.....	55
FIGURA 10 -	Crescimento micelial de <i>C. gloeosporioides</i> , (A) em meio BDA e (B) em meio BDA enriquecido com 0,2% de Twen 20	57
FIGURA 11 -	Notas do antagonismo <i>in vitro</i> entre linhagens de <i>Trichoderma</i> sp. e isolados de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> de acordo com a escala de Bell <i>et al.</i> (1982)	58
FIGURA 12 -	Efeito dos tratamentos na produtividade das videiras	60
FIGURA 13 -	Peso médio dos cachos	61
FIGURA 14 -	Incidência da podridão da uva madura	63
FIGURA 15 -	Severidade da podridão da uva madura	64

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. A CULTURA DA VIDEIRA	16
2.2. A CULTIVAR NIÁGARA BRANCA	18
2.3. DOENÇAS DA VIDEIRA	19
2.4. PODRIDÃO DA UVA MADURA	20
2.5. CONTROLE DE DOENÇAS DA VIDEIRA	23
2.6. CONTROLE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA	25
2.7. CONTROLE BIOLÓGICO.....	26
2.8. <i>Trichoderma</i> spp. COMO AGENTE DE BIOCONTROLE	27
2.8.1. MECANISMOS ANTAGÔNICOS UTILIZADOS POR <i>Trichoderma</i> spp.	29
2.9. <i>Trichoderma</i> spp. NA AGRICULTURA	31
2.10. OS ÓLEOS ESSENCIAIS	32
2.11. ÓLEOS ESSENCIAIS NA AGRICULTURA	36
2.12. O ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cymbopogon citratus</i>	38
3. OBJETIVOS.....	39
3.1. OBJETIVO GERAL	39
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4. MATERIAL E MÉTODOS	40
4.1. OBTENÇÃO DOS MICRORGANISMOS	40
4.2. OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	40

4.3. EFEITO ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Cimbopogon citratus</i> SOBRE <i>C. gloeosporioides</i> – <i>In Vitro</i>	41
4.4. EFEITO ANTAGÔNICO DE ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. SOBRE <i>C. gloeosporioides</i> – <i>In Vitro</i>	43
4.5. CONDUÇÃO DO VINHEDO E AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA	44
4.5.1. FERTILIDADE DO VINHEDO	44
4.5.2. DADOS CLIMÁTICOS	45
4.5.3. TRATAMENTOS NO VINHEDO.....	46
4.5.4. PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE <i>Trichoderma</i> sp.	50
4.5.5. VARIÁVEIS ANALISADAS NOS TRATAMENTOS <i>In Vivo</i>	50
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1. EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL E DOS FUNGICIDAS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>C. gloeosporioides</i>	53
5.2. EFEITO DOS ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> spp. SOBRE <i>C. gloeosporioides</i>	57
5.3. AVALIAÇÃO DOS DIFERENTES TRATAMENTOS EMPREGADOS PARA O CONTROLE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA	59
6. CONCLUSÕES	67
7. PERSPECTIVAS	68
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1. INTRODUÇÃO

A podridão da uva madura é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., que corresponde a fase imperfeita ou assexual de *Glomerella cingulata* (Stonemam) Spauld & Schrenk, a fase perfeita ou sexual (SÔNEGO *et al.*, 2005). Os principais sintomas da doença observados nos cachos no período de maturação ou em uvas colhidas, surgem como manchas circulares marrom avermelhadas sobre a película das bagas atacadas, escurecendo o fruto totalmente na sequência. Embora os sintomas tornem-se visíveis somente na uva madura, o fungo pode penetrar em todos os estádios de desenvolvimento do fruto, permanecendo latente até a fase de maturação (GARRIDO & SONEGO, 2004).

Para controle de doenças fúngicas os produtores têm usado intensivamente agrotóxicos, os quais tem causado diversos problemas ao ambiente. Os fungicidas causam sérios danos à saúde humana; seleção de patógenos resistentes; fitotoxicidade à cultura; e persistem nos frutos sob a forma de resíduos químicos indesejáveis, além de apresentarem pequeno espectro de ação (PEREIRA *et al.*, 2009). Visando minimizar os efeitos do uso dessas substâncias e aumentar a produção de alimentos de melhor qualidade, por meio de uma agricultura “mais limpa”, busca-se novas medidas de proteção das plantas contra doenças (ZANANDREA *et al.*, 2004).

Desta forma, a busca por métodos alternativos de controle de doenças fúngicas, como a exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes nas plantas (ROZWALKA, 2003) ou a ação de micro-organismos benéficos na redução dos efeitos deletérios de fitopatógenos, torna-se cada vez mais necessária.

Os óleos essenciais obtidos de partes de plantas (VITTI & BRITO, 2003), têm demonstrado eficiência no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungicida direta quanto pela indução de resistência na planta, indicando a presença de compostos com características de eliciadores (BALBI-PEÑA *et al.* 2006; ROZWALKA *et al.*, 2008). Já as espécies antagonistas de *Trichoderma* spp. têm demonstrado ação inibitória *in vitro* e *in vivo* sobre diversos fungos fitopatogênicos (POMELLA & RIBEIRO, 2009).

Portanto o objetivo geral deste trabalho foi gerar conhecimento básico e aplicado sobre o controle da podridão da uva madura, enfocando aspectos relativos ao controle biológico com *Trichoderma* spp e o óleo essencial de *Cymbopogum citratus*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A CULTURA DA VIDEIRA

A videira é uma planta perene, lenhosa, caducifólia, sarmentosa e provida de gavinhas, da família das Vitáceas. Esta família apresenta onze gêneros e aproximadamente 450 espécies, das quais as duas que mais se destacam são a *Vitis labrusca* (uvas comuns) e a *Vitis vinifera* (uvas finas). As uvas comuns ou americanas utilizadas geralmente para consumo *in natura* e para a produção de sucos e vinhos de mesa são originárias da América do Norte e, as uvas finas ou europeias que são utilizadas para a produção de vinhos finos, tem sua origem na Ásia Central (SOUZA, 2013).

A cultura da videira teve início na Ásia Ocidental, entre a Armênia e a Pérsia e, entre os Mares Negro e Cáspio. O seu cultivo chegou ao Brasil por volta do ano de 1540, na Capitania de São Vicente (GIOVANNINI, 2008) e em 1626 foi introduzida no Rio Grande do Sul pelo jesuíta Roque Gonzales de Santa Cruz, na região das Missões. Em 1742, outra introdução foi feita pelos açorianos e madeirenses, ambas, porém foram feitas com cultivares de origem europeia. Em 1840, o gaúcho José Marques Lisboa enviou os primeiros ramos de videira americana (*Vitis labrusca*), cultivar Isabel, ao amigo e comerciante Thomas Messiter (alguns autores citam Thomas Maister), os quais foram plantados na Ilha dos Marinheiros, município de Rio Grande, de onde se espalhou para todo o Estado (NACHTIGAL & MIGLIORINI, 2009).

Em função da diversidade ambiental, no Brasil existem polos com viticultura característica de regiões temperadas com um período de repouso hibernar definido, polos em áreas subtropicais onde normalmente a videira é cultivada com dois ciclos anuais definidos em função de um período de temperaturas mais baixas no qual há risco de geadas; e polos de viticultura tropical onde é possível a realização de podas sucessivas, com dois e meio a três ciclos vegetativos por ano (SOUZA, 2013).

Hoje a área de produção vitivinícola no País soma 83,7 mil hectares, divididos em seis regiões: *i.* Encosta Superior do Nordeste conhecida como “Serra Gaúcha”; *ii.* Campanha (Bagé e Santana do Livramento); *iii.* Serra do Sudeste (Pinheiro Machado e

Encruzilhada do Sul) e iv. Campos de Cima da Serra, no Rio Grande do Sul; v. Planalto Catarinense, em Santa Catarina; e vi. Vale do São Francisco, no Nordeste do país, conforme mostra a Figura 1 (Wines of Brasil, 2014).

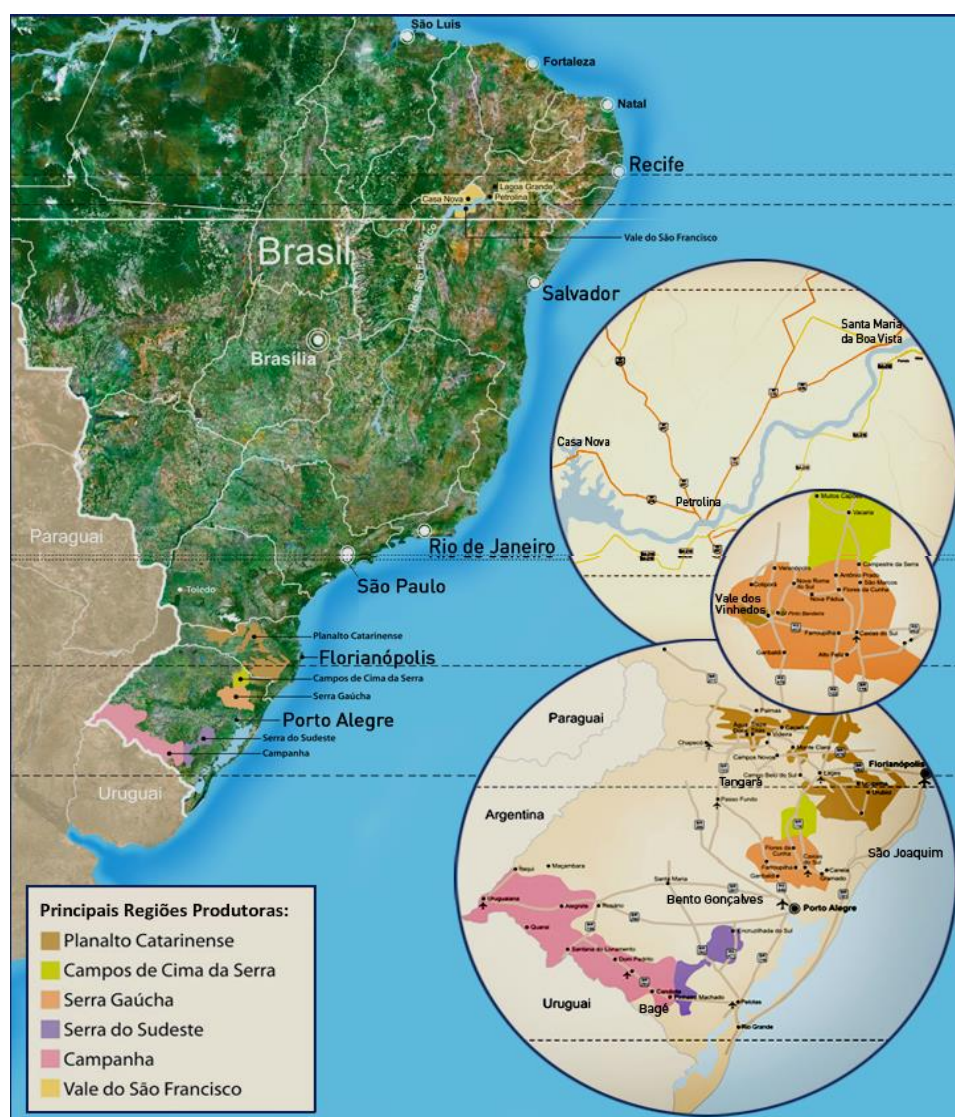


FIGURA 1: Regiões vitivinícolas brasileiras. **Fonte:** (Wines of Brasil, 2014).

O Estado do Rio Grande do Sul é responsável por mais de 50% da produção de uva e por 90% da produção nacional de vinhos e derivados (CHAVARRIA & SANTOS, 2013) e a sua principal região produtora é a Serra Gaúcha, onde a viticultura ocorre em pequenas propriedades, com média de 15 ha de área total, sendo destes 40% a 60% de área útil e 2,5

ha de vinhedos, pouco mecanizada devido à topografia acidentada, predominando o uso da mão de obra familiar, cada propriedade dispondo em média de quatro pessoas (SOUZA, 2013).

Mais de 80% da produção da Região Serrana do Rio Grande do Sul se origina de variedades americanas (*Vitis labrusca*, *Vitis bourquina*) e híbridas interespecíficas. As variedades de maior expressão neste grupo são: Isabel, Bordô (Ives), Niágara Branca, Concord, Niágara Rosada, Jacquez e Seibel 1077. Entre as castas de *Vitis vinifera*, destacam-se as cultivares de uvas brancas Moscato Branco, Riesling Itálico, Chardonnay e Trebbiano (Ugni Blanc); e entre as tintas as principais são Cabernet Sauvignon, Merlot, Cabernet Franc, Tannat, Ancellota e Pinotage (IBRAVIN, 2013).

Na região da Serra Gaúcha as condições climáticas em alguns anos podem apresentar-se desfavoráveis ao cultivo da videira. A frequência e a distribuição de chuvas são elementos climáticos de grande importância no processo produtivo, sendo que nesta região sul do Brasil, há uma série histórica pluviométrica com tendência ao excesso se comparada as regiões vitícolas tradicionais de outros países (WESTPLALEN, 2000).

Essas condições são extremamente favoráveis ao desenvolvimento de doenças fúngicas. Para o controle destas doenças são necessárias diversas aplicações de fungicidas. No mercado, está disponível uma diversidade de princípios ativos para o controle de doenças da videira, porém há grande pressão da sociedade para que se produza frutas com menor emprego de agrotóxicos (SONEGO *et al.*, 2003).

2.2. A CULTIVAR NIÁGARA BRANCA

A variedade de *Vitis labrusca*, Niágara Branca foi obtida a partir do cruzamento das variedades Concord e Cassady, no condado de Niágara, Nova Iorque, nos Estados Unidos. Entrou no Brasil pelo Estado de São Paulo em 1894, difundindo-se para vários estados brasileiros. No sul e sudeste do país foi amplamente plantada devido a sua rusticidade e resistência às doenças. Destacam-se atualmente como produtores de Niágara Branca os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Minas Gerais. Esta variedade é utilizada principalmente como fonte de matéria prima para a elaboração de vinho e suco, por suas

características de aroma e sabor, amplamente aceito pelo consumidor brasileiro (SOUZA, 2013).

2.3. DOENÇAS DA VIDEIRA

Em todas as regiões vitícolas do mundo, doenças e pragas constituem os maiores obstáculos ao desenvolvimento da cultura, pois afetam a quantidade e a qualidade das uvas produzidas. No Brasil, as doenças e pragas representam séria ameaça a viticultura, sendo um fator limitante para a exploração em determinados locais (FAJARDO *et al.* 2003).

Existe uma série de doenças causadas por fungos, vírus, bactérias e nematoides que prejudicam a videira, entretanto as fúngicas constituem o principal problema na maioria das regiões produtoras de uva do Brasil (NACHTIGAL & MIGLIORINI, 2009).

Segundo Fajardo *et al.* (2003), o hábito perene da videira a submete a diversas formas de estresses no campo, tornando mais severos os sintomas quando os patógenos e as pragas encontram condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento. Conforme pesquisas realizadas por Hamada *et al.* (2011), o ambiente pode influenciar no crescimento e na suscetibilidade da planta hospedeira; na multiplicação, disseminação e sobrevivência do patógeno e na interação entre a planta hospedeira e o patógeno.

As principais doenças fúngicas da parte aérea da videira são o míldio (*Plasmopara viticola*), a antracnose (*Elsinoe ampelina*), a podridão cinzenta (*Botrytis cinerea*), o oídio (*Uncinula necator*), a podridão do cacho (*Glomerella cingulata*), a escoriose (*Phomopsis viticola*), a mancha das folhas (*Isariopsis clavispora*) e a ferrugem (*Phakopsora euvitidis*) (SÔNEGO *et al.* 2005).

Devido às características climáticas da Encosta Superior do Nordeste, conhecida como “Serra Gaúcha”, observa-se com frequência a realização de colheitas antecipadas com o intuito de evitar perdas ocasionadas por podridões dos frutos de ocorrência ao final do ciclo, o que resulta no comprometimento da qualidade da uva e do mosto pela paralisação do processo de maturação (CHAVARRIA *et al.* 2010; CHAVARRIA & SANTOS, 2013).

Para a elaboração de vinhos, espumantes e sucos é importante que a uva seja colhida no momento exato, quando os teores de açúcar sejam altos e a acidez equilibrada (SOUZA, 2013), entretanto a sanidade das uvas destinadas a produção deve ser observada quando se tem em vista a qualidade dos vinhos (SANTOS & CHAVARRIA, 2012). Algumas doenças fúngicas, além de prejudicarem a produção das uvas propriamente, afetam a qualidade dos vinhos durante o processo de vinificação e envelhecimento. As podridões do cacho consistem em um grande problema na viabilidade da produção vitícola por não existirem, ainda, medidas de controle inteiramente eficazes (CHAVARRIA & SANTOS, 2013).

2.4. PODRIDÃO DA UVA MADURA

A podridão da uva madura é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., fase imperfeita ou assexual do *Glomerella cingulata* (Stonemam) Spauld & Schrenk, fase perfeita ou sexual, que tem pouca importância no ciclo da doença, porém é responsável pelos processos de variabilidade genética do patógeno (GARRIDO & SÔNEGO, 2004; GIOVANNINI, 2008).

Esta doença também é conhecida como podridão de *Glomerella* e “ripe rot” em outros países, ocorrendo mais intensamente em regiões de clima quente e úmido durante a fase de maturação da uva, e podendo continuar a causar danos mesmo depois da uva colhida (GARRIDO & SONEGO, 2004), atingindo cultivares híbridas e americanas (GUERREIRO, 2006; LIMA, 2008).

Epidemias surgiram a partir de exigências por melhores padrões de qualidade do vinho, o que resultou em uvas com melhor maturação (°Brix mais alto). No entanto, esta condição associada à presença de fatores climáticos favoráveis e a suscetibilidade do estágio fenológico, pode levar a infecção pelo patógeno e à doença (GARRIDO & SONEGO, 2004). Segundo Guerreiro (2006), o aumento da incidência do fungo *G. cingulata* nos parreirais ocorreu a partir da safra 2000/2001.

A infecção pelo fungo pode ocorrer em todos os estádios de desenvolvimento do fruto, desde a floração até a colheita. Quando a infecção ocorre ao final da florada e na

frutificação (limpeza do cacho), o patógeno permanece latente até o início da maturação, e somente a partir do início desse estágio se iniciam os sintomas primários (HAMADA *et al.* 2011). Ou seja, ocorre a germinação dos conídios, formação de apressório e penetração nas bagas em desenvolvimento, porém a partir daí o patógeno permanece latente até a maturação do fruto e só então reinicia seu desenvolvimento (FAJARDO *et al.*, 2003).

Os sintomas da doença iniciam-se com pequenas manchas pardo avermelhadas que se estendem sobre as bagas, com o desenvolvimento de zonas concêntricas (KIMATI, 2005). Na presença de condições favoráveis, principalmente alta umidade, as bagas apodrecidas tornam-se densamente cobertas por estruturas reprodutivas, os acérvulos, na forma de numerosas pústulas cinza escuro. Posteriormente, estas pontuações abrem-se exibindo um crescimento róseo do fungo, que são os conídios do fungo, sendo então a doença facilmente diagnosticada (GARRIDO & SÔNEGO, 2004).

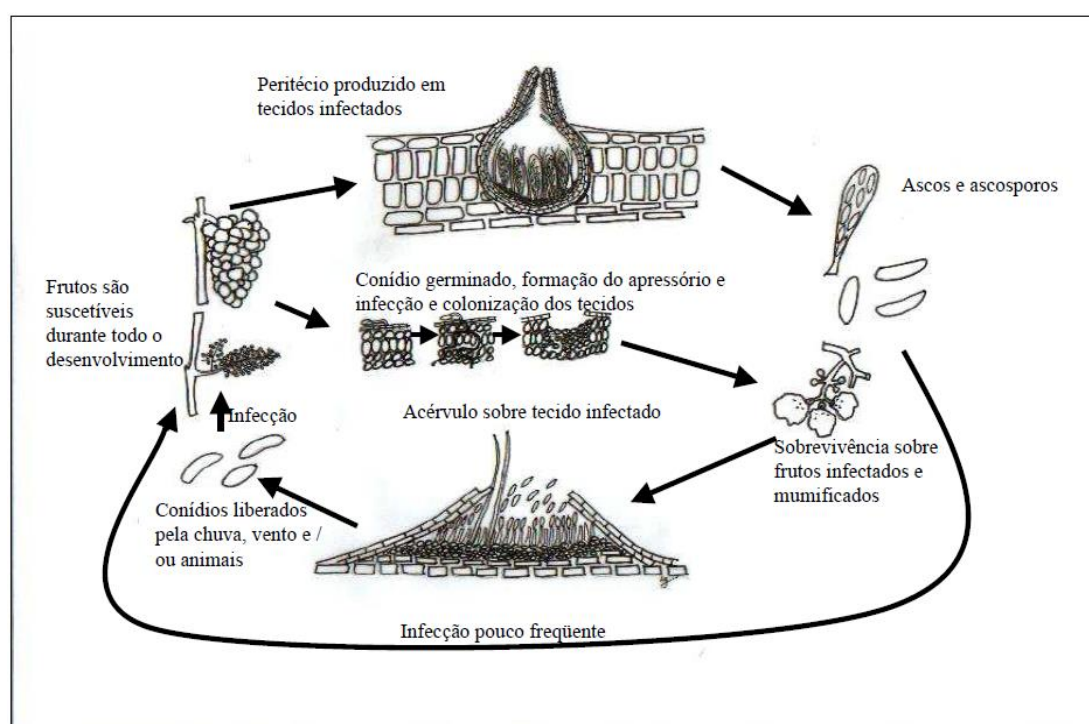


FIGURA 2. Ciclo de vida do fungo *Glomerella cingulata* na uva. **Fonte:** (GARRIDO & SÔNEGO, 2004).

Com o desenvolvimento do fungo, as bagas apresentam depressões no ponto de infecção e gradualmente tornam-se murchas e mumificadas, enquanto as pústulas continuam a produzir os esporos que por fim cobrem as bagas (Figura 3) (GARRIDO &

SÔNEGO 2004; GUERREIRO, 2006). As bagas apodrecidas podem permanecer presas ao cacho ou cair ao solo (LIMA, 2008).



FIGURA 3. Sintomas da podridão da uva madura em Niágara Branca. **Fonte:** Arquivo.

Garrido & Sônego (2004) relatam que o fungo apresenta dois picos de liberação de conídios, no início da primavera, quando muitos frutos mumificados da safra anterior estão presentes e, durante a maturação da uva, devido à presença de frutos em estado de apodrecimento. Pradella (2013) cita que nestas épocas se devem intensificar os tratamentos visando o controle da doença.

A disseminação dos conídios do fungo ocorre principalmente através do vento e da chuva (LIMA, 2008), mas os insetos e outros animais também podem participar deste processo (FAJARDO *et al.*, 2003). Na disseminação do inóculo, a água é de grande importância para a diluição prévia da substância mucilaginosa que envolve a massa de conídios, facilitando a germinação. Após forma-se um apressório que é essencial para a infecção, pois se fixa firmemente na parede do hospedeiro (GUERREIRO 2006).

A presença de *G. cingulata* é favorecida por precipitações maiores que 9 mm por dia e temperatura média entre 16°C e 26,5°C, ocorrendo maior população em temperatura de 24°C. (PRADELLA, 2013). Segundo Schenato *et al.* (2008) a combinação mais favorável a infecção pelo fungo é de 24°C e 24 h de molhamento, quando a incidência pode atingir 32%. No mesmo trabalho estes autores relatam que a temperatura menos favorável foi de 20°C e 4 h de molhamento, com incidência de 3%.

É fundamental conhecer as características climáticas da região de produção, visto que estas influenciam no crescimento e na suscetibilidade da planta hospedeira, na multiplicação, disseminação e sobrevivência do patógeno e na sua interação com a planta hospedeira (HAMADA *et al.* 2011).

A viticultura do Brasil está concentrada em regiões de clima temperado e subtropical, com verões úmidos e de clima tropical semiárido (TONIETTO, 2003). Conforme Garrido & Sônego (2004), a podridão da uva madura ocorre com mais frequência em regiões de clima quente e úmido.

A podridão da uva madura tem causado danos na produção e qualidade das uvas para processamento na Serra Gaúcha, RS. As perdas costumam ser significativas em anos com chuvas durante a fase de maturação e também nos vinhedos, para os quais não foram adotadas medidas adequadas de controle (GARRIDO *et al.*, 2008).

2.5. CONTROLE DE DOENÇAS DA VIDEIRA

Segundo Sônego (2000), quando a videira é cultivada em condições climáticas de elevada precipitação e temperaturas favoráveis ao desenvolvimento de patógenos e durante o seu período vegetativo está sujeita a uma série de doenças fúngicas e a falta de controle na época correta pode causar elevadas perdas na produção.

O diagnóstico de uma doença necessita ser preciso, identificando-se o agente causal (SÔNEGO & GARRIDO, 1999). O conhecimento da biologia do patógeno e das condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento das epidemias, bem como a identificação correta do agente causal da doença, os estádios de maior suscetibilidade e o conhecimento da resistência varietal em relação aos patógenos, auxiliam no estabelecimento de um

programa de controle racional de doenças, tornando os tratamentos mais eficientes e reduzindo os custos de produção e os riscos de contaminação do ambiente (NAVES *et al.*, 2006; SÔNEGO *et al.*, 2005; GARRIDO & SÔNEGO, 2004). Estes cuidados quando adotados podem auxiliar na redução dos danos provocados por diferentes patógenos e as medidas de controle adotadas pelos agricultores, no entanto segundo Grigoletti & Sônego (1993) e Carvalho (2012) em sucessivas safras tem-se verificado aumento da resistência em fungos em relação aos tratamentos químicos, o que pode determinar incremento no número de pulverizações e de princípios ativos utilizados. Em diversas regiões do Brasil, os produtores usualmente realizam pulverizações semanais (método por calendário) com a intenção de garantir a produção, mas muitas vezes, sem a real necessidade de aplicação de fungicidas (CHAVARRIA & SANTOS, 2013).

Levando em consideração os impactos à natureza, provocados pelos agrotóxicos e acompanhando as tendências mundiais, a partir das últimas décadas o consumidor brasileiro passou a valorizar alimentos produzidos em sistemas que estabeleçam compromissos com a preservação do ambiente, da saúde do produtor e da estrutura de produção, e que possibilitem interação consumidor/produtor, com um produto final que atenda aos requisitos de segurança alimentar (ROMBALDI *et al.*, 2004; BOHNER *et al.*, 2012).

Termos como, “agricultura alternativa” ou “agricultura sustentável” desde os anos 1980 obtêm expressão política e estimulam a busca por novas medidas de proteção das plantas contra as doenças (ZADOKS, 1992). Consequentemente, desde então alguns pesquisadores têm voltado sua atenção para novas formas de controle de doenças de plantas.

O manejo de produção integrado (MIP) com a utilização de agrotóxicos e biopesticidas é uma estratégia eficiente que pode reduzir o volume e o número de aplicações dos produtos químicos, minimizando os impactos provocados ao meio ambiente, saúde e resíduos no produto a ser consumido (RIBAS, 2010). Neste contexto, a utilização do controle biológico e a indução de resistência nas plantas podem se apresentar como alternativas interessantes (PASCHOALOTI, 1998; SAITO *et al.*, 2009). Agentes biológicos podem atuar na prevenção da infecção, pela redução na colonização do tecido

hospedeiro e da redução da esporulação ou da sobrevivência do patógeno (PUNJA & UTKHEDE, 2003).

2.6. CONTROLE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA

Para um controle eficiente da podridão da uva madura, a retirada e a destruição das fontes de inóculo é o ponto inicial a ser adotado. Além disso, é fundamental a adoção de maior espaçamento entre as plantas e realização da poda verde, proporcionando boa aeração e insolação entre as plantas, redução do tempo de molhamento e facilitando o contato e a penetração dos fungicidas nos cachos de uva (GARRIDO & SÔNEGO, 2004).

Outra prática muito importante é a utilização de uma adubação adequada evitando-se o excesso de adubos nitrogenados, pois estes estimulam o desenvolvimento excessivo das plantas, tornando-as mais vigorosas e com tecidos mais tenros, o que facilita a sua infecção (GARRIDO *et al.*, 2008).

Segundo Garrido & Sônego (2004), o controle através de produtos com ação fungicida deve ser realizado nos seguintes estádios: na floração, na fase de grão chumbinho, no início da compactação do cacho, no início e durante a maturação da uva, respeitando-se sempre o período de carência do fungicida utilizado (Figura 4).

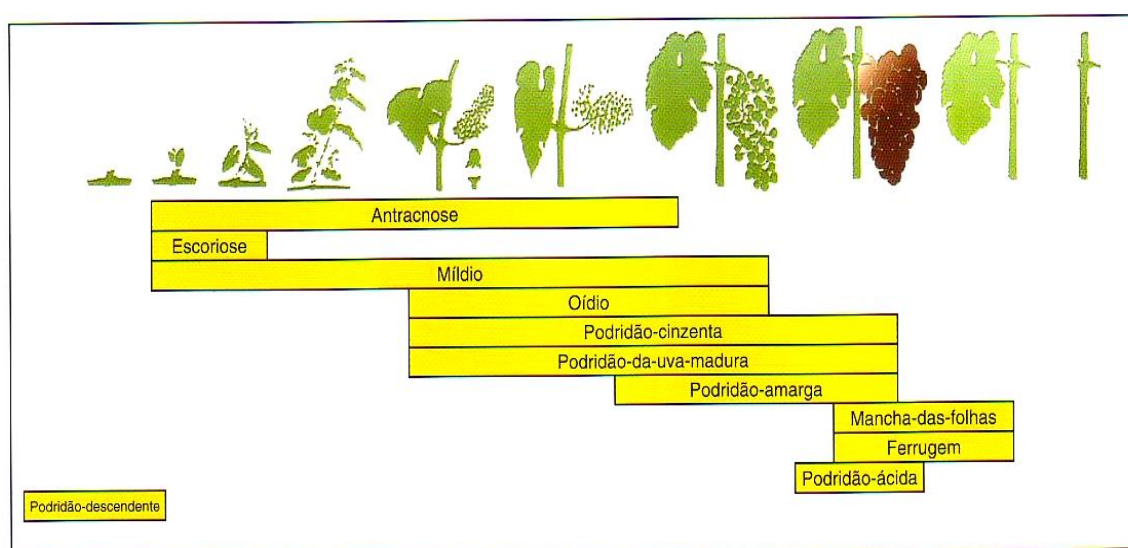


FIGURA 4. Estádios de maior suscetibilidade às doenças – Região Subtropical. Fonte: (GARRIDO *et al.* 2008).

Apesar do combate às doenças ser altamente dependente de agrotóxicos, que de modo geral são eficazes, eles podem trazer consequências indesejáveis. Segundo Lima *et al.*, (2000), agrotóxicos são substâncias químicas altamente tóxicas que podem se acumular no organismo de quem entra em contato com os mesmos e são capazes de causar câncer e mutações genéticas em descendentes.

Outras formas de controle têm sido investigadas com sucesso como relatado por Naves *et al.*, (2008), que observaram redução na porcentagem de podridão da uva madura (*Colletotrichum gloeosporioides*) empregando o fungo *Clonostachys rosea* superior a 90%. Os autores também relataram outros resultados alcançados no mesmo experimento, com Serenade, Sonata e iprodione que reduziram a doença em 72%, 74% e 88%, respectivamente. Espécies do fungo saprófita *Trichoderma* também têm sido utilizadas com sucesso como agentes de controle biológico de algumas doenças causadas por fungos fitopatogênicos (MELO & AZEVEDO, 1998).

Em estudo realizado por Silva *et al.* (2012), foi verificado o potencial de inibição dos óleos essenciais de Capim-limão (*Cymbopogum citratus*), tomilho (*Thymus vulgaris*), erva-doce (*Pimpinella anisum*), cravo (*Eugenia caryophyllata*), canela (*Cinnamomum* sp.), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), na concentração de 0,5% e tomilho 0,1% sobre conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*.

2.7. CONTROLE BIOLÓGICO

São muitas as definições de controle biológico. Cook & Baker (1983), dois dos mais importantes pesquisadores desta área o definiram como sendo “a redução de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno, realizada por um ou mais organismos que não o homem”.

Segundo Melo (1991), o controle biológico ocorre sob dois aspectos: o natural, sendo um fator efetivo que determina o balanço ecológico entre patógenos e seus antagonistas, sem a interferência humana; e o aplicado, que consiste na introdução e manipulação de inimigos naturais. O controle biológico, através da aplicação de micro-

organismo pode reduzir as doenças das plantas, sendo uma poderosa alternativa ao uso dos químicos sintéticos.

A ênfase na pesquisa, o desenvolvimento de uma abordagem de manejo integrado amplificou o interesse econômico no controle biológico, cuja premissa básica é manter a densidade populacional das espécies de patógenos e pragas associadas à agricultura, em níveis econômicos e ecológicos aceitáveis (LIMA *et al.*, 2000).

A utilização de controle biológico constitui-se em um processo fundamental para atender a demanda, cada vez maior, de produtos e alimentos livres de resíduos deixados pela aplicação de agrotóxicos. Além da preocupação por alimentos mais saudáveis, sem resíduos, a questão ambiental também está diretamente relacionada ao ensejo social de mudança do padrão químico convencional para métodos integrados de produção (BETTIOL & MORANDI, 2009).

2.8. *Trichoderma* spp. COMO AGENTE DE BIOCONTROLE

O gênero *Trichoderma* pertence à Ordem Hypocreales, que compreende fungos de vida livre que se reproduzem assexuadamente e estão presentes com concentração que varia de 10^1 a 10^3 propágulos por grama de solo, principalmente em regiões de clima temperado e tropical (HARMAN *et al.*, 2004). Segundo Melo (1998) *Trichoderma* spp. é um fungo natural do solo encontrado especialmente em solos orgânicos, que pode viver saprofiticamente ou parasitando outros fungos.

Trichoderma spp. é um micoparasita necrotrófico eficaz no controle de inúmeros fungos fitopatogênicos, principalmente aqueles com estrutura de resistência consideradas difíceis de serem atacadas por micro-organismos, como esporos, escleródios, clamidósporos e micro escleródios (MELO, 1996). Dentre os agentes de biocontrole, *Trichoderma* spp. tem sido um dos mais utilizados devido as suas características peculiares de antagonismo no solo e inclusive já foram relatados como indutores de resistência sistêmica em plantas. O mecanismo de ação antagonística de *Trichoderma* resulta de uma interação de diversas ações como antibiose (produção e liberação de metabólitos voláteis e não voláteis), parasitismo e competição por nutrientes entre outros fatores (ETHUR *et al.*,

2008), e é provável que estes diferentes mecanismos atuem em sinergia durante a interação antagonica (PUNJA & UTKHEDE, 2003). Entretanto, segundo Bettiol & Morandi (2009) seu uso para controle de doenças foliares não tem apresentado o mesmo sucesso obtido com o controle de doenças radiculares, devido às condições impróprias para seu desenvolvimento no filoplano das plantas.

Uma série de fatores bióticos e abióticos pode apresentar efeito sobre a eficácia de *Trichoderma*. Alguns fatores importantes a serem considerados são temperatura, potencial de água e pH, além da presença de pesticidas, íons metálicos e bactérias antagonistas, presentes na parte aérea das plantas (KREDICS *et al.*, 2003). Segundo Iost & Bettiol (2012), o aumento da radiação UV-B reduz a germinação de conídios de isolados de *Trichoderma*, demonstrando uma diminuição gradativa da viabilidade dos conídios com o aumento da exposição à radiação, sendo que todos os isolados apresentaram a mesma sensibilidade.

Mas apesar da dificuldade em se obter resultados satisfatórios contra doenças de parte aérea alguns trabalhos atestam a habilidade antagonística de conídios de *Trichoderma*. Por exemplo, Hjeljord e Tronsmo (1998) avaliaram *Trichoderma harzianum* (*atroviride*) no controle de *Botrytis cinerea* em laboratório, casa de vegetação e à campo, na produção de morangos. Nesse experimento foi observado por eles a redução de germinação dos conídios de *B. cinerea* em até 87% em laboratório, 85% em casa de vegetação e, em morangueiros, os conídios pré ativados de *Trichoderma* reduziram em até 60% a infecção de *B. cinerea* na parte aérea das plantas na temperatura de 12°C.

Sabemos também que existem agentes de biocontrole que não apresentam performances satisfatórias em situações de campo comparativamente aos fungicidas químicos. Avaliando este fator, Brunner *et al.* (2003), realizaram experimentos para melhorar linhagens de *T. atroviride* em sua capacidade antagonista e na indução da resistência sistêmica em plantas. Com os resultados os autores constataram que genes heterólogos controlados por promotores induzidos por patógenos podem aumentar o efeito antagonico de *Trichoderma* e melhorar a resistência da planta às doenças.

2.8.1. MECANISMOS ANTAGÔNICOS UTILIZADOS POR *Trichoderma* spp.

A atividade de *Trichoderma* spp. contra fungos fitopatogênicos foi relatada primeiramente por Weindling (1934). A seguir, diversos pesquisadores têm debatido a função das enzimas e antibióticos no processo antagônico (HARAN *et al.*, 1996). Os mecanismos propostos para que resultem em biocontrole são competição, parasitismo e antibiose ou a combinação sinérgica desses modos de ação (BÉLANGER *et al.*, 1995).

A competitividade entre organismos depende exclusivamente da capacidade de manter-se no ambiente colonizado por inúmeros outros organismos. Segundo Chet (1990), a quantidade natural de unidades formadoras de colônia de *Trichoderma* está em torno de 10^2 unidades/grama de solo, e a quantidade mínima requerida para obter-se um biocontrole efetivo é de aproximadamente 10^6 /grama de solo. Choudary (2007), em experimento *in vitro*, com cultivo duplo em placa de Petri, mostrou que *Trichoderma* sp. tem alto aproveitamento dos meios de cultivo devido a sua velocidade de crescimento, portanto a atividade competitiva deste fungo deve ser de suma importância no processo de biocontrole de doenças em plantas *in vivo*.

O micoparasitismo, ataque direto de um fungo a outro, destaca-se pela complexidade e o número de etapas envolvidas neste processo. Primeiramente, linhagens de *Trichoderma*, detectam outro fungo e crescem em sua direção (CHET, 1990) e, após o reconhecimento enzimas constitutivas degradadoras de parede celular catalisam a liberação de oligômeros da parede do fungo alvo, os quais induzem a expressão de endoquitinases que iniciam o ataque ao fungo alvo (BRUNNER *et al.*, 2003). Em sequência o ataque ao fungo alvo ocorre por antibióticos e crescimento em direção e enrolamento em torno de suas hifas, produção de apressórios e enzimas que degradam a parede celular. Na sequência penetra no interior das hifas hospedeiras, resultando no micoparasitismo e consequente dissolução das paredes e do conteúdo celular, os quais são absorvidos pelo *Trichoderma* (HARMAN *et al.*, 2004) (Figura 5).

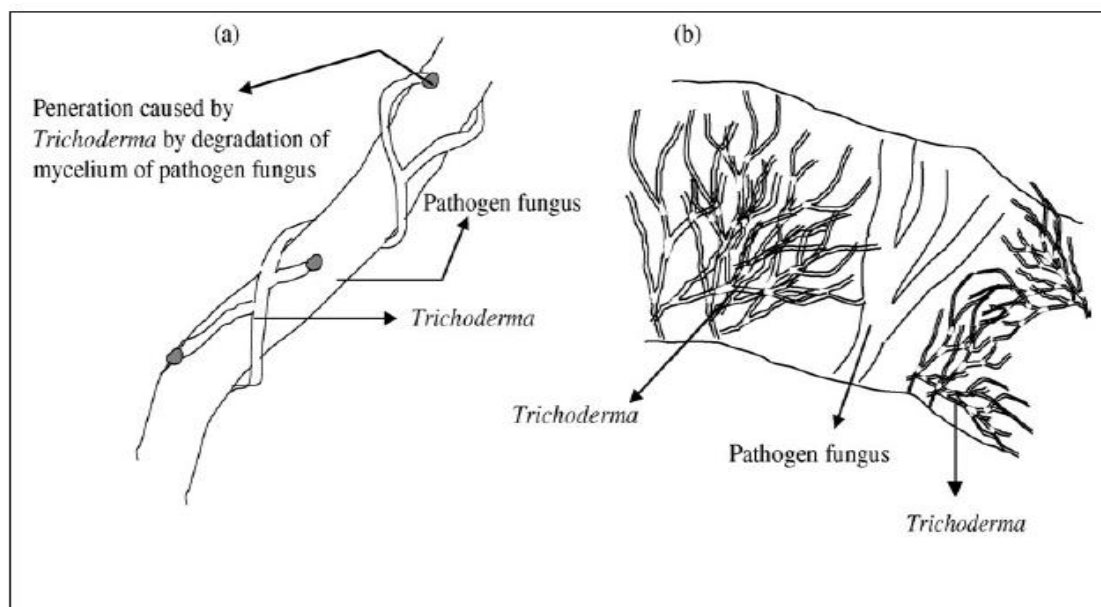


FIGURA 5: Dois exemplos de mecanismos envolvidos no antagonismo exercido por *Trichoderma*: a) micoparasitismo: o micélio de *Trichoderma* penetra e invade o micélio do patógeno promovendo a sua degradação, b) competição: *Trichoderma* e patógeno competem juntos pelo mesmo espaço e por nutrientes do meio. **Fonte:** (HARMANN, 2011).

Segundo Bélanger (1999), a antibiose pode ser caracterizada como a interação entre dois organismos, na qual um ou mais metabólitos produzidos por um deles tem efeito danoso sobre o outro. A ação antimicrobiana de *Trichoderma* spp. pode estar ligada a produção de metabólitos extracelulares (BETTIOL, 1991), como a harzianopiridona que pode inibir o crescimento de uma gama de fungos fitopatogênicos. Outro metabólito já caracterizado é o 6-n-pentyl-2H-pyran-2-one (6PAP), que de acordo com Cooney & Lauren (1998), é produzido em quantidades diferentes dependendo dos isolados utilizados, causando efeitos inibitórios distintos nos fitopatógenos, como consequência dessa variabilidade. Pode-se citar ainda, ácido harziânico, alameticinas, tricolinas, massoilactona, glisopreninas, ácido heptelídico, antraquinonas, butenolides, izonotrininas, gliotoxina, gliovirina, trichoviridina, koninginina A, viridiol, viridina, harzianodiona (VINALE *et al.*, 2008).

A produção de metabólitos voláteis, por biotipos específicos de *T. harzianum* que possuem efeito fungistático, foi comprovada na inibição de crescimento de *Agaricus*

bisporus em meio de cultura. Nesse trabalho foram obtidos resultados variáveis de acordo com cada biotipo, mas sempre com inibição, tanto em meio sólido quanto líquido. Esse efeito também foi comprovado por Lobo Junior & Abreu (2000), que testaram *T. viride*, *T. aureoviride*, *T. pseudokoningii* e *T. koningii* contra *Sclerotinia sclerotiorum*, obtendo produção de metabólitos por todas as espécies e não havendo diferença entre os antagonistas quanto à inibição do patógeno, mas sim em relação as diferentes temperaturas empregadas.

2.9. *Trichoderma* spp. NA AGRICULTURA

Para a aplicação de produtos à base de *Trichoderma* spp. em grande escala na agricultura comercial é necessário a produção massal deste micro-organismo, que consiste em uma fermentação sólida, na qual é feito inóculo dos esporos do fungo em grãos de arroz autoclavado, visando à produção de esporos como ingrediente ativo do produto. Posteriormente, a uma temperatura que varia de 25 – 28° C, o fungo se desenvolve e esporula no arroz inoculado. Esse arroz esporulado é então processado (RIBEIRO, 2009). Por ser constituído de células vivas, o armazenamento do produto biológico deve ser sob refrigeração ou em local protegido da luz solar e com temperaturas até 28° C (POMELLA & RIBEIRO, 2009).

Segundo Braga *et al.* (2001), a radiação solar é o fator que mais interfere durante a aplicação de um agente de controle biológico a campo, ou seja, as radiações UV-A e UV-B podem inativar propágulos de agentes de biocontrole em poucas horas. Entretanto Reddy *et al.* (2008) sugerem a utilização de aditivos na formulação para aumentar a resistência e/ou diminuir a exposição dos conídios as radiações, que causam nas células uma desorganização nas membranas celulares, desnaturação de proteínas, inativação do metabolismo respiratório, estresse oxidativo, dano ao DNA, RNA e ribossomos. Portanto as aplicações de produtos biológicos devem ser em condições de média a alta umidade relativa do ar, porém em cultivos protegidos, devido à menor incidência de raios ultravioleta, as exigências são menores (POMELLA & RIBEIRO, 2009).

2.10. ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, de baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas, constituídas por moléculas de natureza terpênica. Frequentemente apresentam odor agradável e marcante. Em temperatura ambiente apresentam aspecto oleoso, tendo como principal característica a volatilidade. Geralmente são incolores ou levemente amareladas, com sabor ácido e picante, pouco estáveis em presença de luz, calor e ar, além de serem pouco solúveis em água (SIMÕES & SPIZER, 1999).

Os óleos essenciais são originados do metabolismo secundário das plantas e possuem composição química complexa, destacando-se a presença de terpenos e fenilpropanoides (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A agricultura sustentável ou alternativa pode ser definida como aquela que utiliza racionalmente os recursos naturais, visando suprir as necessidades das gerações presentes e futuras. Entre estes recursos, está a utilização de compostos químicos presentes nas plantas e que são resultantes do metabolismo primário e secundário (CARVALHO *et al.*, 2005).

No metabolismo das plantas, encontram-se moléculas que caracterizam o metabolismo básico e, moléculas associadas ao metabolismo secundário. O primeiro grupo comporta substâncias indispensáveis à planta e que se formam graças ao processo fotossintético. O segundo grupo, oriundo do metabolismo, aparentemente sem atividade na planta, possui efeitos terapêuticos notáveis. Tais substâncias, denominadas, princípios ativos ou compostos secundários, são os óleos essenciais (ou essências naturais), resinas, alcaloides, flavonoides, compostos fenólicos, taninos, princípios amargos, entre outros (CRUZ, 2000).

Metabolismo é o conjunto de reações químicas que ocorre continuamente nas células, direcionado pela ação de enzimas. Estas reações visam sintetizar compostos como açúcares, aminoácidos, nucleotídeos e alguns polímeros, dentre outros, que vão garantir a sobrevivência dos organismos e por isso são considerados integrantes do metabolismo primário. Enquanto no metabolismo secundário, a produção de substâncias está restrita e limitada a um número menor de espécies que não estão diretamente ligados à manutenção

da vida do vegetal (MORAIS, 2009), porém conferem vantagens à sua sobrevivência, como a proteção contra herbivoria, atração de polinizadores ou dispersores de sementes, proteção aos raios ultravioleta, alelopatia e a atração de inimigos naturais (DELBONE & LANDO, 2010).

As principais classes de metabólitos secundários encontrados nas espécies vegetais são: alcaloides ou compostos nitrogenados, compostos fenólicos ou fenóis e terpenos ou terpenoides. Acredita-se que os alcaloides tenham ação contra predadores, atuando especificamente contra mamíferos herbívoros. Já os compostos fenólicos protegem as plantas contra raios UV, insetos, fungos, vírus, bactérias e possuem ação alelopática. E os terpenoides podem atuar como antibióticos protegendo as plantas de micro-organismos patogênicos, ou inibindo a germinação e desenvolvimento de plantas competidoras. Ainda, certas classes de terpenos são pigmentos e aromas presentes em flores e frutas, atraindo insetos para a distribuição de pólen e sementes (DELBONE & LANDO, 2010).

A síntese dos metabólitos secundários é regida pelas informações genéticas que compõem o vegetal, porém, esta pode ser redirecionada devido à ação de fatores bióticos (micro-organismos, insetos ou plantas) e abióticos (luz, temperatura e estresse hídrico, entre outros) que podem gerar situações de estresse ao vegetal (MORAIS, 2009). Um exemplo claro da influência dos fatores externos sobre a produção dos óleos foi observado em experimento realizado na Índia por Moraes (2009), que relatou a maior atividade antifúngica do citral extraído de plantas colhidas entre maio e novembro, seguido dos meses de dezembro e janeiro, com eficácia intermediária e quando o óleo essencial foi extraído de plantas colhidas nos meses de fevereiro, março e abril, mesmo em doses hipertóxicas não apresentou atividade antifúngica.

Segundo Oliveira *et al.* (2011), os óleos essenciais são considerados fontes de substâncias biologicamente ativas, principalmente contra microrganismos como bactérias, fungos filamentosos e leveduras.

Segundo Silva *et al.* (2003), a atividade antifúngica do óleo essencial está relacionada com sua hidrofobicidade, a qual permite a sua interação com os lipídeos da parede, da membrana celular e da mitocôndria, provocando então alterações na permeabilidade e outros distúrbios nestas estruturas. Os componentes dos óleos essenciais

podem ligar-se a íons e moléculas (hormônios) de outras células, provocando danos à membrana celular das células expostas a eles, deixando-as extremamente solúveis e com fraturas grosseiras que acabam por expor o conteúdo celular, inclusive o núcleo.

Os metabólitos secundários agem sobre os fungos por meio de granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares e inativação de enzimas, o que inibe a germinação, a elongação do tubo germinativo e o crescimento micelial (LO *et al.* 1996). Essas substâncias apresentam seletividade natural e baixa toxicidade, pois atacam os agressores, preservando os organismos úteis (MORAIS, 2009).

Costa *et al.* (2011) avaliando a atividade antifúngica do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo da índia) a 0,15 % constataram diversas alterações morfológicas nos micélios dos fungos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani* e *Microphomina phaseolina*, conforme pode ser visto na Figura 6.

As Figuras 6A, 6C, 6E e 6G representam os controles de *R. solani*, *F. oxysporum*, *F. solani* e *M. phaseolina*. As Figuras 6B, 6D, 6F e 6H representam os tratamentos, respectivamente. Os autores evidenciaram a presença de vacúolos e desorganização dos conteúdos celulares (Figuras 6B, 6D, 6F), diminuição na nitidez da parede celular (Figura 6D), intensa fragmentação das hifas (Figuras 6F), além de menor turgência das mesmas (Figuras 6D, 6F, 6H), o que consideraram um indicativo de degeneração celular. Apenas *M. phaseolina* (6H) não teve o crescimento inibido na concentração utilizada, o que foi justificado na análise microscópica do micélio, em que os autores não observaram vacuolização celular e rompimento de hifas.

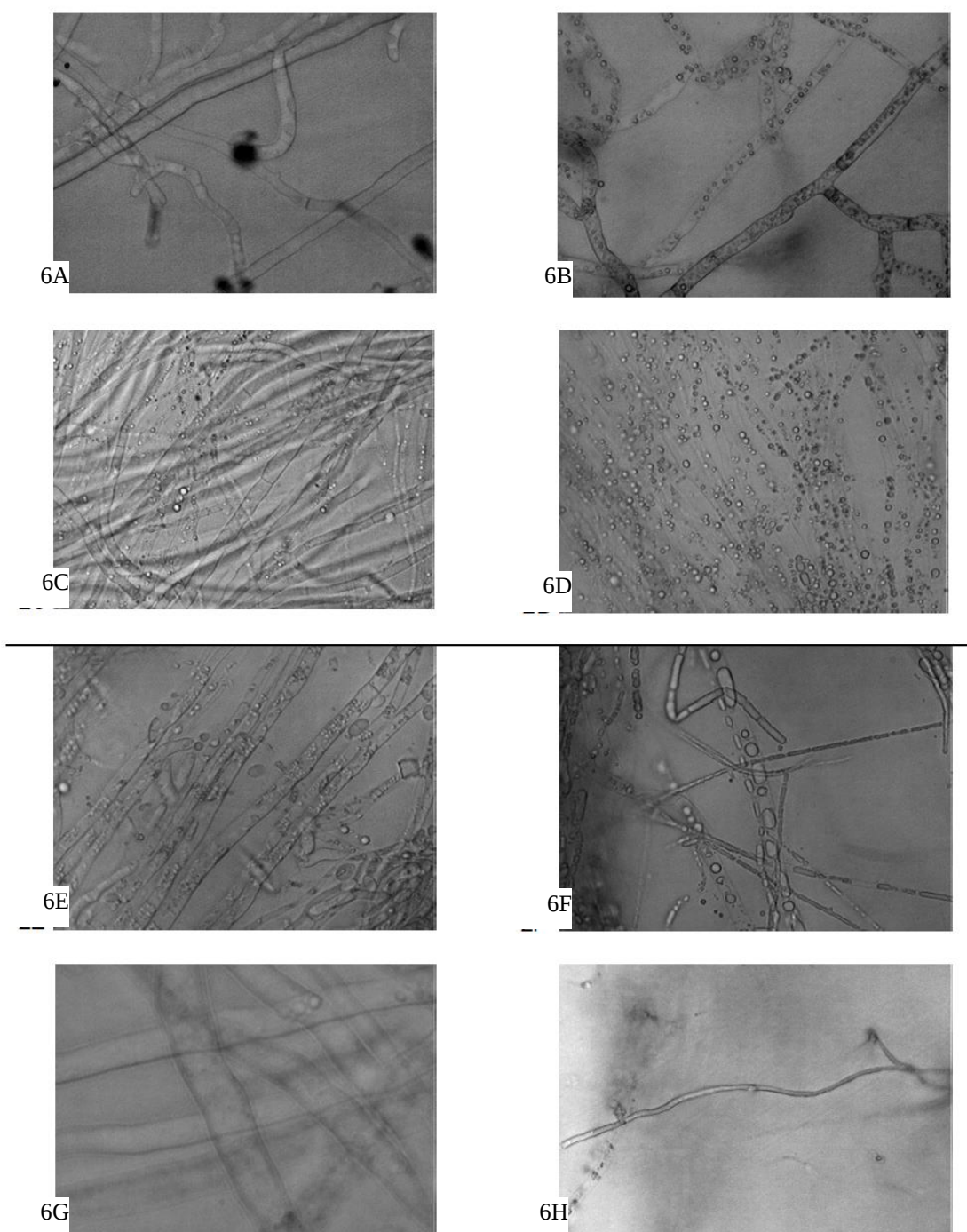


FIGURA 6: Microscopia óptica através de um sistema de captura de imagens dos micélios de fungos fitopatogênicos tratados com 0,15% de óleo essencial da *S. aromaticum*: *R. solani* (**6A**-controle e **6B**-tratamento), aumento de 40 X; *F. oxysporum* (**6C**-controle e **6D**-tratamento), aumento de 40 X; *F. solani* (**6E**-controle e **6F**-tratamento), aumento de 40 X; *M. phaseolina* (**6G**-controle e **6H**-tratamento), aumento de 100 X (2G) e de 40 X (2H). **Fonte:** (COSTA *et al.* 2011).

2.11. ÓLEOS ESSENCIAIS NA AGRICULTURA

A utilização de óleos essenciais poderá ter um papel importante no controle de fitopatógenos, contribuindo para a redução do uso de fungicidas e consequentemente, menor impacto ambiental (MOTA & PESSOA, 2003). Esses produtos podem ter ação fungicida direta, pela inibição da germinação de esporos e do crescimento micelial, ou indireta, pela indução de produção de fitoalexinas que são metabólitos secundários de baixo peso molecular, sintetizados pelos vegetais em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos (BALBI-PEÑA *et al.* 2006). Trata-se de um mecanismo natural de resistência a micro-organismos patogênicos, pois se acumulam ao redor do tecido após infecção ou injúria, e possuem atividade antimicrobiana, sendo uma estratégia de sobrevivência dos vegetais (MORAIS, 2009).

Para controle da podridão dos frutos em banana “Prata” causada por *Colletotrichum musae*, Bastos e Albuquerque (2004), avaliaram “*In Vivo*” com sucesso o efeito fungitóxico do óleo de pimenta de macaco (*Piper aduncum*), o qual impediu a manifestação da doença na concentração de 1%.

Compostos secundários produzidos por plantas medicinais podem desempenhar importantes funções nas interações planta patógeno. O extrato aquoso de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) por exemplo controla o desenvolvimento de *Colletotrichum lagenarium* em sorgo pela indução da produção de fitoalexinas, a partir da concentração 1%, podendo ocorrer inibição total da germinação de esporos e produção de apressórios em concentração de 20% e 1% de extrato aquoso autoclavado (BONALDO *et al.* 2004).

Segundo trabalho realizado por Mishra & Dubey (1994), o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim limão) inibe o fungo *Aspergillus flavus* na concentração 3000ppm e não interfere sobre a germinação de sementes e crescimento de plântulas de arroz.

Segundo Pereira *et al.* (2009), vários óleos e extratos com alta atividade bactericida e fungicida, extraídos de ervas e outras plantas têm sido utilizados em salas de cirurgia no processo de desinfecção. Rozwalka *et al.* (2008), verificaram a inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Glomerella cingulata* com os óleos essenciais de camomila (*Matricaria*

chamomilla), gengibre (*Zingiber officinale*) e goiabeira (*Psidium guajava*) e de *Colletotrichum gloeosporioides* com camomila, goiaba e tagetes (*Tagetes patula*).

Em trabalho semelhante, utilizando óleo essencial de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum*), Bastos & Albuquerque (2004), obtiveram 100% de inibição *in vitro* do crescimento micelial e da germinação de conídios de *Colletotrichum musae* para concentrações acima de 100g/mL do óleo, enquanto que *in vivo*, concentrações do óleo acima de 1% foram capazes de impedir a manifestação de podridões nos frutos de banana prata.

Os óleos de tomilho (*Thymus vulgaris*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), citronela (*Cymbopogon winterianus*) e neem (*Azadirachta indica*) tiveram efeito direto na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática da soja, reduzindo a severidade da doença em plantas em experimento conduzido em casa de vegetação (MEDICE *et al.* 2007; SOUZA JUNIOR *et al.* 2009).

Os resultados observados por Souza Junior *et al.* (2009), mostraram que os óleos essenciais das espécies *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum*, *Lippia citriodora*, *Cymbopogon citratus*, nas concentrações testadas de cada um dos óleos, 1, 3, 5 e 10 µL/mL, inibiram 100% a germinação dos esporos de *Colletotrichum gloeosporioides*. Além disso, os autores também verificaram que sete dias após a avaliação os esporos permaneceram sem germinar, não ocorrendo o crescimento micelial do fungo, comprovando o efeito fungicida destes óleos essenciais e não somente fungistático. Segundo Roswalka (2003) pode ocorrer, com o passar dos dias, uma redução do potencial de inibição associada à volatilização dos metabólitos dos óleos essenciais.

Em testes *in vitro* realizados por Marques *et al.* (2003), o monoterpene citral (neral e geranial) diluído a 60% (v/v) e o óleo essencial de *C. citratus* a 50% (v/v) inibiram totalmente o crescimento micelial do patógeno *C. gloeosporioides*, enquanto o fungicida benomil a 0,01% (m/v) inibiu apenas 61,1% do crescimento micelial do mesmo fungo. Os resultados *in vivo* mostraram que o citral a 1,5% resultou numa inibição de 61,1%, e o óleo de *C. citratus* a 1,0 e 1,5 % inibiu em 18,6 e 19,9% respectivamente mostrando-se menos eficiente que o citral sintético padrão, nos experimentos *in vivo*. O benomil apresentou inibição de 71,6%.

Como relatado por Moreira *et al.* (2006), tais trabalhos têm incentivado pesquisas nesta área, principalmente considerando o interesse crescente dos produtores em minimizar a utilização de controle químico. Entretanto, não se deve deixar de considerar que estes princípios ativos, mesmo sendo naturais, não deixam de ser substâncias químicas e devem ser usados com critério (MORAIS, 2009).

2.12. O ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon citratus*

O capim-limão (*Cymbopogon citratus*) pertence à família das Poaceae, é uma erva perene originária da Ásia e subespontânea nos países tropicais, suas folhas são aromáticas, ásperas, estreitas e com mais de 50 cm de comprimento (CARVALHO *et al.* 2005).

Diversos clones desta espécie são cultivados para produção comercial de óleo essencial, conhecido internacionalmente como óleo de Lemon Grass. Esta essência é largamente empregada como agente aromatizante em perfumaria e cosmética por seu forte odor de limão (CARVALHO *et al.* 2005).

O componente mais importante do óleo essencial do capim-limão é o citral, sendo uma mistura de isômeros, geranial (a-citral) e neral (b-citral) que tem ação calmante e espasmolítica comprovada (MATOS, 2000).

Em trabalho realizado por Carvalho *et al.* (2005) a produtividade média do capim-limão foi de 2,034 ton/ ha⁻¹, com valor médio de rendimento de óleo essencial de 2,135 L/ ton⁻¹ de matéria verde. Pereira *et al.* (2008), estudando o rendimento de óleo essencial de *C. citratus*, obtiveram o valor de 2,16%, em base seca.

Variações no rendimento de óleo essencial entre plantas pertencentes à mesma espécie podem ser atribuídas a diferenças de época de colheita, tipo de solo, clima da região e umidade relativa do ar. Por isso, recomenda-se a colheita do capim-limão no horário das 08:00 às 11:00h da manhã, quando se observa uma maior concentração de citral, pois as altas temperaturas influenciam na qualidade do óleo (CARVALHO *et al.* 2005).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

- ✓ Gerar conhecimento básico e aplicado sobre o controle da podridão da uva madura, enfocando aspectos relativos ao controle biológico com *Trichoderma* spp e óleo essencial de *Cymbopogon citratus*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Analisar *in vitro* o efeito antifúngico de diferentes concentrações do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), de isolados de *Trichoderma* spp. e de fungicidas, no controle do patógeno *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*) causador da podridão da uva madura.
- ✓ Definir a melhor concentração do óleo essencial, o isolado de *Trichoderma* e o fungicida com maior potencial para controle da podridão da uva madura para ser aplicado nas videiras.
- ✓ Avaliar as características das uvas tratadas com o óleo essencial, o isolado de *Trichoderma* sp., o fungicida e um biofungicida comercial, no controle da podridão da uva madura causada pelo patógeno *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*).
- ✓ Determinar a eficiência dos diferentes tratamentos no controle da podridão da uva madura causada pelo patógeno *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos Laboratórios de Fitopatologia do curso de Agronomia e de Produtos Naturais e Sintéticos do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul e na propriedade de Francisco Conte (29°04'S e 51°20'O a 584 metros de altitude), localizados nos municípios de Caxias do Sul e Flores da Cunha, respectivamente. O experimento *in vivo* ocorreu no período de junho de 2012 a março de 2014.

4.1. OBTENÇÃO DOS MICRORGANISMOS

O isolado de *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*) foi obtido de cachos de uvas da cultivar “Niágara Branca”, com sintomas visuais da doença, colhidos na propriedade de Francisco Conte. Os cachos foram acondicionados em câmara úmida (embalagem plástica tampada e com algodão umedecido), mantida no ambiente com uma temperatura média de 20°C, por quatro dias.

Decorrido este período, em câmara de fluxo e condições assépticas, estruturas fúngicas caracterizadas por uma massa de esporos de coloração alaranjada/salmão e micélio presentes nas lesões maiores, foram transferidas para placas de Petri contendo meio de cultura BDA, com o auxílio de um estilete, e mantidas em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 26°C.

Os isolados T4, T8, T15 e T17 de *Trichoderma* spp., provenientes da rizosfera de videiras localizadas no município de Caxias do Sul, foram reativados da micoteca do Laboratório de Fitopatologia, em meio de cultura BDA (Batata, Dextrose, Agar).

4.2. OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

Para a obtenção do óleo essencial foram coletadas, no final do mês de maio, folhas de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), cultivadas em estufa na propriedade de Francisco Conte, localizada em Flores da Cunha, RS. Em seguida, foram secas em estufa, a uma

temperatura de 35°C, por 48 horas, até atingir peso constante. Como descrito por Moraes (2009).

O óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) foi extraído pelo método de hidrodestilação, como descrito por Maia *et al.* (2001). O tempo de extração foi de duas horas ininterruptas. Decorrido este período observou-se o rendimento de 2,4% (massa/volume), considerada a massa seca da planta e os compostos majoritários através da análise química qualitativa e quantitativa foi realizada em Cromatógrafo gasoso acoplado a Espectrometria de Massas HP 6890/MSD 5973 (GC/MS) e em Cromatógrafo gasoso HP 6890 series (GC), respectivamente, que estão demonstrados na tabela a seguir.

TABELA 1: Constituintes químicos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* identificados por GC/MS e respectivos teores.

Componente	Teor (%)
Citral (Geranial + Neral)	77,20% (45,39% + 31,81%)
Mirceno	9,82%
Geraniol	2,11%
6- metil-5-hepten-2-ona	2,03%
Linalol	1,65%
Ácido gerânico	1,10%
Undecanona	0,86%

4.3. EFEITO ANTIFÚNGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon citratus* E DOS FUNGICIDAS SOBRE *C. gloeosporioides* - *In vitro*

O efeito do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e dos fungicidas sobre o crescimento micelial do patógeno *G. cingulata* (*C. gloeosporioides*), foi avaliado seguindo a metodologia descrita por Bastos & Albuquerque (2004), com algumas adaptações.

Para avaliar o efeito do óleo essencial, alíquotas de 10, 50, 100, 150 e 200 µL do óleo previamente autoclavado, foram diluídas em Tween 20 (1:1), e adicionadas a 100 mL de meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Agar) fundente ($\approx 50^{\circ}\text{C}$), evitando-se a volatilização do óleo essencial.

O meio de cultura foi distribuído em placas de Petri, 20 mL por placa, e após a sua solidificação, foi transferido para o centro de cada placa, um disco de 0,5 cm de diâmetro de Agar colonizado retirado de uma colônia em crescimento de *C. gloeosporioides*. Também foram feitos testes para avaliar os efeitos do Tween 20 sobre o patógeno. O tratamento testemunha foi realizado da mesma forma, mas em placas contendo apenas o meio de cultura BDA.

Para avaliar o efeito dos fungicidas químicos, o patógeno foi inoculado da mesma forma, mas em placas contendo o meio de cultura BDA enriquecido com fungicidas químicos na dose indicada pelos respectivos fabricantes, conforme tabela a seguir.

TABELA 2: Relação de fungicidas recomendados pela Embrapa Uva e Vinho para controle da podridão da uva madura (GARRIDO & SÔNEGO, 2004).

<i>Princípio ativo</i>	<i>Produto Comercial</i>	<i>Dosagem (mL ou g / 100 L)</i>	<i>Intervalo de aplicações (dia)</i>	<i>Período de Carência (dia)</i>	<i>Classe Toxicológica</i>
Azoxystrobin	Amistar	24	10 a 15	7	IV
Captan	Captan	240	7 a 10	1	III
Difenoconazole	Score	8-12	10 a 15	21	I
Famoxadone e Mancozeb	Midas	120	10 a 15	7	II
Tebuconazole	Folicur	100	10 a 15	14	II

Em seguida, os tratamentos foram incubados em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 26°C . Posteriormente foi obtida a taxa de desenvolvimento micelial, por meio da medida do diâmetro das colônias, com paquímetro digital, o que foi realizado aos 3, 7 e 14 dias de incubação. A porcentagem de inibição do

crescimento micelial (PIC) dos tratamentos com o óleo essencial ou os fungicidas em relação a testemunha, foi calculada utilizando-se a fórmula:

$$\text{PIC} = (\text{Diâmetro do tratamento} \times 100) / \text{Diâmetro da testemunha.}$$

O delineamento inteiramente casualizado adotado foi com cinco repetições.

4.4. EFEITO ANTAGÔNICO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. SOBRE *C. gloeosporioides* – *In Vitro*.

A seleção do isolado de *Trichoderma* spp. com melhor potencial de controle sobre o patógeno *C. gloeosporioides* para posteriormente ser aplicado no experimento no vinhedo, foi realizada semeado em placas de Petri, contendo meio de cultura BDA, um disco de Agar colonizado pelo fungo fitopatogênico, utilizando-se um Tubo de Zeni, a 0,5 cm da borda da placa, que após fechada foi mantida em câmara de crescimento por 48 horas. Decorrido este período, na mesma placa foi semeado um disco de ágar colonizado por um isolado de *Trichoderma* sp. a 0,5 cm da borda da placa em ponto equidistante do inóculo do isolado de *C. gloeosporioides*.

Foram submetidos a testes de confronto direto os isolados T4, T8, T15 e T17 de *Trichoderma* spp. As placas foram mantidas em câmara de crescimento a 26° C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e fotoperíodo de 12 horas.

Após oito dias foi realizada a avaliação do crescimento dos fungos e do micoparasitismo nas placas, baseada no critério de Bell *et al.* (1982) adaptado, utilizando-se a seguinte escala de notas de 1 a 5.

- (1) Antagonista cresce e ocupa toda a placa;
- (2) Antagonista cresce, sobrepondo-se sobre a colônia do patógeno (2/3 da placa);
- (2,5) Antagonista cresce, sobrepondo-se sobre a borda da colônia do patógeno;
- (3) Antagonista e o patógeno crescem até a metade da placa;
- (4) Patógeno cresce sobrepondo-se sobre a colônia do antagonista (2/3 da placa);
- (5) Patógeno cresce e ocupa toda a placa.

4.5. CONDUÇÃO DO VINHEDO E AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE CONTROLE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA

Para a realização do ensaio foram utilizadas videiras da cultivar “Niágara Branca” (*Vitis labrusca* L.), enxertadas sobre porta enxerto Paulsen 1103. O vinhedo conduzido em sistema de latada com espaçamento 1,5 x 3,0 m estava no sexto ano de produção. A poda de produção foi realizada em 30 de agosto de 2013, em formato de poda mista.

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados constituído por nove tratamentos, quatro repetições por tratamento, contendo cinco plantas por parcela, sendo avaliadas somente as três centrais.

4.5.1. FERTILIDADE DO VINHEDO

Foi realizada uma coleta de solo na área experimental do vinhedo para análise de fertilidade e posterior aplicação dos nutrientes necessários. A coleta foi realizada a uma profundidade de 0 a 20 cm, com auxílio de um trado holandês de forma a percorrer toda a área ao acaso, sendo coletadas porções de solo de cinco locais diferentes. O solo coletado de cada um desses locais (subamostras) foi colocado em um recipiente, misturado e coletado uma amostra de cerca de 500 gramas, que foi condicionada em um saco plástico devidamente identificado e remetida ao Laboratório de Análises Químicas e Físicas da Universidade de Caxias do Sul para a realização da análise química. Os dados obtidos na análise estão demonstrados na Tabela 3.

TABELA 3: Análise química do solo na área do vinhedo de Niágara Branca de propriedade de Francisco Conte. Flores da Cunha, RS.

pH água 1:1	Ca	Mg	Al	H+Al	CTC efetiva	Saturação (%)		Índice SMP
			cmol c/dm³			Al	Bases	
6,2	6,9	3,5	0,0	4,4	10,9	0,0	71,2	6,0
% MO	% Argila	Textura	S	P-Mehlich	P-resina	K	CTC_{ph7}	K
m/v				mg/dm³		cmol c/dm³		mg/dm³
2,6	20	4	4,4	32,7	- x -	0,496	15,3	194
Cu	Zn	B	Mn	Na	% Fe	Relações Molares		
		mg/dm³				Ca/Mg	Ca/K	Mg/K
148,4	80,7	0,3	17	20	- x -	2,0	3,9	7,1

Fonte: Laboratório de análise de solos da UCS.

O vinhedo de Niágara Branca, neste ciclo, recebeu adubação logo após a poda com 60 kg de Bórax (10% de boro) por hectare e 250 kg de adubo da fórmula (NPK) 4.11.9 por hectare.

4.5.2. DADOS CLIMÁTICOS

Os dados climáticos do período em que ocorreram os trabalhos foram acompanhados através da Estação Agroclimática da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, localizada nas coordenadas geográficas 29°09'44" S e 51°31'50" W a 640 metros de altitude. Estão citados na tabela a seguir:

TABELA 4: Dados meteorológicos mensais da Serra Gaúcha no Ano 2013/2014.

Mês	Temperatura do ar (°C)			Precipitação Pluv. (mm)	Nº de dias / precipitação	UR do ar (%)	Insolação	Veloc. média vento (m/s)
	Média	Máxima	Mínima					
Jan/13	20,9	26,5	15,9	114,1	10	71	280,2	2,2
Fev/13	21,3	26,5	17,2	108,5	15	80	194,4	2,2
Mar/13	18,3	22,9	14,6	191,8	12	81	155,2	2,2
Abr/13	17,6	23,4	13,0	114,1	05	75	239,9	2,1
Mai/13	14,6	19,6	10,5	131,7	11	78	173,8	2,0
Jun/13	12,9	17,2	9,2	143,5	15	87	129,3	2,0
Jul/13	12,1	17,7	7,3	97,9	8	77	206,0	2,2
Ago/13	12,0	17,3	7,8	312,0	14	79	168,4	2,2
Set/13	15,3	20,5	10,8	187,7	13	76	166,7	2,1
Out/13	17,0	22,4	12,2	128,4	11	75	212,7	2,4
Nov/13	20,0	25,9	14,9	288,5	13	70	247,6	2,8
Dez/13	22,2	28,2	17,0	147,9	09	73	282,6	1,9
Jan/14	23,4	33,9	15,1	88	10	73,9	287	2,66
Fev/14	22,9	35,3	14,4	193	14	73,8	270	2,74

*Insolação: número de horas de brilho solar.

Fonte: Estação Agroclimática da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

4.5.3. TRATAMENTOS NO VINHEDO

Os tratamentos foram executados, seguindo a metodologia descrita por Martins *et al.* (2009), com algumas adaptações, sendo o isolado T8 do antagonista *Trichoderma* sp., o fungicida de princípio ativo Tebuconazole e a concentração de 0,2% do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*, definidos nos testes “in vitro”.

O produto comercial Trichodel, composto por *Trichoderma* spp. na concentração 1.10^9 UFC.mL⁻¹, foi cedido pela ECCB Insumos Biológicos Ltda.

As pulverizações, direcionadas ao cacho, foram realizadas utilizando-se pulverizador costal (Marca: Jacto) com capacidade de 20 litros, munido de ponta tipo cônica universal, ao final da tarde. Os tratamentos estão listados na Tabela 5.

TABELA 5: Tratamentos, época de aplicação, doses e produtos utilizados. Flores da Cunha, RS. Safra 2013/2014.

<i>Tratamentos</i>		<i>Doses</i>	<i>Nº</i> <i>Aplicações</i>	<i>Época de aplicação</i>
T 0	Testemunha ¹	-	0	-
T 1	Trichoderma T8 ²	1.10 ⁶ coníd. /mL ⁻¹	6	Floração (semanalmente); antes da compactação cacho, início da maturação; e 15 dias antes da colheita.
T 2	Óleo essencial ³	0,2%	6	Floração (semanalmente); antes da compactação cacho; início da maturação; e 15 dias antes da colheita.
T 3	Trichodel ⁴	1,0 L/ha	6	Floração (semanalmente); antes da compactação cacho; início da maturação; e 15 dias antes da colheita.
T 4	Trichodel ⁴	1,5 L/ha	6	Floração (semanalmente); antes da compactação cacho; início da maturação; e 15 dias antes da colheita.
T 5	Trichodel ⁴	2,0 L/ha	6	Floração (semanalmente); antes da compactação cacho; início da maturação; e 15 dias antes da colheita.
T 6	Óleo essencial ³	0,2%	4	Floração (semanalmente) e início da maturação.
	Fungicida ⁵	1,0 L/ha	2	Antes da compactação cacho; 15 dias antes da colheita.
T 7	Trichoderma T8 ¹	1.10 ⁶ coníd./mL ⁻¹	4	Floração (semanalmente) e início da maturação.
	Fungicidas ⁵	1,0 L/ha	2	Antes da compactação cacho, 15 dias antes da colheita.
T 8	Fungicida ⁵	1,0 L/ha	3	Floração; antes da compactação cacho e 15 dias antes da colheita.

¹Sem aplicação de fungicidas com ação sobre a podridão da uva madura, ²*Trichoderma* sp, ³*Cymbopogum citratus*, ⁴Biofungicida (*Trichoderma* spp.), ⁵Fungicida (Tebuconazole).

Na Tabela 6 podemos observar o momento em que foram realizadas as aplicações dos tratamentos T1 ao T8, segundo Garrido e Sônego (2004), que indicam que os produtos com ação sobre a Podridão da uva madura devem ser aplicados na floração, na fase de grão chumbinho, no início da compactação do cacho, no início e durante a maturação das uvas.

TABELA 6: Relação do período e das condições climáticas em que foram realizadas as aplicações dos tratamentos T1 ao T8.

<i>Data</i>	<i>T °C</i>	<i>UR</i>	<i>Estádio de desenvolvimento da videira</i>
23/10/2013	24,2	77%	Início da floração
28/10/2013	20,3	80%	Plena floração
04/11/2013	20,5	70%	Final da floração
16/11/2013	22,0	85%	Antes da compactação do cacho
14/01/2014	20,8	80%	Início da maturação
25/01/2014	25	70%	Plena maturação (15 dias antes da colheita)

O fungicida Tebuconazole (Nome comercial: Folicur 200 EC) de modo de ação sistêmico, recomendado para que seja aplicado com intervalos de 15 dias e no máximo três vezes por ciclo da cultura foi aplicado na plena floração, antes da compactação do cacho e 15 dias antes da colheita.

Os demais tratamentos fitossanitários do vinhedo, para controle da escoriose (*Phomopsis viticola*) que incide no início do ciclo da videira, da antracnose (*Elsinoe ampelina*) que incide na videira do início da brotação ao final da floração, do míldio (*Plasmopara viticola*) que incide desde o início da brotação até o início da maturação das uvas e das podridões cinzenta (*Botrytis cinerea*) e amarga (*Greeneria uvicola*) que causam danos da floração até a colheita, foram realizados conforme a necessidade do produtor e estão citados na tabela a seguir.

TABELA 7: Inseticidas, fungicidas e outros insumos aplicados na área do vinhedo de Niágara Branca de propriedade de Francisco Conte. Flores da Cunha, RS. Safra 2013/14.

Produto Comercial*	Nº Aplicações	Ingrediente Ativo	Alvo Biológico
Delan	1	Ditianona	<i>Elsinoe ampelina</i> – Antracnose <i>Plasmopara viticola</i> – Míldio
Manzate	1	Mancozebe	<i>Botrytis cinerea</i> – Mofo-cinzento <i>Greneria uvicola</i> – Podridão amarga <i>Elsinoe ampelina</i> – Antracnose <i>Plasmopara viticola</i> – Míldio
Manzate + Curzate	2	Mancozebe	<i>Botrytis cinerea</i> – Mofo-cinzento <i>Greneria uvicola</i> – Podridão amarga <i>Elsinoe ampelina</i> – Antracnose <i>Plasmopara viticola</i> – Míldio
		Cimoxanil + Famoxadone	<i>Plasmopara viticola</i> – Míldio
Sumilex	1	Procimidona	<i>Botrytis cinerea</i> – Mofo-cinzento
Aliette	1	Fosetil	<i>Plasmopara viticola</i> – Míldio
Kocide	2	Hidróxido de cobre	<i>Plasmopara viticola</i> – Míldio
Calda Bordaleza	2	Sulfato de cobre + Cal virgem	<i>Plasmopara viticola</i> – Míldio
Karate	1	Lambda cialotrina	<i>Eumorpha vitis</i> – lagarta das folhas

*Aplicações realizadas com pulverizador acoplado a um trator.

Os fungicidas utilizados para controle de pragas e doenças na área experimental do vinhedo, foram selecionados por não serem recomendados pelos seus respectivos fabricantes para controle da podridão da uva madura. Com a finalidade de não causarem nenhuma interferência nos resultados do experimento.

4.5.4. PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE *Trichoderma* sp.

Para a produção de conídios de *Trichoderma* sp. aplicados nas videiras, foi seguida a metodologia a de Ethur *et al.* (2005), com adaptações.

Inicialmente, para a produção do inóculo primário, *Trichoderma* T8 foi cultivado em placas de Petri com meio BDA a 26°C e fotoperíodo de 12 horas, por 7 dias. Depois deste período, as placas foram lavadas com água destilada autoclavada com auxílio de uma alça de Drigalski e os conídios coletados para a formação de uma suspensão aquosa com a concentração de 1.10^9 conídios.mL⁻¹. Foram pipetados 150 µL desta suspensão em 100 g de grãos de arroz, previamente umedecidos com 150 mL de água e autoclavado por 40 min, em sacos plásticos. Após sete dias de colonização em temperatura de 26°C e fotoperíodo de 12 horas, o arroz foi lavado em água destilada autoclavada obtendo-se uma suspensão com 1.10^6 conídios.mL⁻¹. A concentração final de conídios foi determinada em câmara de Neubauer a partir de uma suspensão feita com 1g de substrato colonizado diluído em 9 mL de solução salina, e a viabilidade (UFC) foi avaliada em meio BDA.

4.5.5. VARIÁVEIS ANALISADAS NOS TRATAMENTOS “IN VIVO”

As avaliações da produtividade, peso médio dos cachos, sólidos solúveis totais, incidência e severidade da podridão da uva madura, foram realizadas no momento da colheita das uvas. A colheita dos cachos foi realizada nas primeiras horas da manhã. Após a colheita, os cachos correspondentes a cada tratamento foram colocados em caixas plásticas para serem avaliados. As variáveis analisadas seguiram metodologia descrita por Bin (2007):

- a) **produção por hectare:** foram somados os pesos dos cachos colhidos separadamente por parcela e multiplicado pelo número de plantas por hectare, expresso em quilogramas (Kg);
- b) **peso médio dos cachos:** o valor do peso da produção de cada parcela foi dividido pelo número de cachos colhidos, expressa em gramas (g);
- c) **sólidos solúveis totais (SST):** medida do teor de açúcar do mosto, expresso em graus Brix (° Brix), foi efetuada com o auxílio de um densímetro (também conhecido como

mostímetro) graduado em °Brix. Para isto foram colhidas amostras de uvas representativas de cada parcela, esmagadas, e o mosto foi transferido para um recipiente de 250 mL, colocado o mostímetro e efetuada a medida (Figura 7).



FIGURA 7: Esmagamento das uvas e leitura do grau Brix com o mostímetro. Flores da Cunha, safra 2013/14.

d) incidência de podridão da uva madura: foi realizada visualmente, somando-se todos os cachos que apresentavam ataque de podridão da uva madura e dividindo pelo número total de cachos de cada parcela, expressa em porcentagem (%);

e) severidade da doença: foi realizada através da escala de avaliação da severidade da doença, descrita por Martins *et al.* (2009), conforme a Figura 8. A seguir calculada a porcentagem (%);

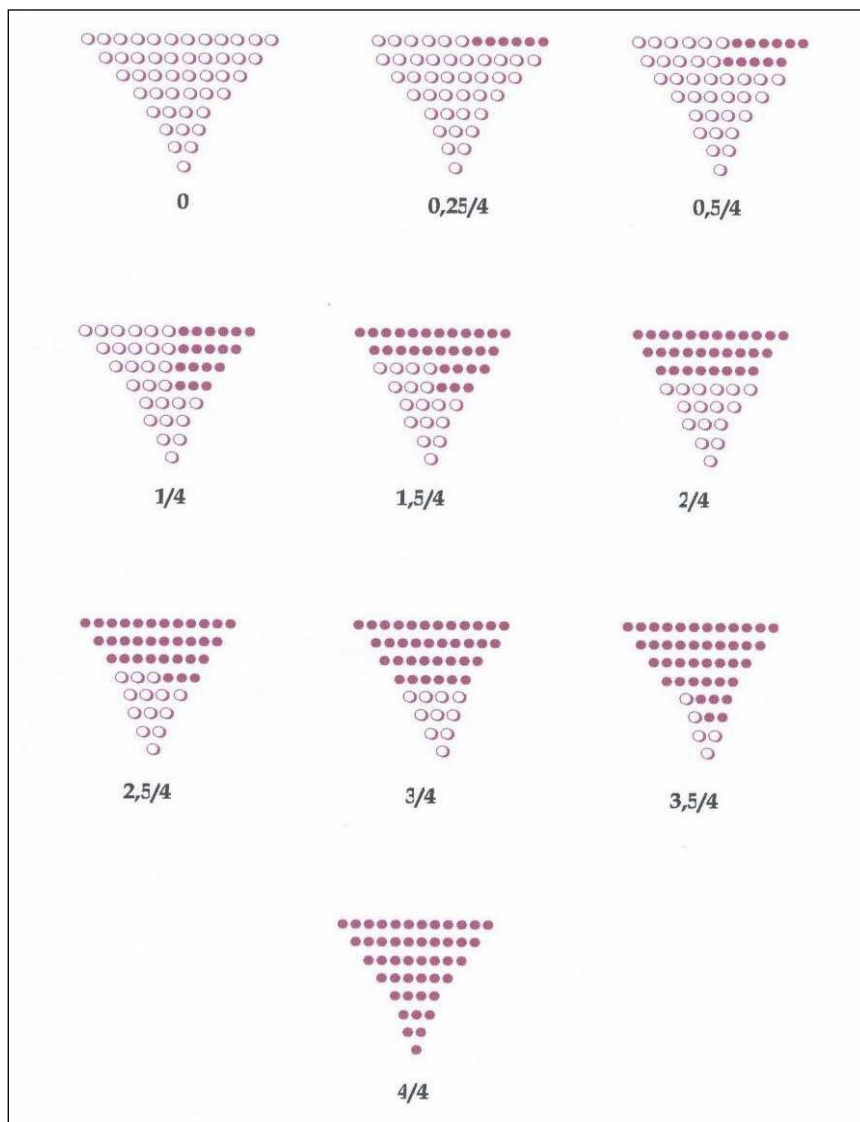


FIGURA 8: Escala de avaliação da severidade da doença podridão da uva madura (quartos destruídos). Adaptada de Martins *et al.* (2009).

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística as médias dos resultados totais foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa ASSISTAT 7,6.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir são apresentados os dados obtidos nos ensaios realizados com o intuito de buscar novos meios de controle da podridão da uva madura causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*), os quais incluem o controle com composto de origem natural das plantas e o controle biológico.

5.1. EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL E DOS FUNGICIDAS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *C. gloeosporioides*

Na Figura 9 estão apresentados os resultados do efeito dos fungicidas e do óleo essencial de *C. citratus* sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*.

Podemos observar na Figura 9 (A, C e F) que, apesar de todos os fungicidas testados terem apresentado potencial de inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* diferindo estatisticamente com a testemunha, o fungicida Tebuconazole (grupo químico: triazol) destacou-se dos demais, pois inibiu em 100% o crescimento micelial do patógeno nos 14 dias de avaliação. Em virtude do bom desempenho nos testes *in vitro*, este fungicida foi selecionado entre os demais para ser utilizado nos testes à campo.

Os fungicidas com ação de contato, Captan e Famoxadone + Mancozeb, apresentaram comportamento semelhante. Podemos observar uma maior inibição provocada pelo fungicida Captan ao 3º e 7º dia de avaliação quando comparado ao fungicida composto, Famoxadone + Mancozeb, porém ao décimo quarto dia o efeito dos fungicidas sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* não diferiu estatisticamente.

Referente aos fungicidas sistêmicos Azoxystrobin, Tebuconazole e Difenconazole, podemos destacar o fungicida Azoxystrobin que apesar de não ter inibido completamente o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* não diferiu estatisticamente com o fungicida

Tebuconazole. Sendo, portanto uma opção para entrar num manejo integrado com o fungicida Tebuconazole.

Além do potencial de controle sobre o patógeno, o fungicida Azoxystrobin possui um período de carência, na cultura da videira, de apenas 7 dias. Enquanto os fungicidas Tebuconazole e Difenconazole possuem um período de carência de 14 e 21 dias, respectivamente.

Em trabalho realizado por Ferreira *et al.* (2009), comparando “In Vitro” os fungicidas mancozeb, clorotalonil, tetraconazol e triadimenol sobre o crescimento micelial do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, os pesquisadores observaram que o fungicida tetraconazol (grupo químico: triazol) foi o que mais acentuou a redução do índice de crescimento micelial do patógeno, no qual a 1 mg L⁻¹ apresentou 73,33% de inibição. Resultado semelhante obtido por Tavares & Souza (2005), que atestam que fungicidas como imazalil, prochloraz, propiconazole e tebuconazole são altamente potentes para controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, porém com diferença na eficiência do ingrediente ativo tebuconazole e propiconazole.

Haddad *et al.* (2003), obtiveram resultado semelhante quando avaliaram o fungicida de modo de ação de contato, clorotalonil. Segundo esses autores, os isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* não apresentaram completa inibição do crescimento micelial mesmo em altas concentrações (1.000 mg L⁻¹). Resultado observado também por Ferreira *et al.* (2009), que classificaram o fungicida mancozeb (modo de ação: contato) como sendo ineficiente para o controle “In Vitro” de *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da mancha manteiga do cafeeiro.

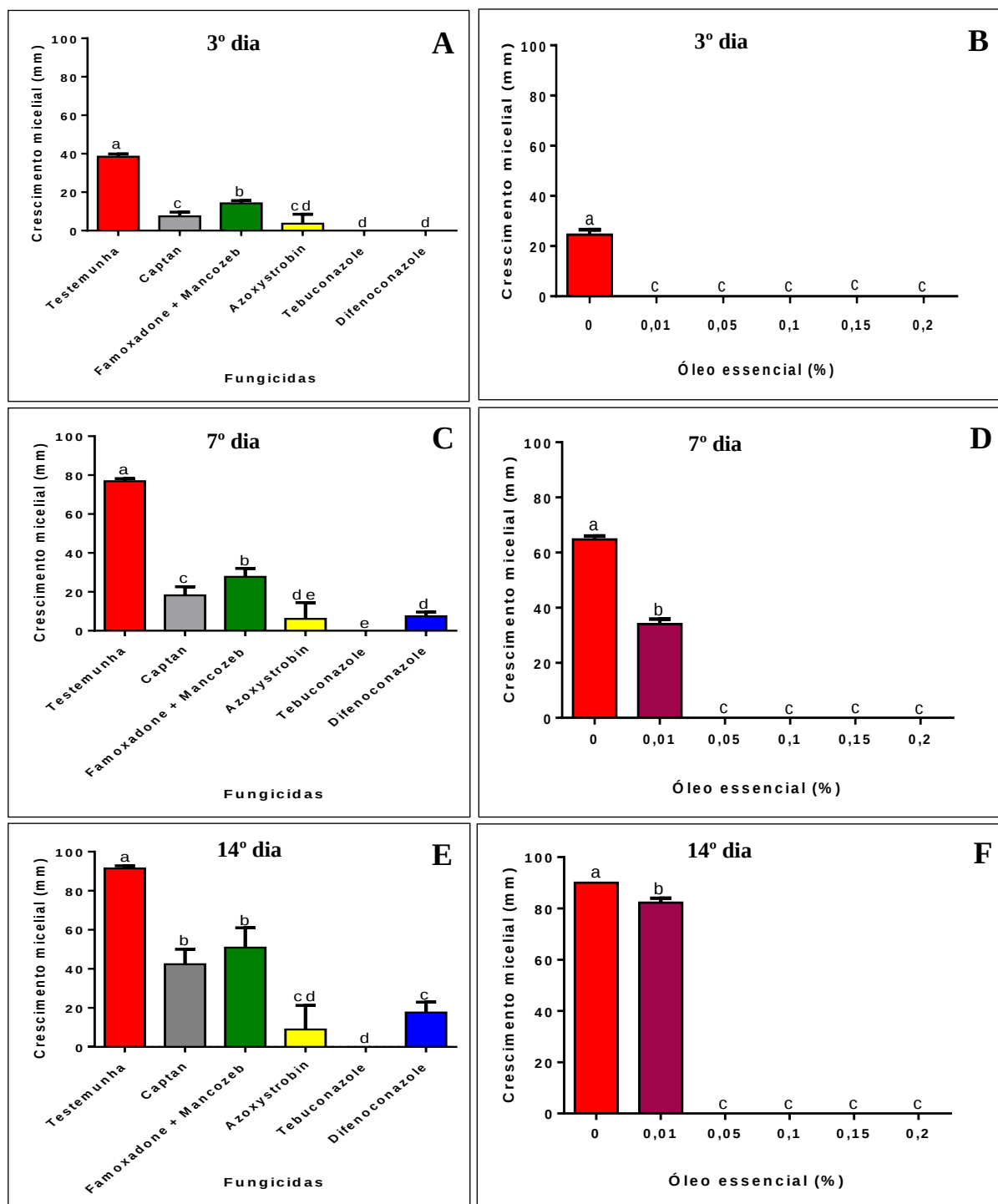


FIGURA 9: Crescimento micelial de *C. gloeosporioides* sob efeito de fungicidas e do óleo essencial de *C. citratus*. **A, C e E:** Fungicidas ao 3º dia, 7º dia e 14º dia, respectivamente; **B, D e F** óleo essencial nas concentrações 0; 0,01; 0,05; 0,15 e 0,20%, ao 3º dia, 7º dia e 14º dia, respectivamente. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os dados apresentados na Figura 9 (B, D e F) demonstram que o óleo essencial de *C. citratus* foi eficiente, apresentando diferença significativa na comparação com os dados obtidos com a testemunha, durante os 14 dias de experimentação.

Podemos observar também que o óleo essencial de *C. citratus* demonstrou 100% de inibição no crescimento do patógeno, nas concentrações de 0,05 a 0,20%, enquanto que para a concentração de 0,01% inibiu em 100% o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* apenas ao terceiro dia de avaliação, reduzindo para 52,5 e 91,0% ao sétimo e décimo quarto dias, respectivamente.

Em trabalho semelhante Marques (2003), observou a inibição de 100% no crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, porém somente até o quinto dia, com redução do potencial de inibição para 62,77% no oitavo dia de tratamento com o óleo essencial de capim limão. Roswalka (2003) sugere que inibição dos patógenos pode ocorrer pela desnaturação de proteínas, inibição de enzimas, ou ainda pela desintegração de membranas.

Segundo Simões e Spitzer (2000), a redução do potencial de inibição pode ser atribuída à volatilização dos constituintes dos óleos e/ou à instabilidade na presença de ar, luz, calor, umidade e metais. Portanto, optou-se para utilizar, nos testes no vinhedo, a concentração de 0,2% do óleo essencial de *Cymbopogum citratus*.

Conforme já apresentado por Pauletti *et al* (2011) em pesquisas realizadas entre os anos de 2009 e 2011 no Vale do Caí, a concentração de 0,2% do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogum citratus* – Princípio ativo: citral 75%) tem demonstrado resultados satisfatórios em condições de campo para controle da pinta preta dos citros, causada pelo fungo *Guignardia citricarpa*.

Quando avaliado os efeitos do solvente Twen 20 sobre *C. gloeosporioides* podemos observar que não houve nenhum efeito inibitório sobre o crescimento micelial deste patógeno, conforme pode ser visto na figura a seguir.

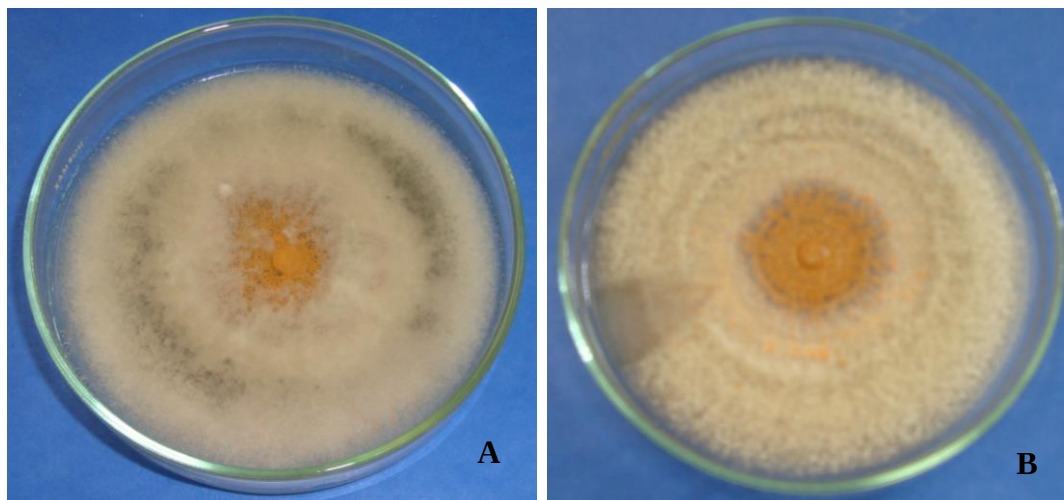


FIGURA 10: Crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. (A) em meio BDA e (B) em meio BDA enriquecido com 0,2% de Tween 20 .

A utilização do Tween 20 no preparo das amostras em óleo teve por finalidade diminuir a tensão superficial no contato do óleo (característica apolar) com o meio de cultura (característica polar) tendo a finalidade de permitir difusão no Agar.

Segundo Bruni *et al.* (2004) tornou-se comum a utilização de solventes, detergentes, ou agentes emulsificadores, a exemplo de Tween 20, Tween 80, DMSO (dimetil sulfóxido) e etanol, para facilitar a dispersão dos óleos essenciais através do meio de cultura, com a finalidade de melhorar a qualidade dos procedimentos.

5.2. EFEITO DOS ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. SOBRE *C. gloeosporioides*

O crescimento micelial do antagonista é um fator determinante para a eficiência do controle biológico, já que o contato (direto ou indireto) entre ele e o patógeno é responsável pela ativação desses mecanismos. Por essa razão, os testes de antagonismo são eficientes para a seleção de isolados promissores ao controle biológico (MARIANO, 1993).

Na Figura 11 estão apresentados os resultados obtidos, podendo ser observado que a menor média geral da escala foi alcançada com o isolado T8 de *Trichoderma* sp. com

evidências de micoparasitismo sobre o fungo fitopatogênico. Para os isolados T4, T15 e T17 de *Trichoderma* sp., a diferença estatística entre os valores dos efeitos alcançados por cada um dos isolados confrontados, não foi significativa, porém, todos diferiram do tratamento testemunha contendo somente o isolado de *C. gloeosporioides*.

O isolado T8 de *Trichoderma* sp. ocupou toda a superfície do meio de cultura, esporulando e sobrepondo a colônia do patógeno sugerindo uma forte ação micoparasita. Da mesma forma, os isolados T4, T15 e T17 cresceram sobre o isolado de *C. gloeosporioides*, ocupando 2/3 da superfície da placa.

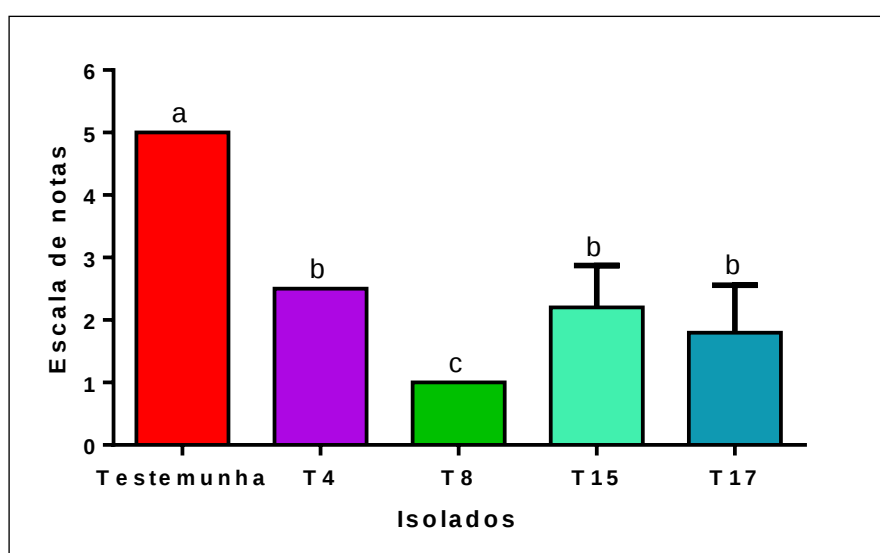


FIGURA 11: Notas do antagonismo *in vitro* entre isolados de *Trichoderma* spp. e *Colletotrichum gloeosporioides* de acordo com a escala de Bell *et al.* (1982). *Escala de notas: (1) Antagonista cresce e ocupa toda a placa, sobrepondo-se ao patógeno; (2) Antagonista cresce, sobrepondo-se sobre a colônia do patógeno (2/3 da placa); (2,5) Antagonista cresce, sobrepondo-se somente sobre a borda da colônia do patógeno; (3) Antagonista e o patógeno crescem até a metade da placa (nenhum organismo sobrepõe o outro); (4) Patógeno cresce sobrepondo-se sobre a colônia do antagonista (2/3 da placa); (5) Patógeno cresce e ocupa toda a placa. *Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Segundo Ethur (2006), pela técnica de confrontação direta, os isolados de *Trichoderma* sp. podem ser considerados isolados muito eficiente quando receberem notas entre 1,0 e 1,5 e considerados eficientes quando receberem notas entre 2,0 e 2,5 da Escala de Bell *et al.*

Bonfin *et al.* (2010) observaram redução do crescimento micelial do patógeno *Rhizopus stolonifer*, isolado da cultura do maracujazeiro, quando pareado com isolados de *Trichoderma* spp. Santos *et al.* (2008) também verificaram sobreposição e enrolamento das hifas de isolados de *Trichoderma* em vários patógenos, como *Colletotrichum* sp. e *Rizoctonia solani*.

Em testes de antagonismo, Isaias *et al.* (2014) observaram inibição do crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* e *Verticillium dahliae* confrontados com 20 isolados de *Trichoderma*. Sendo que *S. rolfsii* foi inibido em grau máximo da escala de Bell *et al* apenas pelo isolado CEN 691 (*T. harzianum*) enquanto que o patógeno *V. dahliae* foi inibido totalmente por 19 dos isolados de *Trichoderma*. Os autores sugerem que isso tenha ocorrido devido aos isolados de *V. dahliae* e de *Trichoderma* terem sido obtidos de rizosfera/solo da cultura do morango e o isolado de *S. rolfsii* de áster. Howell (2003) menciona que, talvez, o melhor método para obter um potencial agente de biocontrole seja isolar espécies de *Trichoderma* de áreas de solos e plantas onde a doença esteja ocorrendo.

Em vista disso, o fato dos isolados de *Trichoderma* sp. e do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, utilizados no teste de antagonismo, terem sido isolados da rizosfera de videiras e de bagas infectadas de uvas da variedade Niágara Branca, respectivamente, pode ter contribuído para que os resultados fossem satisfatórios para todos os isolados de *Trichoderma* sp. testados.

5.3. AVALIAÇÃO DOS DIFERENTES TRATAMENTOS EMPREGADOS NO CONTROLE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA

O efeito dos diferentes tratamentos realizados no vinhedo de Niágara Branca, no período de floração e maturação das uvas, é demonstrado a seguir.

Na Figura 12, quando avaliada a produtividade do vinhedo aplicando-se os diferentes tratamentos para controle da podridão da uva madura, observa-se que apenas o tratamento com o óleo essencial de *Cymbopogum citratus* não diferiu estatisticamente com o tratamento testemunha, sem aplicação de produtos com ação sobre a doença. O tratamento com o óleo essencial apresentou uma produtividade de 24,0 ton/ha.

Os demais tratamentos apresentaram produtividades maiores que a citada anteriormente, destacando-se o tratamento com o fungicida Tebuconazole que apresentou uma produtividade de 35,0 ton/ha, seguido do tratamento alternado em que se utilizou o antagonista *Trichoderma* sp e o fungicida Tebuconazole, com uma produtividade de 32,0 ton/ha. Ambos não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No controle alternado, o *Trichoderma* sp. foi aplicado semanalmente no período da floração e no início da maturação, totalizando quatro aplicações durante o ciclo de desenvolvimento das bagas e o Fungicida foi aplicado duas vezes durante o ciclo, antes da compactação do cacho e 15 dias antes da colheita.

O tratamento alternando-se o fungicida Tebuconazole e o óleo essencial *C. citratus* a 0,2%, os tratamentos com o biofungicida Trichodel em diferentes dosagens (1,0 L/ha; 1,5 L/ha e 2,0 L/ha) e o tratamento em que foi utilizado o isolado T8 de *Trichoderma* sp. não apresentaram diferenças significativas entre si apresentando respectivamente produções de 30,5 ton/ ha, 29,0 ton/ha, 30,5 ton/ha, 28,5 ton/ha e 28,0 ton/ha.

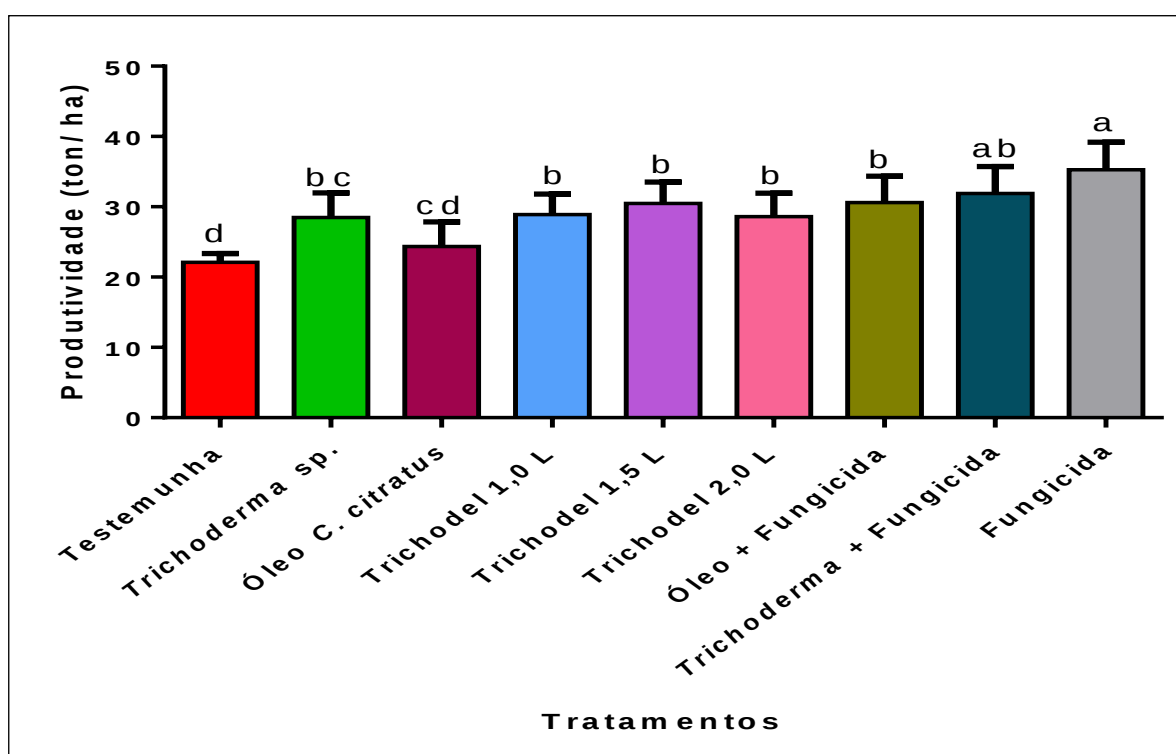


FIGURA 12: Efeito dos tratamentos na produtividade das videiras. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A produtividade na área experimental, ficou dentro do esperado para a variedade Niágara Branca, que conforme citado por Giovannini (1999) fica entre 25 e 30 toneladas por hectare.

Em relação ao peso médio dos cachos (Figura 13), não se observou grandes variações ficando entre 150 e 179g. O tratamento em que utilizou-se o fungicida Tebuconazole e os tratamentos em que seguiu-se um manejo alternado utilizando-se Tebuconazole e *Trichoderma* sp. e o fungicida Tebuconazole com o óleo essencial de *C. citratus* a 0,2% e o tratamento com o Biofungicida Trichodel na dose de 1,5 L/ha não diferiram estatisticamente entre si e foram os tratamentos que se destacaram com melhor relação do peso médio dos cachos.

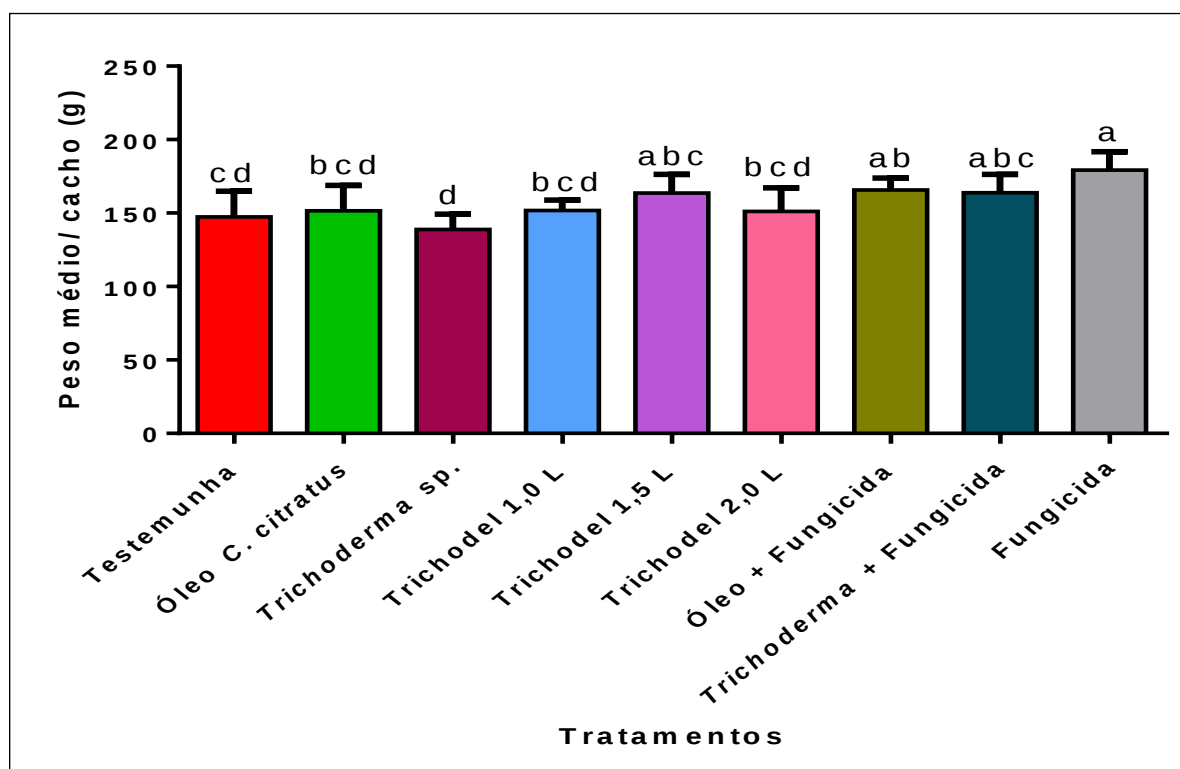


FIGURA 13: Peso médio dos cachos. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em trabalho realizado por Fochesato *et al.* (2006) quando avaliada a produtividade e a qualidade de uvas colhidas em plantas de Niágara Branca submetidas ou não a poda verde, os pesquisadores obtiveram um peso médio dos cachos de 220 gramas. Sendo, portanto, superior ao encontrado neste trabalho.

Referente ao teor de sólidos solúveis totais (SST) obteve-se, em todos os tratamentos, 14° Brix, não diferindo estatisticamente entre si.

O resultado obtido neste experimento foi superior ao encontrado por Fochesato *et al.* (2006) que obtiveram um teor de sólidos solúveis totais de 12,92° Brix quando avaliada a qualidade das uvas produzidas em plantas de Niágara Branca submetidas à poda verde.

Segundo Giovannini (1999) a variedade Niágara Branca, também conhecida como “Francesa Branca”, quando cultivada na região da Serra Gaúcha, no estado do Rio Grande do Sul e no Vale do Rio do Peixe, no estado de Santa Catarina, ela geralmente apresenta um teor de açúcar que pode variar entre 15° e 17° Brix. Porém devemos levar em consideração as condições climáticas no período da maturação, que afetam diretamente os teores de sólidos solúveis totais das uvas.

Tecchio *et al.* (2007) sugerem que a qualidade da uva varia principalmente conforme o índice pluviométrico no período de maturação, pois chuvas excessivas impossibilitam a concentração satisfatória de açúcares nos frutos, promovem podridões e fazem com que seja necessária a colheita antecipada das uvas.

Os resultados referentes à incidência de podridão da uva madura nas videiras de Niágara Branca podem ser vistos na Figura 14, em que todos os tratamentos diferiram significativamente com o tratamento testemunha, sem aplicação de produtos para controle da doença.

No tratamento com o fungicida Tebuconazole a incidência da doença foi de 0,7%, ou seja, observou-se uma redução de 99,3% em relação ao tratamento testemunha, sem aplicação de produtos com ação sobre a *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*), agente causal da podridão da uva madura.

O tratamento alternado com óleo essencial e Tebuconazole apresentou uma incidência de 3,0% e o tratamento alternado com *Trichoderma* sp. e Tebuconazole a

incidência foi de 6,0%, reduzindo respectivamente 97 e 92% a doença nas uvas quando comparado ao tratamento testemunha.

Os tratamentos com Trichodel em todas as doses testadas e o tratamento com o isolado T8 de *Trichoderma* sp. não diferiram estatisticamente entre si, apresentando uma incidência de 22,0% em relação ao tratamento testemunha. Portanto a redução média foi de 78% na incidência da doença.

A maior incidência observada foi no tratamento com o óleo essencial de *C. citratus*, que apresentou uma incidência de 40,6%. Embora ainda menor que o tratamento testemunha que apresentou uma incidência de 79,7%.

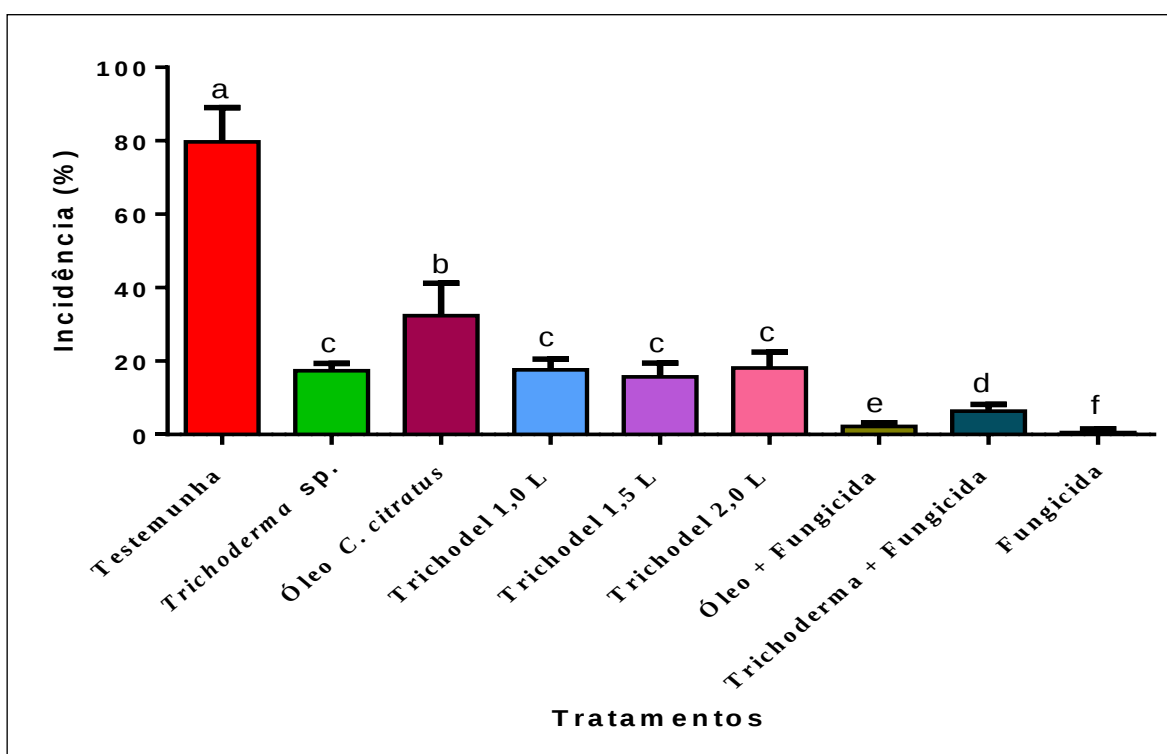


FIGURA 14: Incidência da podridão da uva madura em Niágara Branca. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Quanto à severidade da doença, podemos observar na Figura 15, que todos os tratamentos apresentaram baixa severidade da doença, exceto o tratamento T2 em que

utilizou-se o óleo essencial de *C. citratus* a 0,2% o qual apresentou uma severidade de 91%, ou seja, foi capaz de reduzir apenas 9% a severidade da podridão da uva madura na área experimental. Enquanto o tratamento com Tebuconazole apresentou uma severidade de 2,0%, reduzindo em 98%. Sendo o tratamento que apresentou a maior redução da severidade da podridão da uva madura em todos os tratamentos testados no vinhedo.

O tratamento em que alternou-se aplicações do óleo essencial de *C. citratus* e o fungicida Tebuconazole apresentou uma severidade de 4,0%, e o tratamento em que alternou-se o isolado T8 de *Trichoderma* sp. e Tebuconazole apresentou uma severidade de 7%.

Os tratamentos com o Biofungicida Trichodel, nas doses de 1,0 L/ha; 1,5 L/ha e 2,0 L/ha, e o isolado T8 de *Trichoderma* sp. apresentaram respectivamente uma severidade da podridão da uva madura de 6,8%, 7,1%, 6,8% e 7,8%. O que corresponde a uma redução média de 92,8%, não diferindo estatisticamente entre si.

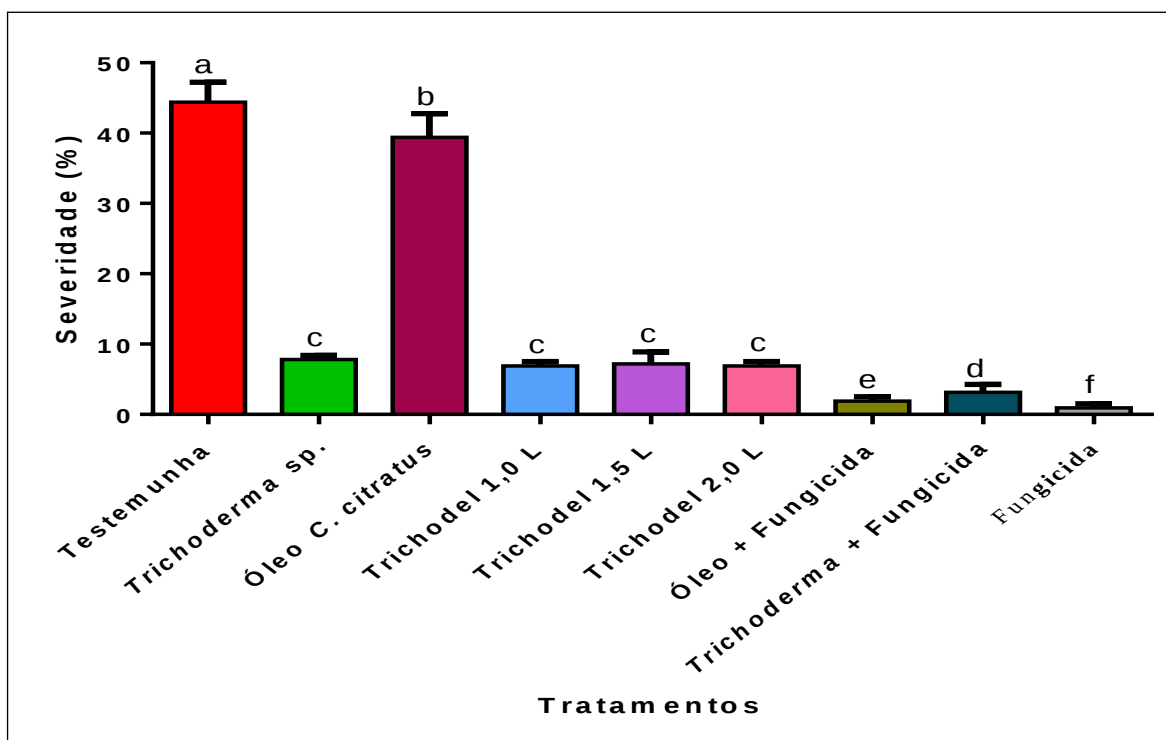


FIGURA 15: Severidade da podridão da uva madura em Niágara Branca. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Referente ao Biofungicida comercial testado, Trichodel da ECCB Insumos Biológicos podemos observar que a dose de 1,0 L/ha foi a que apresentou melhor custo benefício para aplicação nas videiras da cultivar Niágara Branca para controle da podridão da uva madura.

Resultado que concorda com o que já vem sendo citado por Venturin (2012), que recomenda para aplicação em parte aérea nas videiras a dose de 1 litro por hectare do agente de controle biológico *Trichoderma*. O pesquisador também cita que na aplicação deve ser misturado ao agente de biocontrole leite cru azedo na dose de 1 litro para cada 100 litros de água ou açúcar mascavo na dose de 800 gramas para cada 100 litros de água, com a finalidade de servirem de alimento para o *Trichoderma*, fazendo com que ele se reproduza mais rápido sobre a planta.

Quando avaliados os efeitos do óleo essencial de *C. citratus* sobre a podridão da uva madura causada pelo patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*) observou-se resultados contrários dos observados pelos pesquisadores Bastos & Albuquerque (2004) que obtiveram uma redução de 100% na incidência e severidade da antracnose causada por *Colletotrichum musae* em banana, com o óleo essencial de *Piper aduncun* a 1,0% usado em pós-colheita, com controle semelhante ao fungicida benomil.

Sokabe *et al.* (2012) utilizando o óleo essencial de capim limão (*Cymbopogum citratus*), aplicado por nebulização em uvas sob armazenamento refrigerado, nas concentrações de 50 mg.L⁻¹ e 100 mg.L⁻¹, também observaram características antifúngicas contra *Colletotrichum gloeosporioides* em uva cv. Itália.

Segundo Simões e Spinzer (2000), isto pode ser justificado pela instabilidade o óleo essencial na presença de luz, ar, calor, umidade e metais, visto que os testes no vinhedo de Niágara Branca foram conduzidos em uma área sem qualquer tipo de proteção.

Enquanto a utilização alternada no vinhedo de fungicidas químicos e de agentes de controle biológico com a finalidade de diminuir o número de aplicações de agrotóxicos mostrou-se uma alternativa bastante interessante, visto que os resultados obtidos no experimento no vinhedo de Niágara Branca foram favoráveis quando utilizado o fungicida Tebuconazole de forma alternada ao agente de controle biológico *Trichoderma* spp.

Resultados que concordam com Tavares (2004) que sugere que para se obter uma maior estabilidade fitossanitária do vinhedo e com menor impacto ambiental deve-se optar pela redução do número de aplicações de agrotóxicos. Garrido (2014) também sugere que o controle de doenças da videira não deve ser restrito apenas a aplicação de fungicidas, uma vez que para algumas doenças esta medida não tem sido eficaz. Além disso Ribas (2010) cita que o uso de agentes de controle biológico em campo, juntamente com a aplicação de fungicidas vem se tornando um hábito entre os produtores rurais.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os dados obtidos neste ensaio pode-se concluir que:

- ✧ O fungicida de princípio ativo Tebuconazole apresenta maior potencial de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.
- ✧ O óleo essencial de *Cymbopogum citratus* nas concentrações de 0,05% a 0,20% inibe, *in vitro*, o crescimento micelial do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*.
- ✧ O isolado T8 de *Trichoderma* sp. apresenta o melhor desempenho no confronto direto com o isolado de *Colletotrichum gloeosporioides*.
- ✧ A produtividade é maior com o uso do fungicida de princípio ativo Tebuconazole e quando utilizado de forma alternada com *Trichoderma* sp., não diferindo estatisticamente entre si.
- ✧ O peso médio dos cachos é favorecido com a aplicação do fungicida de princípio ativo Tebuconazole, quando utilizado de forma alternada com *Trichoderma* sp. ou com o óleo essencial e com o Biofungicida Trichodel na dose de 1,5L/ha.
- ✧ O teor de Sólidos Solúveis Totais (SST) não é influenciado pelos tratamentos utilizados.
- ✧ A incidência e a severidade da doença são menores com o uso do fungicida de princípio ativo Tebuconazole.
- ✧ A incidência e a severidade da doença são maiores com o uso de óleo essencial de *C. citratus*.
- ✧ As dosagens de 1,0 L/ha, 1,5 L/ha e 2,0 L/ha do Biofungicida comercial Trichodel não apresentou diferenças significativas em relação a incidência e severidade da doença.
- ✧ Os tratamentos alternados entre o fungicida de princípio ativo Tebuconazole e o óleo essencial de *C. citratus* e entre o fungicida e o isolado T8 de *Trichoderma* sp. mostraram-se promissores para o controle da podridão da uva madura.

7. PESPECTIVAS

Diante dos resultados obtidos se fazem necessários novos testes para aprimorar os métodos de controle da podridão da uva madura. Portanto sugere-se:

- ✧ Avaliação de óleos essenciais provenientes de outras plantas encontradas na região, que apresentem potencial antifúngico sobre *Glomerella cingulata* (*C. gloeosporioides*), em diferentes concentrações.
- ✧ Desenvolvimento de uma formulação de biofungicida que ofereça proteção contra a radiação UV devido à sensibilidade apresentada pelos micro-organismos quando aplicados em parte aérea.
- ✧ Avaliação da compatibilidade do agente de controle biológico *Trichoderma* sp., com fungicidas químicos utilizados nas videiras para controle de doenças.
- ✧ Avaliação do período de permanência do *Trichoderma* sp. e do óleo essencial na parte aérea das videiras a fim de estimar o intervalo entre as aplicações.
- ✧ Avaliação da quantidade de resíduos de agrotóxicos remanescentes nas uvas e em seus derivados: sucos e vinhos.
- ✧ Avaliar a interação entre o óleo essencial e o *Trichoderma* sp. com o fungicida, visando reduzir ainda mais a frequência de aplicação do fungicida.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALBI-PEÑA, M.I.; BECKER, A.; FRANZENER, G.; LOPES, M.C.; SCHAWAN-ESTRADA, K.R.F. (2006). Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina – II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, 31(4): 401-404.

BANDONI, A. (2002) **Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica: Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores**. Argentina: CYTED. p 34-38.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, S.B. (2004). Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, 29 (5): 555-557.

BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. (1982) *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogens. **Phytopathology** 72: 370-382.

BÉLANGER, R. R; DUFOUR, N.; CARON, J.; BENHAMOU, N. (1995). Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea*: indirect evidence for sequential role of antibiosis and parasitism. **Biocontrol Science and Technology**, 5:41-53.

BÉLANGER, R. R. (1999). Control of powdery mildews without chemicals: biological and prophylactic alternatives. In: International Powdery Mildew Conference, **Resumos**. p37. Avignon, 1999.

BENÍTEZZ, T.; RINCÓN, A. M.; LIMÓN, M. C.; CODÓN, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **Int Microbiol** 7: 249-260.

BETTIOL, W. MORANDI, M. A. B. (2009). Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, SP. 341p.

BETTIOL, W. (1991). Seleção de microorganismos antagônicos a fitopatógenos. In: Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. Jaguariúna, SP. **Embrapa Meio Ambiente**, pp. 225- 236.

BIN, E.L. (2007). Uso de desfolha e dos fungicidas azoxistrobina e tebuconazole no controle da podridão cinzenta da videira Riesling Itália. **Trabalho de Conclusão**. Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia. Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves, Bento Gonçalves, RS.

BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C.A. (2004). Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, 29: 128-134.

BOHNER, T.O.L; ARAUJO, L.E.B.; NISHIJIMA, T. (2012). **O impacto ambiental do uso de agrotóxicos no meio ambiente e na saúde dos trabalhadores rurais**. In: I Congresso internacional de direito ambiental e ecologia política – UFSM. Santa Maria, RS.

BOSCATO, R (2004). Avaliação do fungo antagonista *Trichoderma harzianum* linhagem TA, como agente controle biológico de fungos fitopatogênicos e elicitor de proteínas relacionadas à patogênese em videira. **Dissertação**. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, RS.

BRAGA, G.U.L.; FLINT, S.D; MILLER, C.D.; ANDERSON, A.J.; ROBERTS, D.W. (2001). Both solar UVA and UVB radiation impair conidial culturability and delay germination in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Photochem Photobiol.** 74, p.734 739.

BRUNI, R.; MEDICI, A.; ANDREOTTI, E.; FANTIN, C.; MUZZOLI, M.; DEHESA, M.; ROMAGNOLI, C.; SACCHETTI, G. (2004) **Chemical composition and biological activities of *Ishpingo* essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm (Lauraceae) flower calices.** Food Chem 85: p. 415-421.

BRUNNER, K. PETERBAUER, C.K.; MACH, R.L.; LORITO, M.; ZEILINGER, S.; KUBICEK, C.P. (2003). The Nag1 N-acetylglucosaminidase of *Trichoderma atroviride* is essential for chitinase induction by chitin and of major relevance to biocontrol. **Curr. Genet.** 43: 289-295.

BURT, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, 94(3): 223-253.

CARVALHO, C. M.; COSTA, C. O. M.; SOUSA, J. S.; SILVA, R. H. D.; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, F. J. R. (2005). Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, 5(2): 100-105.

CARVALHO, N.L. (2012). **Resistência genética induzida em plantas cultivadas.** Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, Santa Maria, RS, 7(7): 1379-1390.

CHAVARRIA, G.; SANTOS, H.P. (2013). Cultivo protegido de videira: manejo fitossanitário, qualidade enológica e impacto ambiental. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, SP, 35(3): 910-918.

CHAVARRIA, G. ; SANTOS, H. P.; ZANUS, M. C. ; MARODIN, G. A. B.; CHALAÇA, M. Z.; ZORZAN, C. (2010). Maturação de uvas Moscato Giallo sob cultivo protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, 32(1): 151-160.

CHET, I. (1990). **Mycoparasitism – recognition, physiology and ecology**. In: New directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pests and Diseases. UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, New Series, Vol.112, New York: Alan R. Liss. pp 725-733.

CHOUDARY, K.A.; REDDY, K.R.N.; REDDY, M.S. (2007). Antifungal activity and genetic variability of *Trichoderma harzianum* isolates. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, 37:295-300.

COONEY, J. M.; LAUREN, D. R. (1998). *Trichoderma*/pathogen interactions: measurement of antagonistic chemicals produced at the antagonistic/pathogen interface using a tubular bioassay. **Letters in Applied Microbiology**, 27:283-286.

COOK, R.J. & BAKER, K.F. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS Press, St. Paul, 1983, 539 p.

COSTA, A.R.T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. (2011). Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, SP, 13(2): 240-245.

CRUZ, M. E. da S. (2000). **Plantas medicinais**. Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento, Brasília, DF, 15: 28-29.

DELBONE, C.A.C.; LANDO, R.L. (2010). Importância ecológica e evolutiva dos principais grupos de metabólitos secundários nas espécies vegetais. In: X Congresso de Educação do Norte Pioneiro. **Anais**. pp. 396-404. Jacarezinho, 2010.

EMBRAPA, Estação Agroclimática da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves/ RS. **Disponível (online)**: <http://www.cnpuv.embrapa.br/prodserv/meteorologia/bento-mensais.html> (18 de Junho de 2014).

EL FATTAH, M.A.; EL ZAHWEY, A.; HARIDY, I.M.; EL DEEB, S.A. (1992). Effect of drying on the physicochemical properties and chemposition of lemongrass oil. **Menofiya Journal Agriculture Research**, 17(3): 1211-1230.

ETHUR, L.Z.; BLUME, E.; MUNIZ, F.B.; CAMARGO, R.F.; FLORES, M.G.V.; CRUZ, J.L.G.; MENEZES, J.P. (2008) *Trichoderma harzianum* no desenvolvimento e na proteção de mudas contra a fusariose do tomateiro. **Ciência e Natura**, 30: 57-69.

ETHUR, L.Z.; BLUME, E.; MUNIZ, F.B.; SILVA, A.C.F.; STEFANELO, D.R.; ROCHA, E.K. (2005). Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepino cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**. 30(2), 127-133.

FAJARDO, T.V.M. (2003). **Doenças fúngicas**. In: Fajardo, T.V.M. (Ed.) Uva para processamento: fitossanidade. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 131p.

FERREIRA, J.B.; ABREU, M.S.; PEREIRA, I.S.; FERNANDES, K.D.; PEREIRA, R.B. (2009). Sensibilidade de *colletotrichum gloeosporioides* (mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 33, p. 2052-2058.

GARRIDO, L. da R.; SÔNEGO, O. R. (2004). **Podridão da Uva Madura ou Podridão de *Glomerella* – Biologia, epidemiologia e controle**. Circular Técnica 52. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS. 10p.

GARRIDO, L. da R.; SÔNEGO, O. R.; GOMES, R.O. (2008). Avaliação do controle da podridão da uva madura com fungicidas. In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia. **Resumos**. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 2008.

GIOVANNINI, E. (2008). **Produção de uvas para vinho, suco e mesa**. 3. Ed. Renascença. Porto Alegre. 368p.

GROGOLETTI Jr., A.; SÔNEGO, O.R. (1993). **Principais doenças fúngicas da videira no Brasil**. Circular Técnica, 17. Embrapa, Bento Gonçalves, RS.

GUERREIRO, F.G. (2006). Estudos histológicos e Epidemiológicos para posterior desenvolvimento de um modelo de infecção para a podridão da uva madura. **Trabalho de conclusão de curso**, Centro Federal de Educação Tecnológica. Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia, Bento Gonçalves, RS. 47p.

GUIMARÃES, L.G.L.; CARDOSO, M.G.C.; ZACARONI, L.M.; LIMA, R.K.; PIMENTESL, F.A.; MORAIS, A.R. (2008). Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF). **Química Nova**, 31: 1476-1480.

HADDAD, F.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S.G. (2003). Avaliação de fungicidas para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.4, p.435-437.

HAMADA, E.; ANGELOTTI, F.; GARRIDO, L. DA R., GHINI, R.; CARVALHO, M.C.; PALLADINO, R.P. (2011). Efeito das mudanças climáticas sobre a favorabilidade às podridões de uva madura e cinzenta da videira no nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Geografia Física**. 06(2011), p. 1213-1221.

HAMANN, F.A. (2011). Aspectos do controle biológico de *Botrytis cinerea* Pers. Ex. Fr. Em videira. **Tese Mestrado**. Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Santa Maria, RS. 83p.

HARAN, S.; SCHICKLER, H.; OPPENHEIMEN, A.; CHET, I. (1996). Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. **Phytopathology**. 86:980-985.

HARMAN, G.E.; HOWELL, C.R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. (2004) *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature** 2: 43-56.

HJELJORD, L.; TRONSMO, A. (1998). *Trichoderma* and *Glicocadium* in biological control: an overview. In: Herman, G. E.; Kubicek, C. P. (Ed.) **Enzymes, biological control and commercial application**. vol.2. London, United Kingdom. p. 129-151.

IOST, R.; BETTIOL, W. (2012). Efeito da radiação UV-B na germinação de conídios de *Trichoderma* obtidos de produtos comerciais. In: Workshop sobre mudanças climáticas e problemas fitossanitários. **Anais**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP, 2012.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (2005) **Manual de Fitopatologia** Vol. 2. Doenças das plantas cultivadas. Editora Agronômica Ceres, 663p.

KREDICS, L.; ANTAL, Z.; MANCZINGER, L.; SZEKERES, A.; KEVEI, F.; NAGY, E. (2003). Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potencial. **Food Technology Biotechnology**. Zagreb- Croatia. 41(1): 37-42.

LIMA, L. H. C.; DE MARCO, J. L.; FELIX, C. R. (2000). Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle biológico por micoparasitismo. In: Melo, I. S.; Azevedo, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, Embrapa Meio Ambiente. 2: 263-304.

LIMA, M.F. (2008). Doenças que comprometem a produção e comercialização de uva. In: I Simpósio internacional de viticultura do submédio São Francisco. **Anais**. Petrolina:

Embrapa Semi-Árido, 2008. **Disponível (online)** <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/> (10 de Fevereiro de 2014).

LO, L. C.; WEIERGANG, I.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R. L. (1996). Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 49:21-31.

LOBO JUNIOR, M.; ABREU, M.S. (2000). Inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* por metabólitos voláteis produzidos por alguns antagonistas em diferentes temperaturas e pH's. **Ciência e Agrotecnologia**, 24(2): 521-526.

MAIA, J.G.S., ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A. (2001). **Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi. 16p.

MARIANO, R.L.R. (1993). Métodos de seleção *in vitro* para controle microbiológico. Revisão Anual de Patologia de Plantas. 1: 369-409.

MARQUES, S. S.; SANTOS, M. P.; ALVES, E. S. S.; VILCHEST, T. B.; SANTOS, R. B.; VENTURA, J.A; FERNANDES, P. M. B. (2003). Uso de óleos essenciais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em frutos do mamoeiro. In: Papaya Brasil - Simpósio do Papaya Brasileiro, Vitória, ES. **Disponível (online)** <http://www.fundagres.org.br> (26 de Abril de 2012).

MARTINS, M. I. F. M.; DIAS, D. O. A. R.; ANDRADE, M. A. A. (2009). **Combate a podridão cinzenta (*Botrytis cinérea* Pers.), comparando diferentes estratégias**. Escola Profissional de Viticultura e Enologia da Bairrada, Estação Vitivinícola da Bairrada, Anadia, Portugal. 4p.

MATOS, F.J. DE A. (2000). **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. Fortaleza, CE. 394p.

- MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.; JUNIOR, R.G.M.; LOPES, E.A.G.L. (2007). Óleos essenciais no controle da Ferrugem Asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd, & P. Syd. **Ciência Agrotecnológica**, 31(1): 83-90.
- MELO, I. S. (1991). Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: Bettiol, W. (Org.) **Controle Biológico de doenças de plantas**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna, SP. pp.7-23.
- MELO, I.S. (1998). Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: Melo, I. S.; Azevedo, J.L. **Controle Biológico**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna, SP. pp. 17-67.
- MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (1998). **Controle Biológico**. Ed.1. Melo, I. S.; Azevedo, J. L. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna, 340p.
- MELO, I. S. (1996). *Trichoderma* e *Glicocadium* como bioprotetores de plantas. In: LUZ, W. C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, 4: 261-295.
- MISHRA, D.; DUBEY, N.K. (1994). Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. **Applied and Environmental Microbiology**, 60(4): 1101-1105.
- MORAIS, L.A.S. (2009). Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. **Horticultura brasileira**, 27(2): S4050-S4063.
- MOREIRA, L.M.; MAY-de-MIO, L.L. (2006). Efeitos de fungos antagonistas e produtos químicos no controle da podridão parda em pomares de pessegueiro. **Floresta**, 36(2): 287-293.

- MOTA, J.C.O.; PESSOA, M.N.G. (2003). Utilização de óleo essencial e extrato foliar de *Lippia sidoides* Cham. No controle de fungos de sementes de graviola. In: XXXVI congresso Brasileiro de Fitopatologia. **Resumos**. Uberlândia, 2003.
- NACHTIGAL, J. C.; MIGLIORINI, L. C. (2009). Recomendações para produção de videiras americanas e híbridas para processamento na região de Pelotas. Circular técnica, 77. **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, RS, 12 p.
- NAVES, R. L.; GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R. (2006). **Controle de doenças fúngicas em uvas de mesa na região Noroeste do Estado de São Paulo**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. 17 p. (Embrapa Uva e Vinho. Circular Técnica, 68).
- NAVES, R. L.; SANHUEZA, R.M.V.; SANTANA, A.P DOS S.; HENRIQUE, C.R.; MORANTE, J.P. (2008). Controle da podridão dos cachos em uvas finas de mesa com os biofungicidas Serenade, Sonata e *Clonostachys rósea*. In: XII Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia. **Anais**. Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, 2008.
- OLIVEIRA, M.M.M.; BRUGNERA, D.F.; CARDOSO, M.G.; GUIMARÃES, L.G.L.; PICCOLI, R.H. (2011). Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, 13(1): 8-16.
- PASCHOLATI, S. F. (1998). Pontencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos. **Tese Mestrado**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 123p.
- PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.A.S.; SILVA, R.F.; FERNANDES, A.F.; SOUZA JUNIOR, I.T.; SALES, N.L.P.; MARTINS, E.R. (2009). Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado de maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, 22(3): 77-83.

PEREIRA, A.A. CARDOSO, M. DAS G.; ABREU, L.R.; MORAIS, A.R.; GUIMARÃES, L.G. DE L.; SALGADO, A.P.S.P. (2008). Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, 32(3): 887-93.

PEREIRA, J.C.R.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIM, L.; MATSUOKA, K.; SILVA-ACUÑA, R.; DO VALE, F.X.R. (1996). Controle integrado de *Sclerotinia sclerotiorum*. Fitopatologia Brasileira. 21(2): 254-259.

POMELLA, A. W. V., RIBEIRO, R. T. S. (2009). Controle Biológico com Trichoderma em Grandes Culturas - uso e perspectivas. In: Bettiol, W.; Morandi, M. **Biocontrole de Doenças de Plantas**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. 341p.

PRADELLA, S.M. Determinação do período de maior suscetibilidade á podridão da uva madura e avaliação de métodos alternativos. **Trabalho de Conclusão**. Universidade de Caxias do Sul, Caxias do sul, RS. 46 p.

PUNJA, Z. K .; UTKHEDE, R. S. (2003). Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. **Trends in Biotechnology**, 21(9): 400-407.

REDDY, N. P. (2008). Assessment of the suitability of Tinopal as an enhancing adjuvant in formulations of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. **Pest Management Science**. 64 (9), p. 909-915.

REMUSKA, A.C.; PRIA, M.D. (2007). Efeitos de *Bacillus thuringensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, SP. 13 (3), p. 31-36.

RESENDE, M.L.; PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÃES, R.M. (2005). Qualidade de sementes de milho (*Zea mays*) tratadas com fungicidas e inoculadas com *Trichoderma harzianum*. **Ciência Agrônômica**. 36(1): 60-65.

RIBAS, P. P. (2010). Compatibilidade de *Trichoderma* spp. a princípios ativos de fungicidas comerciais aplicados na cultura do feijão. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Porto Alegre, RS.

RIBEIRO, T. da S. (2009). O fungo *Trichoderma* spp. no controle de fitopatógenos : dificuldades e perspectivas. **Dissertação Especialização**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Porto Alegre, RS. 35p.

ROMBALDI, C.V.; FERRI, V.C.; BERGAMASQUI, M.; LUCHETTA, L.; ZANUZO, M.R. (2004). Produtividade e qualidade de uva, Cv. Bordô (Ives), sob dois sistemas de cultivo. **Revista Brasileira de Agrociência**, 10(4): 519-521.

ROLAS (2004). **Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina** / Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. 10. ed., Porto Alegre, RS. 400p.

ROSWALKA, L.C. (2003). Controle alternativo da antracnose em frutos de goiaba, em laboratório. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 45p.

ROSWALKA, L.C.; LIMA, M.L.R.Z.C.; MAY de MIO, L.L; NAKASHIMA, T. (2008). Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, 38(2): 301-307.

SACCHETTI, G. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**. 91(3), p. 621-632.

SAITO, L.R.; SALES, L.L.S.R.; MARTINCHOSKI, L.; ROYER, R.; RAMOS, M.S. de; REFFATTI, T. (2009). Aspectos dos efeitos do fungo *Trichoderma* spp. no biocontrole de patógenos de culturas agrícolas. **Pesquisa aplicada e Agroecologia (Revista on line)**. UNICENTRO. Guarapuava, PR. 2(3), p. 203-208.

SANTOS, H.P.; CHAVARRIA, G. (2012). Cultivo de videira em ambiente protegido. In: Chavarria, G.; Santos, H.P. (Ed.). **Fruticultura em ambiente protegido**. Embrapa Hortaliças. Brasília, DF. 278p.

SCHENATO, P.G. et al. Influencia da temperatura e do período de molhamento na infecção de bagas de uva por *Glomerella cingulata*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 2008. **Anais...** Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2008. 102 p.

SILVA, F. de A.S. & AZEVEDO, C.A.V. de. **Principal components analysis in the software assistat-Statistical Attendance**. In: WOLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-Nv-USA: American Society of Agriculture and Biological Engineers, 2009.

SILVA, F. de A.S. & AZEVEDO, C.A.V. de. A new version of the Assistat-Statistical Assistance Software. In: WOLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4, Orlando-FL-USA: **Anais...** Orlando: american Society of Agricultural and Biological Engineers, 2006. P. 393-396.

SILVA, F. de A.S. & AZEVEDO, C.A.V. de. The Assistat Software: statistical assistance. In: INTERNATTIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, Cancun, 1996. **Anais...** Cancun: Americam Society of Agricultural engineers, 1996. P. 294-298.

SILVA, S.R.S.; BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; ANDRADE, N.J.; NASCIMENTO, E.A.; PINHEIRO, A.L. (2003). Análise de constituintes químicos e da

atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 6: 63-70.

SILVA, J.; ROZWALKA, L.C.; MAY de MIO, L.L. (2012). Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* agente etiológico da podridão-da-uva-madura. In: 45º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. **Tropical Plant Pathology**, Suplemento, Manaus, 2012.

SIMÕES, C.M.O; SPITZER, V. (1999). **Óleos voláteis**. In: Simões, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Ed. Universidade-UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC. p. 387-415.

SÔNEGO, R.O. (2000). **Principais doenças fúngicas da videira no Brasil e medidas de controle**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 5 p. (Embrapa Uva e Vinho, Instrução técnica, 03).

SÔNEGO, R.O.; GARRIDO, L. da R. (1999). Diagnose de doenças de videira realizada pelo laboratório de fitopatologia da Embrapa Uva e Vinho. In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia. **Anais**. Embrapa Uva e Vinho. Bento Gonçalves, RS. 154p.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. (2005). Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. Circular Técnica, 56. Embrapa Uva e Vinho. Bento Gonçalves, RS. 32p.

SOUZA JUNIOR, I.T.; SALES, N.L.P.; MARTINS, E. R. (2009). Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado de maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, 22(3): 77-83.

SOUZA, J. DE L. (2013). Pré-colheita e colheita de uvas na Serra gaúcha (Cooperativa Vinícola Aurora de Bento Gonçalves/RS) e Legislação de bebidas derivadas da uva e do

vinho no MAPA-SC. **Trabalho de conclusão**, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 52 p.

TAVARES, G.M.; SOUZA, P.E. (2005). Efeito de fungicidas no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da Antracnose do Mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.1, p.52-59.

TONIETTO, J. (2003). Clima. In: KUHN, G. B. (Ed.). **Uva para processamento: produção**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 27-32. (Frutas do Brasil, 34).

VENTURIN, L. (2012). Insumos para a agricultura orgânica – A experiência da Serra Gaúcha. **Woskso Insumos para agricultura sustentável**. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. 5p.

VINALE, F.; SIVASITHAMPARAM, K.; GHISALBERTI, E.L.; MARRA, R.; WOO, S.L.; LORITO, M. (2008) *Trichoderma* –plant- pathogen interactions. **Soil Biol Biochem** 40: 1-10.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. Óleo essencial de eucalipto. Documentos Florestais, São Paulo, n.17, 2003. **Disponível (online)** <http://www.ipef.br> (19 de novembro de 2012).

WESTPHALEN, S. L.; MALUF, J. R. T. (2000). Caracterização das áreas bioclimáticas para o cultivo de *Vitis vinífera* L. Regiões da Serra do Nordeste e Planalto do Estado do Rio Grande do Sul. **Embrapa Hortaliças**, Brasília, DF, 98p.

WINES OF BRASIL, Brasil Vitivinícola, um grande país só poderia elaborar grandes vinhos. **Disponível (online)** http://www.winesofbrasil.com/Default_pt.aspx, (07 de fevereiro de 2014).

ZADOKS, J.C. (1992) **The cost of change in plant protection**. Journal of Plant Protection, v. 9, p.151-159.

ZANANDREA, I.; SANTOS, J.; MOURA, A. B.; LUDWIG, J.; BOSEMBEKER, V.K. (2004). Atividade do óleo essencial de orégano contra fungos patogênicos do arroz: crescimento micelial em placas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 14(1): 14-16.