

**FOSFITOS NO MANEJO DO MÍLDIO DA  
VIDEIRA: EFICÁCIA E MODO DE AÇÃO**

**VANESSA FORESTI PEREIRA**

**2009**

**VANESSA FORESTI PEREIRA**

**FOSFITOS NO MANEJO DO MÍLDIO DA VIDEIRA: EFICÁCIA  
E MODO DE AÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, área de concentração em Fisiologia do Parasitismo, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende

LAVRAS  
MINAS GERAIS-BRASIL  
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Pereira, Vanessa Foresti.

Fosfitos no manejo do míldio da videira: eficácia e modo de ação  
/ Vanessa Foresti Pereira. – Lavras : UFLA, 2009.  
69 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende.

Bibliografia.

1. *Plasmopara viticola*. 2. Fosfitos. 3. Resistência induzida. 4.  
PR-proteínas. 5. Fenóis solúveis. 6. Lignina. I. Universidade Federal  
de Lavras. II. Título.

CDD – 634.824

**VANESSA FORESTI PEREIRA**

**FOSFITOS NO MANEJO DO MÍLDIO DA VIDEIRA: EFICÁCIA E  
MODO DE AÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, área de concentração em Fisiologia do Parasitismo, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 29 de julho de 2009

Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu

UFLA

Dr. Murillo de Albuquerque Regina

Epamig

Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende  
UFLA  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS-BRASIL

*A Deus, pela vida e força para alcançar meus objetivos.*

*Aos meus pais, José Fidélis e Virginia, pelo incentivo,  
força, confiança e amor incondicional,*

*Dedico.*

*Aos meus irmãos, Anderson e Viviane, pela amizade sincera e por  
estarem sempre ao meu lado,*

*Aos meus lindos Toy e Puka, pelo amor incondicional e por estarem  
sempre à minha espera,*

*Ao, Fernando, pelo apoio, amor, carinho, amizade e compreensão,*

*Ofereço!*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realizar o mestrado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fapemig, pelo apoio financeiro.

Ao professor Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende, pela oportunidade, orientação, e confiança na realização do presente trabalho.

Ao Dr. Murillo de Albuquerque Regina, pela coorientação, apoio, auxílio nos experimentos e pela participação na banca.

Ao professor Dr. Mário Sobral de Abreu, pela participação na banca e pelas valiosas sugestões.

Aos demais professores do Departamento de Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, Ana Maria, Cleber, Edson, Eliane, Heloísa, Luciene, Rute e Tarley, pela agradável convivência e pela atenção, durante o transcorrer do curso.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do DFP, Daniel, Jadir, Pedro, Fernanda, Fabrício, Luiz Henrique, Moisés, Ana Cristina, Renato, Bruno, Henrique e Rodrigo, pela convivência e auxílio nos experimentos.

À equipe deste trabalho: Pedro, Ana Cristina, Moisés e funcionários da Epamig de Caldas, especialmente Evaldo e Daniel, pelo importante apoio oferecido.

Ao meu pai, José Fidélis e ao meu namorado, Fernando, pelo apoio durante a montagem e as avaliações dos experimentos de campo.

Aos amigos Lucas, Grazielle, Valquíria e especialmente Júnea, minha irmã do coração, que mesmo longe, estavam sempre presentes me dando força para continuar.

Às companheiras Gilvaine e Joelma, pelos maravilhosos momentos de descontração.

Aos colegas do Departamento: Flávio, Fernanda, André, Ana Beatriz, Amanda, Bernardo, Érika, Jucilaine, Rosana, Renata, Fernanda Martins, Flávia, João Eduardo, Juliano, Luana, Luciana, Eduardo, Ricardo, Sarah, Lilian, Cecília, Carolina, Vivian, Stélio, Felipe e Rodrigo, pelo companheirismo.

Ao meu querido ex-orientador, Ernane Ronie Martins, que me iniciou na carreira acadêmica e acreditou no meu potencial.

À grande amiga Joelma, pela convivência, companheirismo e pelos momentos de descontração.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), pelo suporte técnico.

Meu agradecimento especial a todas as pessoas cujos nomes foram omitidos, mas que contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1: Fosfitos no manejo do míldio da videira: eficácia e modo de ação.....	1
1 Introdução geral.....	2
2 Referencial teórico.....	4
2.1 Viticultura.....	4
2.2 Míldio da videira.....	5
2.3 O fenômeno da indução de resistência.....	7
2.4 Fosfitos no controle de doenças de plantas.....	8
3 Referências bibliográficas.....	10
CAPÍTULO 2: Produtos alternativos na proteção da videira contra o míldio.....	15
Resumo.....	16
Abstract.....	17
1 Introdução.....	18
2 Material e métodos.....	21
3 Resultados e discussão.....	25
4 Conclusão.....	33
5 Referências bibliográficas.....	34
CAPÍTULO 3: Modo de ação de fosfitos e acibenzolar-S-metil na proteção da videira contra o míldio.....	38
Resumo .....	39
Abstract .....	40
1 Introdução.....	41
2 Material e métodos.....	43
2.1 Material vegetal e isolado fúngico .....	43
2.2 Produtos utilizados.....	43
2.3 Efeito dos fosfitos e Bion <sup>®</sup> na proteção da videira contra o míldio.....	44



2.4 Efeito dos produtos na germinação de esporângios de <i>P. viticola</i> , <i>in vitro</i> .....	44
2.5 Efeito de fosfitos de potássio e Bion <sup>®</sup> sobre as atividades de enzimas relacionadas à defesa, deposição de lignina e conteúdo de fenóis solúveis totais em mudas de videira.....	45
3 Resultados e discussão.....	49
3.1 Efeito dos fosfitos e Bion <sup>®</sup> na proteção da videira contra o míldio .....	49
3.2 Efeito dos fosfitos de potássio e Bion <sup>®</sup> na germinação de esporângios de <i>P. viticola</i> , <i>in vitro</i> .....	50
3.3 Efeito de fosfitos de potássio e Bion <sup>®</sup> sobre atividades de enzimas relacionadas à defesa, deposição de lignina e conteúdo de fenóis solúveis totais em mudas de videira.....	51
4 Conclusão.....	62
5 Referências bibliográficas.....	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69

## RESUMO

PEREIRA, Vanessa Foresti. **Fosfitos no manejo do míldio da videira**: eficácia e modo de ação. 2009. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras<sup>1</sup>.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar produtos alternativos, a base de extratos vegetais, manano-oligossacarídeos fosforilados, fosfitos e ASM na proteção da videira contra o míldio, bem como a influência destes na qualidade de uvas da cultivar Merlot, além de avaliar fosfitos de potássio e acibenzolar-S-metil, no efeito tóxico direto à *Plasmopara viticola*, e na ativação das enzimas de defesa peroxidase, polifenoloxidase, quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase e nos teores de fenóis solúveis totais e de lignina. Os fosfitos testados, no campo, em folhas e cachos proporcionaram proteção do míldio da videira semelhante ao tratamento com fungicidas, não afetando a qualidade analítica das bagas. Os tratamentos baseados em manano- oligossacarídeos fosforilados, acibenzolar-S-metil e extratos vegetais não foram eficazes no controle do míldio e também não influenciaram na qualidade analítica das bagas. Os fosfitos, em casa de vegetação, proporcionaram menor incidência da doença nas folhas de videira, além de apresentarem toxidez direta, inibindo a germinação de esporângios, e proporcionaram maiores atividades de peroxidase, polifenoloxidase e quitinase, e, em geral, não proporcionaram maior teor de lignina. O ASM não foi eficiente para o controle do míldio nas folhas e para inibição da germinação de esporângios, mostrando que não apresenta efeito direto sobre o patógeno, porém, foi eficiente para induzir respostas de defesa nas plantas de videira, uma vez que após a pulverização, proporcionou aumento da atividade de peroxidase e no teor de acúmulo de lignina.

---

<sup>1</sup> Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA.

## ABSTRACT

PEREIRA, Vanessa Foresti. **Phosphites in the management of downy mildew of grapevine**: effectiveness and mode of action. 2009. 69 p. Dissertation (Masters in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras.<sup>1</sup>

The present study was aimed at evaluating alternative products, based on plant extracts, phosphorilated mannan-oligosaccharides, phosphites and acibenzolar-S-methyl (ASM) for the protection of grapevine against downy mildew, as well as the influence of these treatments on the quality of grape cultivar Merlot. Potassium phosphites and acibenzolar-S-methyl toxic effects on *Plasmopara viticola* and on the activation of defense enzymes peroxidase, polyphenoloxidase, chitinases,  $\beta$ -1,3-glucanase and on the contents of total soluble phenolics and lignin were assessed. In field trials, phosphites provided protection against downy mildew similarly to fungicides. Treatments based on phosphorylated mannan oligosaccharides, acibenzolar-S-methyl and plant extracts showed no effective control of downy mildew. Treatments did not influence the analytical quality of the berries. In glasshouse and lab trials, phosphites provided the lowest incidence of disease on leaves and had direct toxicity, inhibiting the germination of sporangia. Major activities of peroxidase, polyphenoloxidase and chitinases were detected after phosphite applications, which, in general, did not increase lignin content. ASM was not effective for the control of downy mildew on leaves and for the inhibition of germination of sporangia; however, increased the activity of peroxidase and promoted the accumulation of lignin.

---

<sup>1</sup> Advisor: Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA.

## **CAPÍTULO 1**

### **FOSFITOS NO MANEJO DO MÍLDIO DA VIDEIRA: EFICÁCIA E MODO DE AÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Dentre as doenças fúngicas de maior importância para os vinhedos, o míldio é o responsável pelos maiores danos para a viticultura no sul e sudeste do Brasil, assim como em outras regiões vitícolas do mundo com elevada precipitação durante o desenvolvimento vegetativo e produtivo da planta.

A adoção de métodos alternativos de controle das doenças, além de contribuir com produtos menos tóxicos ao meio ambiente, pode também reduzir parte dos custos na viticultura, em que são utilizadas, em média, quatorze pulverizações de fungicidas, sendo de oito a dez realizadas para o controle do míldio da videira (Chavarria et al., 2007).

Essas pulverizações com fungicidas são realizadas pelos produtores de forma semanal para garantir a produção, porém, muitas vezes, ela ocorre sem a necessidade real, contaminando ainda mais o meio ambiente e produzindo uvas com resíduos tóxicos para o consumidor.

Práticas de manejo integrado de pragas e doenças, associando medidas culturais, controle biológico e resistência induzida ao controle químico, devem ser realizadas como forma alternativa para a redução de pulverizações com produtos químicos, não só na cultura da uva, como em várias outras culturas.

Assim, a resistência induzida vem sendo adotada no manejo de diversas culturas como uma alternativa compatível com o manejo integrado de pragas e doenças, pois apresenta ação contra amplo espectro de organismos fitopatogênicos, incluindo fungos, bactérias e vírus (Loon, 1998). A resistência resultante é proporcionada por um agente indutor, biótico ou abiótico, que aciona mecanismos de defesa na planta, os quais se encontram na forma latente (Hammerschmidt & Kúc, 1982). Essa ativação pode ser obtida pelo tratamento com agentes bióticos, ou seja, formas avirulentas de patógenos, raças

incompatíveis e, em determinadas circunstâncias, por formas virulentas de patógenos, extratos vegetais e extratos de fungos (Stangarlin & Pascholati, 1992) ou por ativadores químicos, como ácido aminobutírico (Cohen, 1996), ácido 2,6-dicloroisonicotínico e acibenzolar-S-metil (Loon, 1998).

Produtos à base de fosfitos têm demonstrado efeito no controle do míldio da videira de forma similar ao controle com fungicidas. Porém, sua forma de ação ainda não foi completamente elucidada, podendo atuar tanto de forma direta quanto indireta no patógeno, induzindo mecanismos de defesa nas plantas (Fenn & Coffey, 1984; Dercks & Creasy, 1989).

Outras formas de controle de doenças podem ser obtidas por meio da utilização de produtos naturais, como extratos de plantas e produtos comerciais derivados de microrganismos (Resende et al., 2004; Rosa et al., 2007).

Dessa forma, objetivou-se, com a realização deste trabalho, avaliar o efeito de formulações à base de extratos vegetais e fosfitos contra *Plasmopara viticola* e estudar os mecanismos envolvidos na resposta de defesa da videira.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Viticultura

A ampla adaptabilidade da videira a uma gama diversificada de climas, os benefícios do controle da irrigação em climas de pluviosidade baixa ou estacional e a maior facilidade de controle de doenças em períodos de pouca incidência de chuvas, dentre outros fatores, têm impulsionado o cultivo de uvas para mesa em regiões de clima tropical de tal modo que as regiões nordeste e sudeste do Brasil respondem por grande parte da produção de uvas no país (Melo et al., 2005).

Segundo dados parciais da União Brasileira de Vitivinicultura (UVIBRA), em 2008, o Brasil produziu 83.801.966 kg de uvas viníferas e 550.462.367 kg de uvas comuns ou americanas. Em 2007, a produção foi de 72.367.979 kg de uvas viníferas e 498.383.918 kg de uvas comuns, colocando o Brasil em 22º lugar entre os países com área cultivada com uvas, em 16º em produção de uvas e em 15º em produção de vinhos.

A cultivar *Vitis vinifera* é a espécie mais cultivada no mundo e produz uvas para mesa, vinho, passas e outros derivados. Apesar de produzir uvas de alta qualidade, são bastante sensíveis às doenças fúngicas que podem ocasionar a redução da quantidade e da qualidade de uvas e derivados produzidos (Camargo, 2009; Champagnol, 1984; Garrido et al., 2004).

No Brasil, as uvas viníferas são responsáveis por cerca de 20% das uvas industrializadas e têm participação importante na produção de uvas finas de mesa, especialmente nos estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Pernambuco (Camargo, 2009).

A cultivar Merlot é uma importante variedade europeia vinífera tinta. Apresenta bagas esféricas e pequenas, que darão origem a um vinho de coloração vermelho-violáceo (Rizzon & Miele, 2003). É utilizada para a

elaboração dos melhores vinhos tintos finos do sul do Brasil. É uma cultivar produtiva, bastante requerida pelo setor industrial brasileiro, porém, é muito suscetível ao míldio, inclusive nas inflorescências (Camargo, 2009).

## **2.2 Míldio da videira**

Dentre as doenças fúngicas de maior importância para os vinhedos, o míldio, doença cujo agente etiológico é *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt) Berl. & De Toni, é o responsável pelos maiores danos para a viticultura de todo o Brasil (Gallotti & Grigoletti Júnior, 1990; Grigoletti Júnior & Sônego, 1993), assim como em outras regiões vitícolas do mundo com elevada precipitação durante o desenvolvimento vegetativo da planta (Galet, 1977; Pearson & Goheen, 1988; Magarey et al., 1990).

Essa doença é especialmente séria em anos com elevada precipitação, alta umidade relativa e longos períodos de umidade sobre folhas e frutos, com perdas que podem atingir 100% da produção de um vinhedo, tornando-se como uma das maiores restrições à produção de uvas em Ohio, EUA (Madden et al., 2000).

O patógeno infecta todas as partes verdes da planta e os estádios mais críticos vão desde a pré-floração até o início da maturação da uva (Sonego & Garrido, 2005). Havendo infecção nesses estádios, em condições de alta umidade, a produção pode ser totalmente comprometida, se não forem tomadas medidas eficientes de controle.

*P. viticola* é um parasita obrigatório e, em regiões de clima temperado ou subtropical, sobrevive durante o inverno na forma de oósporos e micélio. Essas estruturas de sobrevivência tornam-se maduras e germinam em solo encharcado, em temperatura superior a 11°C, produzindo macrosporângios dos quais saem os zoosporângios que, por meio dos respingos da chuva e do vento, são transportados até os tecidos das plantas, causando as infecções primárias



(Galet, 1977). A partir dessas infecções, em condições climáticas favoráveis, como alta umidade e temperaturas acima de 11°C, serão produzidos os ciclos secundários da doença.

Todos os fatores que contribuem para o aumento da umidade favorecem o desenvolvimento da doença. Portanto, a chuva é o principal fator na promoção das epidemias, enquanto a temperatura exerce papel moderador, acelerando ou retardando o desenvolvimento do patógeno (Ronzon, 1987; Pearson & Goheen, 1988).

A pulverização de fungicidas, os tratos culturais adequados e as cultivares resistentes, são alguns dos métodos de controle usualmente recomendados no manejo do míldio (Amorim & Kuniyuki, 1997). Entretanto, o método de controle adotado com maior intensidade pelos produtores é a pulverização com fungicidas de contato e sistêmicos (Sonogo & Garrido, 2005), que requer várias aplicações durante o período de crescimento das brotações, podendo começar tão cedo como no estágio 17 de Eichhorn-Lorenz (escala em anexo), fase de inflorescência desenvolvida e flores separadas (Madden et al., 2000).

No mercado, está disponível uma diversidade de princípios ativos para o controle do míldio da videira, porém, apesar de sua eficiência, a utilização de alguns desses princípios ativos apresenta algumas restrições, tais como risco de seleção de populações resistentes dos patógenos aos fungicidas sistêmicos, contaminação ambiental, intoxicação dos agricultores e alto custo, entre outros.

Atualmente, o processo produtivo agrícola sofre pressão da sociedade pela produção de alimentos de forma sustentável e sem resíduos (Stadinik & Talamini, 2004). Por essa razão, existe uma busca contínua por alternativas que sejam capazes de auxiliar no controle de doenças, mas que não representem risco ao homem e meio ambiente.

### **2.3 O fenômeno da indução de resistência**

Uma nova tecnologia para o controle de doenças de plantas é baseada na ativação do sistema próprio de defesa da planta com a aplicação de moléculas sintéticas de baixo peso molecular. Esta ativação pode ser realizada por uma série de substâncias, evitando ou atrasando a entrada ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos (Athayde Sobrinho et al., 2005; Nojosa et al., 2005).

Vários agentes podem induzir a produção de “sinais” no tecido vegetal, disparando reações para proteção contra fitopatógenos. A percepção do sinal se dá quando moléculas do agente indutor se ligam a moléculas receptoras situadas, provavelmente na membrana plasmática da célula vegetal. Essas reações desencadeiam a ativação de vários mecanismos de defesa da planta (Resende et al., 2002).

Compostos como ácido salicílico (AS), ácido 2,6-dichloroiso-nicotínico (INA) e acibenzolar S- metil (ASM) são capazes de induzir resistência sistêmica adquirida (SAR) em várias espécies de planta contra um amplo espectro de patógenos (Sticher et al., 1997).

Geralmente, a indução de resistência ocorre pela ativação de genes que codificam uma série de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) e enzimas envolvidas na síntese de fitoalexinas e lignina (Vidhyasekaran, 1988). As PRPs abrangem famílias de proteínas com estruturas e funções variadas (quitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases, lisozimas, peroxidases e osmotinas, dentre outras), mas com o fato em comum de estarem todas relacionadas aos processos de defesa durante a patogênese apresentando dessa forma, potencial para serem exploradas nos programas de indução de proteção em plantas (Loon & Strien, 1999). A quantificação dessas enzimas em diferentes épocas após a pulverização do provável eliciador seria uma das formas de se inferir sobre o efeito indutor de

resistência, o que, certamente, tem importância na busca por tecnologias mais limpas.

#### 2.4 Fosfitos no controle de doenças de plantas

Um grupo de produtos que têm demonstrado eficácia no controle de doenças de plantas é o dos fosfitos, compostos derivados do ácido fosforoso (Wicks et al., 1991; Reuveni, 1998), cuja ação se deve, aparentemente, à ativação do sistema natural de defesa da planta e à atividade antifúngica sobre o hospedeiro (Smillie et al., 1989).

O fosfito de potássio é utilizado para o controle de doenças em uma ampla gama de plantas, tanto herbáceas quanto arbóreas e também já demonstrou eficiência contra fungos causadores de podridões do colo, raiz, tronco e frutos (McDonald et al., 2001) (Figura 1).

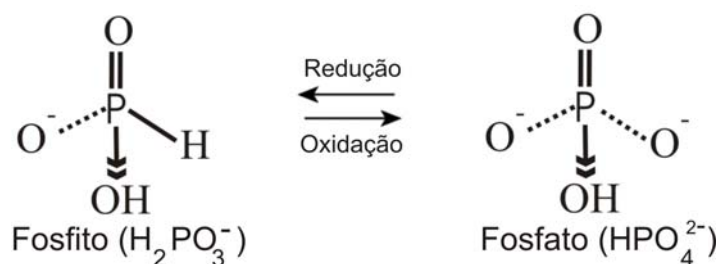


FIGURA 1 Comparação entre a molécula de fosfito (ácido fosforoso) e de fosfato (ácido fosfórico).

Fosfitos têm sido utilizados no controle de várias doenças de frutíferas de clima temperado (Reuveni et al., 1997; Sonogo & Garrido, 2005), apesar do seu modo de ação não ter sido elucidado com exatidão (Boneti & Katsurayama, 2002; Reuveni et al., 1993). Alguns trabalhos demonstraram que os fosfitos

apresentam efeito fungicida, atuando diretamente sobre fungos (Fenn & Coffey, 1984), enquanto outros afirmam que têm a propriedade de estimular a formação de substâncias naturais de autodefesa da planta, protegendo-a do ataque de fungos (Dercks & Creasy, 1989). Neste caso, os fosfitos estimulariam a produção de substâncias de defesa naturais, como as fitoalexinas, quando infectadas por algum patógeno. Os fosfitos têm sido aplicados com êxito no controle de míldio da videira (Dalbó & Schuck, 2003), inclusive com resultados similares aos fungicidas (Sonego & Garrido, 2005).

Nojosa et al. (2009) observaram que o acibenzolar-S-metil (ASM 0,2g/L) e o fosfito de potássio (10 mL/L) inibiram o crescimento micelial de *Phoma costarricensis* em 56,23% e 62,26%, respectivamente. Observaram, ainda, que ASM (0,1g/L) e fosfito de potássio, nas dosagens 2,5 mL/L e 5,0 mL/L, reduziram a severidade e a área abaixo da curva de progresso da doença em mudas de cafeeiro em 80,00%, 60,06% e 63,18%, respectivamente, sendo esses percentuais superiores ao observado em plantas tratadas com o fungicida tebuconazole.

Dessa forma, os fosfitos apresentam enorme potencial para o controle de doenças em diversos patossistemas, pois, além de atuarem diretamente nos patógenos, podem induzir respostas de defesa nos hospedeiros.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, D. R. **Indução de resistência em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* por eliciadores abióticos e extratos vegetais**. 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da videira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 736-757.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; FERREIRA, P. T. O.; CAVALCANTI, L. S. C. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 51-80.
- BONETI, J. I.; KATSURAYAMA, Y. Viabilidade do uso de fosfitos no manejo das doenças de macieira. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 5., 2002, Fraiburgo. **Anais...** Fraiburgo: EPAGRI, 2002. v. 5, p. 125-139.
- CAMARGO, U. A. **Porta-enxertos e cultivares de videira**. Embrapa Uva e Vinho. Disponível em <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/sprod/viticultura>>. Acesso em: 01 jul. 2009.
- CHAMPAGNOL, F. **Eléments de physiologie de la vigne et de viticulture générale**. Montpellier: Imprimerie Déhan, 1984. 351 p.
- CHAVARRIA, G. A.; SANTOS, H. P.; SÔNEGO, O. R.; MARODIN, G. A. B.; BERGAMASCHI, H.; CARDOSO, L. S. Incidência de doenças e necessidade de controle em cultivo protegido de videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jabotical, v. 29, n. 3, p. 477-482, 2007.
- COHEN, Y. Induced resistance against fungal diseases by aminobutyric acids. In: LYR, H.; RUSSEL, P. E.; SISLER, H. D. (Ed.). **Modern fungicides and antifungal compounds**. Andover: Intercept, 1996. p. 461-466.
- DALBÓ, M. A.; SCHUCK, E. Avaliação do uso de fosfitos para o controle do míldio da videira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 16, n. 3, p. 33-36, 2003.

DERCKES, W.; CREASY, L. L. Influence of foseetyl: al on phytoalexin accumulation in the *Plasmopara viticola* grapevine interaction. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 34, p. 203-213, 1989.

FENN, F. E.; COFFEY, M. D. Studies on the in vitro and in vivo antifungal activity of Foseethyl-Al and Phosphorous Acid. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 74, p. 606- 611, 1984.

GALET, P. **Les maladies et les parasites de la vigne**. Montpellier: Paysan du Midi, 1977. 871 p.

GALLOTTI, J. M. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. **Doenças fúngicas da videira e seu controle no estado de Santa Catarina**. Florianópolis: EMPASC, 1990. 46 p. (EMPASC. Boletim Técnico, 51).

GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R.; GOMES, V. N. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 322-324, 2004.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SÔNEGO, O. R. **Principais doenças fúngicas da videira no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa CNPUV, 1993. 36 p. (Embrapa CNPUV. Circular Técnica, 17).

HAMMERSCHMIDT, D.; KUC, J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 20, n. 1, p. 61-71, 1982.

LOON, L. C. van; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453-483, 1998.

LOON, L. C. van; STRIEN, E. A. van. The families of patogenesis-related proteins, their activities and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, n. 3, p. 85-97, 1999.

MADDEN, L. V.; ELLIS, M. A.; LALANCETTE, N.; HUGHES, G.; WILSON, L. L. Evaluation of disease warning system for downy mildew of grapes. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 25, p. 549-554, 2000.

MAGAREY, P. A.; WACHTEL, M. F.; WICKS, T. J. Downy mildew a major disease. **The Australian Grapegrower & Winemaker**, Pensilvânia, v. 321, p. 19-23, 1990.

MCDONALD, A. E.; GRANT, B. R.; PLAXTON, W. C. Phosphite phosphorous acid: its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, n. 10, p. 1505-1519, 2001.

MELO, G. W. B.; BRUNETTO, G.; NACHTIGAL, J. C.; MAIA, J. D. G.; GARRIDO, L. R.; ANTONIOLLI, L. R.; PALADINI, A.; CONCEIÇÃO, M. A. F.; BOTTON, M.; SONEGO, O. R.; SOUZA, R. T.; NAVES, R. L.; CAMARGO, U. A. **Sistema de produção de uva de mesa do norte de Minas Gerais**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/MesaNorteMinas>>. Acesso em: 07 mar. 2007.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; BARGUIL, B. M.; MORAES, S. R. G.; VILAS BOAS, C. H. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 35, n. 1, p. 60-62, 2009.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 139-153.

PEARSON, R. G.; GOHEEN, A. C. **Compendium of grape diseases**. Minnesota: APS, 1988. 93 p.

RESENDE, M. L. V.; BARGUIL, B. M.; RESENDE, R. S.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; SALGADO, S. M. L. Induction of resistance against *phoma costaricensis* on coffee leaves by extracts from citrus pulp and coffee leaves and husks. In: THE INTERNATIONAL JOINT WORKSHOP ON PR-PROTEINS AND INDUCED RESISTANCE, 2004, Helsingor. **Proceedings...**Helsingor, 2004. p. 79.

RESENDE, M. L. V.; BARRETI, P. B.; DIAS, W. P. Percepção, transdução e tradução de sinais para respostas de defesa contra patógenos em plantas. In: SIMPÓSIO DE BIOLOGIA MOLECULAR DA RESISTÊNCIA DE PLANTAS A PATÓGENOS: aplicações no manejo integrado de fitodoenças, 1., 2002, Lavras. **Palestras expandidas...** Lavras: UFLA, 2002. p. 9-35.

REUVENI, M. Post-infection applications of K<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>, phosphorous acid and dimethomorph inhibit development of downy mildew caused by *Plasmopara viticola* on grapes. **Journal of Small Fruit & Viticulture**, Binghamton, v. 5, n. 2, p. 27-38, 1997.

REUVENI, M. Relationship between leaf age, peroxidase and  $\beta$ -1,3-glucanase activity, and resistance to downy mildew in grapevines. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 146, n. 10, p. 525-530, June 1998.

REUVENI, M.; NAOR, A.; REUVENI, R.; SHIMONI, M.; BRAVDO, B. The influence of NPK fertilization rates on susceptibility to powdery mildew of field-grown wine grapes. **Journal of Small Fruit & Viticulture**, Binghamton, v. 2, n. 1, p. 31-41, 1993.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv. merlot para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 156-161, dez. 2003.

RONZON, C. **Modelization du comportement epidemique du mildiou de la vigne: etude du role de la phase sexue de *Plasmopara viticola***. 1987. 119 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universite de Bordeaux II, Bordeaux.

ROSA, R. C. T.; COELHO, R. S. B.; TAVARES, S. C. C. de H.; CAVALCANTI, V. A. L. B. Efeito de indutores no controle de míldio em *Vitis labrusca*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 68-73, mar. 2007.

SANTOS, F. da S.; SOUZA, P. E.; RESENDE, M. L. V.; POZZA, E. A.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; MIRANDA, J. C.; MANERBA, F. C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 59-63, fev. 2007.

SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp in plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, n. 9, p. 921-926, Sept. 1989.



SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R. **Avaliação da eficácia de algumas marcas comerciais de fosfito de potássio e de fosfonato de potássio no controle do míldio da videira.** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 13 p. (Circular Técnica, 60).

STADINIK, M. J.; TALAMINI, V. (Ed.). **Manejo ecológico de doenças de plantas.** Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. 293 p.

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 240-245, 1992.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35 p. 235-270, 1997.

UNIÃO BRASILEIRA DE VITIVINICULTURA. **Dados estatísticos.** Disponível em <[http://www.uvibra.com.br/dados\\_estatisticos.htm](http://www.uvibra.com.br/dados_estatisticos.htm)>. Acesso em: 07 mar. 2007.

VIDHYASEKARAN, P. Lignin and disease resistance. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Physiology of disease resistance in plants.** Boca Raton: CRC, 1988. v. 2, p. 121-135.

WICKS, T. J.; MAGAREY, P. A.; WACHTEL, M. F.; FRENHAM, A. B. Effect of postinfection of Phosphorous (Phosphonic) Acid on the Incidence and Sporulation of *Plasmopara viticola* on Grapevine. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, p. 40-43, 1991.

## **CAPÍTULO 2**

### **PRODUTOS ALTERNATIVOS NA PROTEÇÃO DA VIDEIRA CONTRA O MÍLDIO**

## **RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo avaliar produtos alternativos, a base de extratos vegetais, manano-oligossacarídeos fosforilados, fosfitos e acibenzolar-S-metil na proteção da videira contra o míldio, bem como a influência destes na qualidade de uvas da cultivar Merlot. Os experimentos foram conduzidos nas safras 2007/2008 e 2008/2009. Foram avaliadas a intensidade do míldio em folhas e cachos e características analíticas das bagas. Os fosfitos testados em cachos e plantas proporcionaram proteção do míldio da videira semelhante ao tratamento com fungicidas. Os tratamentos baseados em manano-oligossacarídeos fosforilados, acibenzolar-S-metil e extratos vegetais não apresentaram controle eficiente do míldio. Os produtos testados não influenciaram na qualidade analítica das bagas.

## **ABSTRACT**

This study was aimed at to evaluate alternative products based on plant extracts, phosphorylated mannanoligosaccharides, phosphites and acibenzolar-S-methyl for the protection of vine against downy mildew, and the influence of these treatments on the quality of grapes, cultivar Merlot. The experiments were conducted in 2007/2008 and 2008/2009 seasons. Was evaluated the intensity of downy mildew on leaves and bunches of grapes and analytical characteristics of the berries. The phosphites tested on bunches and plants provided protection against mildew similar to treatment with fungicides. The treatments based on phosphorylated mannanoligosaccharides, acibenzolar-S-methyl and plant extracts showed no effective control of downy mildew. The tested compounds did not influence the analytical quality of the berries.

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as doenças fúngicas de maior importância para os vinhedos, o míldio, cujo agente etiológico é *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt) Berl. & de Toni, é o responsável pelos maiores danos para a viticultura no Brasil, assim como em outras regiões vitícolas do mundo, com elevada precipitação durante o desenvolvimento vegetativo da planta (Garrido et al., 2004). As perdas com o míldio podem atingir 100% da produção de um vinhedo, tornando-se uma das maiores restrições à produção e à qualidade de uvas (Madden et al., 2000).

A pulverização com fungicidas e a utilização de cultivares resistentes, quando disponíveis, são alguns dos métodos usualmente recomendados no manejo do míldio (Amorim & Kuniyuki, 2005). Entretanto, o método de controle adotado com maior intensidade pelos produtores é a pulverização com fungicidas de contato e sistêmicos (Sonego & Garrido, 2005), requerendo a aplicação destes diversas vezes durante o ciclo de crescimento e produção da videira (Madden et al., 2000).

Atualmente, o sistema de produção agrícola sofre pressão da sociedade pela produção de alimentos de forma sustentável e sem resíduos químicos, havendo uma busca contínua por alternativas que sejam capazes de auxiliar no controle de doenças, mas que não representem risco ao homem e ao meio ambiente. Diante disso, uma nova tecnologia para o controle de doenças de plantas é baseada na ativação do próprio sistema de defesa da planta, por meio da aplicação de moléculas eliciadoras sintéticas, extratos naturais, nutrientes ou até mesmo, componentes da parede celular de fungos e bactérias.

Compostos como o ácido salicílico (AS) e o acibenzolar-S-metil (ASM) são capazes de induzir resistência sistêmica adquirida (SAR) em várias espécies de plantas contra um amplo espectro de patógenos, como vírus, bactérias e fungos (Sticher et al., 1997).

Outra forma de controle de doenças de plantas pode ser obtida por meio da utilização de formulações à base de extratos vegetais, como, por exemplo, extratos de casca de café e de folhas de café infectadas com ferrugem (EFID) que proporcionaram significativa proteção de mudas de café contra os patógenos *Phoma costarricensis* e *Cercospora coffeicola* (Resende et al., 2004; Amaral, 2005). Santos et al. (2007) observaram que o EFID reduziu a incidência da ferrugem, da cercosporiose e da mancha-de-phoma em relação aos percentuais de doença observados nas testemunhas pulverizadas com Viça-café®.

Produtos contendo nutrientes como os fosfitos vêm sendo utilizados no controle de doenças de plantas, inclusive de frutíferas de clima temperado (Reuveni et al., 1993; Sonogo & Garrido, 2005). Em videira, mostraram-se eficiente no controle de míldio (Dalbó & Schuck, 2003), inclusive com resultados similares aos fungicidas (Sonogo & Garrido, 2005). Apesar do modo de ação dos fosfitos não ter sido elucidado com exatidão, alguns trabalhos demonstraram que eles agem diretamente sobre o patógeno e indiretamente, induzindo respostas de defesa na planta, como fitoalexinas, compostos fenólicos em geral e proteínas relacionadas à patogênese (Fenn & Coffey, 1984; Derk & Creasy, 1989; Jacson et al., 2000; Nojosa et al., 2005; Daniel & Guest, 2006).

Produtos derivados de microrganismos também têm sido utilizados no controle de doenças de plantas, como o Agro-Mos®, à base de manano-oligossacarídeos fosforilados, proveniente da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, biocomplexados com cobre, enxofre e zinco. Dantas et al. (2004) avaliaram o potencial do ASM e do Agro-Mos® na proteção de frutos de mamão contra podridões (antracnose, podridão-de-lasiodiplodia e podridão-de-fusarium) e observaram que os dois indutores foram eficazes no controle dessas doenças. Já Costa (2008) verificou que o Agro-Mos® apresentou efeito na redução da incidência da vassoura-de-bruxa, em mudas de cacau, similar ao fungicida cúprico Recop®. Rosa et al. (2007) observaram que o Agro-Mos®, em mistura

com alguns fertilizantes, foi capaz de reduzir a severidade do míldio em videiras da cultivar Isabel.

Dessa forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar produtos alternativos, à base de extratos vegetais, manano-oligossacarídeos fosforilados, fosfitos e ASM, na proteção da videira contra o míldio, bem como a influência deles na qualidade de uvas da cultivar Merlot.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos, um em cada safra (2007/2008 e 2008/2009), no Núcleo Tecnológico Epamig Uva e Vinho em Caldas, MG, utilizando-se produtos naturais e químicos obtidos de acordo com a metodologia descrita a seguir.

Para a obtenção dos extratos de folhas de café infectadas com ferrugem (EFID), folhas de café, contaminadas com *Hemileia vastatrix*, coletadas da superfície do solo de lavoura cafeeira, foram inicialmente desidratadas em estufa, a 60°C, por 48 horas e moídas até a obtenção de um pó bem fino. Posteriormente, 100 gramas desse pó foram misturados com 1.000 mL de água destilada e fervidos, por 2 horas, em refluxo. Em seguida, a suspensão foi filtrada em peneira de 400 meshes. O extrato obtido foi armazenado em freezer, a -20°C, até o momento das pulverizações.

Para a obtenção do extrato de casca de uva (ECU), foram utilizadas cascas de bagas de uvas sadias e doentes, ao final da colheita, desidratadas em estufa ventilada por 72 horas, a 60°C. Após a desidratação, as cascas foram moídas até a obtenção de um pó bem fino. Em seguida, 100 gramas de cascas moídas foram misturadas com 1.000 mL de água destilada e fervidas por 2 horas, em refluxo. A seguir, a suspensão foi filtrada, em peneira de 400 meshes, e o extrato obtido ao final do processo foi armazenado em freezer, a -20°C, até o momento das pulverizações.

O Agro-Mos<sup>®</sup>, cuja formulação inclui manano-oligossacarídeos fosforilados provenientes da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* e biocomplexado com 35g L<sup>-1</sup> de Cu, 27,5 g L<sup>-1</sup> de S e 25g L<sup>-1</sup> de Zn, foi adquirido junto à Improcrop do Brasil Ltda.

Empregou-se também o fosfito de cobre Fulland<sup>®</sup>, contendo em sua formulação de 53,6g L<sup>-1</sup> de Cu e 268g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, adquirido da Sudoeste



Agropecus Indústria e Comércio Ltda. Foram utilizados também fosfitos de potássio, Reforce® (240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e Reforce®+ AS (240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 5% de ácido salicílico), da Agrichem do Brasil Ltda.; Nutri Phite® (403,26 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 434,28 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), da Iharabras S.A. e Pepfós® (280 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 420g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), da Pepita Fertilizantes Ltda.

Foi utilizado também o Bion® (50% de acibenzolar-S-metil) da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda., o AS (ácido salicílico P.A.) da Merck, além do tratamento padrão recomendado pela Epamig, com fungicidas aplicados de forma alternada, Cabrio Top® (metiram 550 g kg<sup>-1</sup> e piraclostrobina 50 g kg<sup>-1</sup>), da Basf S.A, Daconil® (cloratalonil 500 g L<sup>-1</sup>) e Ridomil® (metalaxil-M 40 g kg<sup>-1</sup> e mancozeb 640 g kg<sup>-1</sup>), da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.

Para verificar o efeito desses produtos no controle do míldio foi utilizado a cultivar *Vitis vinifera* Merlot (Clone 343), com cinco anos de idade, enxertada sobre o porta-enxerto 1103 Paulsen, plantada em espaçamento de 2,5 x 1,5 m e conduzida em espaldeira com três fios de arame. As plantas foram conduzidas em duplo cordão esporonado (sistema Royat) e podadas com poda curta (duas gemas), permanecendo com 20 a 22 gemas, totalizando de 50 a 55 mil gemas por hectare.

O primeiro experimento (safra 2007/2008) foi conduzido no período de 27/11/2007 a 17/02/2008, utilizando-se Agro-Mos® (3 mL L<sup>-1</sup>), Fulland® (5 mL L<sup>-1</sup>), Reforce® (6 mL L<sup>-1</sup>), Reforce® + AS (6 mL L<sup>-1</sup>), Pepfós® (6 mL L<sup>-1</sup>), ácido salicílico (0,3 g L<sup>-1</sup>), EFID, ECU, os fungicidas Cabrio Top® (2g L<sup>-1</sup>), Daconil® (2g L<sup>-1</sup>) e Ridomil® (2,5g L<sup>-1</sup>) e uma testemunha sem pulverização.

As pulverizações foram realizadas a partir das brotações das videiras, em intervalos semanais, totalizando doze aplicações, realizadas com pulverizador costal manual até o ponto de escorrimento. Foram adicionados à calda de pulverização 0,05% de óleo mineral e o volume da mesma variou de

acordo com o estágio de desenvolvimento da planta. Os fungicidas foram aplicados de forma alternada.

A incidência e a severidade do míldio foram avaliadas nas folhas, quinzenalmente, após o início dos primeiros sintomas. Para tanto, foi utilizada a escala de notas proposta por Azevedo (1997), com algumas alterações. A severidade do míldio foi avaliada em toda a planta, dentro da parcela útil, utilizando-se uma escala com notas variando de “0” (ausência de doença) a “5” (mais de 50% do total da planta com área foliar doente), totalizando quatro avaliações. A partir dessas avaliações, foram calculados os níveis de severidade e determinada a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) e da incidência (AACPID), assim como a plotagem das curvas de progresso da doença em relação ao tempo. Nos cachos, foram realizadas três avaliações de incidência do míldio. Os índices de controle do míldio foram obtidos por meio da relação  $1-x/y$ , em que  $x$  representa o índice da doença das plantas tratadas e  $y$ , o índice de doença da testemunha (Li et al., 1996).

O segundo experimento (safra 2008/2009) foi conduzido no período de 17/10/2008 a 10/02/2009, em parreiral nas mesmas condições do primeiro experimento. Para tanto, foram utilizados os melhores tratamentos obtidos no Experimento I, em duas dosagens, Reforce<sup>®</sup> (4,5 e 6 mL L<sup>-1</sup>) e Pepfós<sup>®</sup> (3 e 6 mL L<sup>-1</sup>). Além destes foram utilizados também Nutri Phite<sup>®</sup> (3 e 6 mL L<sup>-1</sup>), Bion<sup>®</sup> (0,2 e 0,4 g mL L<sup>-1</sup>), os fungicidas aplicados de forma alternada, Cabrio Top<sup>®</sup> (2g L<sup>-1</sup>), Daconil<sup>®</sup> (2 g L<sup>-1</sup>) e Ridomil<sup>®</sup> (2,5 g L<sup>-1</sup>) e uma testemunha sem pulverização. Os tratamentos foram pulverizados conforme o primeiro experimento (safra 2007/2008).

Além das avaliações fitopatológicas realizadas conforme descrito no primeiro experimento, no segundo experimento foram também realizadas avaliações de qualidade da baga, a saber: teor de sólidos solúveis totais (°Brix) pelo método de Lane-Enyon (Association of Official Analytical Chemists,

AOAC, 1990), determinados em refratômetro portátil, acidez titulável total, mensurada por meio da titulação com NaOH 0,1 N e fenolftaleína como indicador, seguindo a técnica descrita na AOAC (1990) e avaliação do pH através de pHmetro.

O delineamento experimental utilizado nos experimentos foi o de blocos casualizados com quatro repetições e a parcela experimental composta por seis plantas, com parcela experimental útil de quatro plantas centrais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o software Sisvar<sup>®</sup> e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na safra 2007/2008, as pulverizações com os fosfitos de potássio Reforce<sup>®</sup> e Pepfós<sup>®</sup> proporcionaram maior proteção contra o míldio nas folhas das videiras, com controle de 82,4% e 80%, respectivamente. Estes resultados são superiores ao obtido com o tratamento padrão com fungicidas, que proporcionou 71,2% de controle, não diferindo do Reforce<sup>®</sup> + AS, com 74,4% e nem do fosfito de cobre, Fulland<sup>®</sup>, que apresentou 64,8% de controle da doença. O Agro-Mós<sup>®</sup> apresentou controle intermediário (32%), superior aos tratamentos com ácido salicílico e EFID, que foram superiores ao ECU e à testemunha sem pulverização (Tabela 1).

Analisando-se o progresso do míldio no decorrer das avaliações (Figura 1A), observa-se que ocorreu a formação de três grupos de tratamentos, de acordo com a severidade do míldio, sendo o primeiro formado pelos fosfitos e fungicidas, com menor severidade, um segundo pelo Agro-Mos<sup>®</sup> e um terceiro grupo, composto pelos extratos vegetais, ácido salicílico e testemunha, com maior severidade do míldio nas folhas das videiras. Nesta mesma safra, observou-se que, nos cachos, os fosfitos de potássio Pepfós<sup>®</sup> e Reforce<sup>®</sup> + AS apresentaram 100% e 91,2% de controle, respectivamente, não diferindo do padrão com fungicidas cujo controle foi de 96%. Os tratamentos com Reforce<sup>®</sup> e Fulland<sup>®</sup> proporcionaram controle intermediário. Nesta safra, 2007/2008, não foi possível a realização da colheita dos cachos, devido ao precoce e intenso ataque do míldio e insetos nas bagas dos tratamentos com menor eficiência no controle dessas pragas.

TABELA 1 Efeito dos tratamentos na área abaixo da curva de progresso da severidade do míldio nas folhas (AACPS) e na incidência do míldio nos cachos de videira cv. Merlot, nas safras 2007/2008 e 2008/2009.

<b>Safra 2007/2008</b>				
<b>Tratamentos*</b>	<b>Folhas</b>		<b>Cachos</b>	
	<b>AACPS</b>	<b>Controle (%)</b>	<b>Incidência</b>	<b>Controle (%)</b>
Reforce® (6 mL L <sup>-1</sup> )	550,0 a	82,4	18,3 b	79,8
Pepfós® (6 mL L <sup>-1</sup> )	625,0 a	80,0	0,0 a	100,0
Reforce® + AS(6mL L <sup>-1</sup> )	800,0 b	74,4	7,9 a	91,2
Fungicidas	900,0 b	71,2	3,8 a	95,8
Fulland® (5 mL L <sup>-1</sup> )	1100,0 b	64,8	33,5 b	63,1
Agro-Mos® (3 mL L <sup>-1</sup> )	2137,0 c	31,6	64,0 c	28,8
AS (0,3 g L <sup>-1</sup> )	2687,5 d	14,0	80,9 c	10,9
EFID	2750,0 d	12,0	100,0 d	0,0
ECU	3012,5 e	3,6	72,0 c	20,7
Testemunha	3125,0 e	---	90,8 d	---
CV (%)	11,3		30,11	
<b>Safra 2008/2009</b>				
<b>Tratamentos</b>	<b>Folhas</b>		<b>Cachos</b>	
	<b>AACPS</b>	<b>Controle (%)</b>	<b>Incidência</b>	<b>Controle (%)</b>
Pepfós® (6 mL L <sup>-1</sup> )	1112,5 a	66,7	0 a	100,0
Fungicidas	1250,0 a	62,5	3,7 a	96,3
Reforce® (4,5 mL L <sup>-1</sup> )	1362,5 a	59,2	5,2 a	94,8
Reforce® (6,0 mL L <sup>-1</sup> )	1462,5 b	56,2	3,5 a	96,5
Nutri Phite® (6 mL L <sup>-1</sup> )	1562,5 b	53,2	1,5 a	98,5
Nutri Phite® (3 mL L <sup>-1</sup> )	1550,0 b	53,6	4,0 a	96,0
Pepfós® (3 mL L <sup>-1</sup> )	1712,5 b	48,7	12,5 a	87,5
Bion® (0,2 g L <sup>-1</sup> )	2500,0 c	25,1	61,0 b	39,0
Bion® (0,4 g L <sup>-1</sup> )	2562,5 c	23,2	62,5 b	37,5
Testemunha	3337,5 d	---	100 c	---
CV (%)	10,51		31,95	

Médias com mesma letra na coluna não diferem, pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

\*Manano-oligossacarídeo fosforilado - Agro-Mos®; fosfito de cobre - Fulland®; fosfitos de potássio - Pepfós®, Nutri Phite®, Reforce® e Reforce® + AS; acibenzolar-S-metil - Bion®; ácido salicílico - AS; extrato de folhas de cafeeiro infectadas por ferrugem - EFID; extrato de casca de uva - ECU; fungicidas - Cabrio Top®, Daconil® e Ridomil®; testemunha sem pulverização.

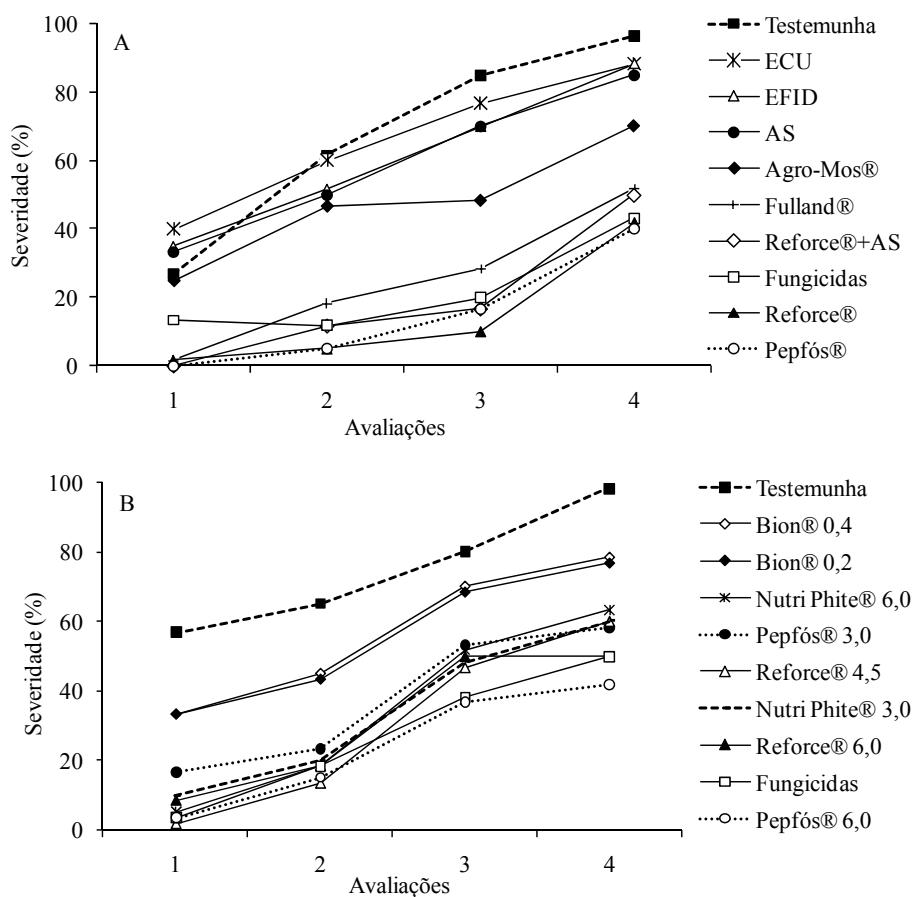


FIGURA 1 Efeito dos tratamentos no progresso da severidade do míldio da videira cultivar Merlot, nas safras 2007/2008 (A) e 2008/2009(B). As avaliações foram realizadas em intervalo de 15 dias. Tratamentos: Agro-Mos® (3 mL L<sup>-1</sup>), Fulland® (5 mL L<sup>-1</sup>), Reforce® (6 mL L<sup>-1</sup>), Reforce® + AS (6 mL L<sup>-1</sup>), Pepfós® (6 mL L<sup>-1</sup>), ácido salicílico (0,3 g L<sup>-1</sup>), EFID, ECU, fungicidas em aplicação alternada (Cabrio Top®, Daconil® e Ridomil®) e uma testemunha sem pulverização (A); e Reforce® (4,5 e 6 mL L<sup>-1</sup>) e Pepfós® (3 e 6 mL L<sup>-1</sup>), Nutri Phite® (3 e 6 mL L<sup>-1</sup>), Bion® (0,2 e 0,4 g mL L<sup>-1</sup>), fungicidas em aplicação alternada (Cabrio Top®, Daconil® e Ridomil®) e testemunha sem pulverização (B).

Para a safra 2008/2009, maior proteção contra o míldio foi proporcionada por pulverizações com Pepfós<sup>®</sup> 6 mL L<sup>-1</sup>, pelo tratamento padrão com fungicidas e por Reforce<sup>®</sup> 4,5 mL L<sup>-1</sup>, que apresentaram, respectivamente, 66,7%, 62,5% e 59,2% de controle da doença nas folhas. Esses resultados são superiores aos tratamentos com Reforce<sup>®</sup> 6 mL L<sup>-1</sup>, Nutri Phite<sup>®</sup> nas duas doses utilizadas e Pepfós<sup>®</sup> 3 mL L<sup>-1</sup> (Tabela 1 e Figura 2). Observando-se o progresso da doença no decorrer das avaliações, na safra 2008/2009, constata-se que os tratamentos com fosfitos proporcionaram menor severidade do míldio da videira (Figura 1B). Nos cachos, todos os fosfitos diferiram estatisticamente da testemunha, tendo Pepfós<sup>®</sup> e Nutri Phite<sup>®</sup>, na dosagem 6 mL L<sup>-1</sup>, apresentado 100% e 98,5% de controle da doença, respectivamente. É possível notar que os fosfitos que apresentaram maior controle da doença nos cachos apresentam maiores dosagens de K<sub>2</sub>O e P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, nas suas formulações.



FIGURA 2 Efeito dos tratamentos na proteção da videira contra o míldio na safra 2008/2009. Tratamentos: Testemunha (A), Pepfós<sup>®</sup> 6 mL L<sup>-1</sup> (B), padrão com fungicidas (Cabrio Top<sup>®</sup>, Daconil<sup>®</sup> e Ridomil<sup>®</sup>) (C), Nutri Phite<sup>®</sup> 6 mL L<sup>-1</sup> (D), Reforce<sup>®</sup> 4,5 mL L<sup>-1</sup> (E) e Bion<sup>®</sup> 0,4 g L<sup>-1</sup> (F).



Para a qualidade analítica das bagas, não se verificou efeito significativo dos tratamentos nos teores de sólidos solúveis totais, nem no pH. Entretanto, todos os tratamentos proporcionaram menor acidez titulável total que a testemunha (Tabela 3), provavelmente pelo fato de terem apresentado menores índices de doença nos cachos.

TABELA 3 Efeito dos tratamentos nas características analíticas de bagas da cultivar Merlot, na safra 2008/09.

Tratamento	SST <sup>1</sup>	ATT <sup>2</sup> (meq.L <sup>-1</sup> )	pH
Testemunha	17,2 a	145,6 a	3,3 a
Pepfós <sup>®</sup> (3 mL L <sup>-1</sup> )	16,5 a	121,9 b	3,2 a
Bion <sup>®</sup> (0,4 g L <sup>-1</sup> )	16,4 a	128,4 b	3,2 a
Bion <sup>®</sup> (0,2 g L <sup>-1</sup> )	16,2 a	127,5 b	3,2 a
Reforce <sup>®</sup> (6,0 mL L <sup>-1</sup> )	16,1 a	120,0 b	3,3 a
Nutri Phite <sup>®</sup> (6 mL L <sup>-1</sup> )	15,9 a	118,1 b	3,2 a
Reforce <sup>®</sup> (4,5 mL L <sup>-1</sup> )	15,9 a	123,1 b	3,2 a
Pepfós <sup>®</sup> (6 mL L <sup>-1</sup> )	15,9 a	121,3 b	3,3 a
Nutri Phite <sup>®</sup> (3 mL L <sup>-1</sup> )	15,8 a	119,4 b	3,2 a
Fungicidas	15,5 a	124,4 b	3,2 a
CV (%)	3,45	6,31	1,30

Médias com mesma letra na coluna não diferem, pelo teste de Scott-Knott (P≤0,05).

\*Fosfitos de potássio - Pepfós<sup>®</sup>, Nutri Phite<sup>®</sup> e Reforce<sup>®</sup>; Acibenzolar-S-metil - Bion<sup>®</sup>; fungicidas - Cabrio Top<sup>®</sup>, Daconil<sup>®</sup> e Ridomil<sup>®</sup>; testemunha sem pulverização.

<sup>1</sup> SST - sólidos solúveis totais (°Brix);

<sup>2</sup> ATT - acidez titulável total.

No presente trabalho, os fosfitos proporcionaram, em média, maior proteção das videiras contra o míldio, tanto nas folhas como nos cachos. Resultados semelhantes foram observados por Peruch et al. (2007) que, ao utilizarem o fosfito de potássio, verificaram redução de 71% da área abaixo da curva de progresso do míldio em folhas de videira na região de Urussanga, SC. Sônego et al. (2003) observaram, na safra 1997/1998, em Bento Gonçalves, RS, controle do míldio proporcionado por fosfito de potássio, na cultivar Cabernet

Sauvignon, de 97% em folhas e em cachos, superior ao desempenho do fungicida cymoxanil + maneb.

Alguns autores demonstraram que produtos alternativos, como Agro-Mos<sup>®</sup> e extratos de alga e biomassa cítrica, apresentaram baixa eficiência no controle do míldio da videira (Rosa et al., 2007; Peruch et al., 2007). Em trabalhos com outros patógenos, como *Alternaria solani*, do tomateiro e *Peronospora destructor* (míldio), da cebola, também foram obtidas baixas porcentagens de controle, 38,5% e 30,1%, respectivamente (Töfoli & Domingues, 2005; Wordell Filho et al., 2007). No presente trabalho, os tratamentos com extratos vegetais, EFID e ECU, Bion<sup>®</sup> e ácido salicílico proporcionaram menores eficiências no controle do míldio da videira, tanto para folhas quanto para cachos, apresentando índices de doença inferiores apenas à testemunha, enquanto os fosfitos proporcionaram controle semelhante ao dos fungicidas. Esse efeito ocorreu, provavelmente, pelo fato de os fosfitos, além de ativarem o sistema de defesa das plantas, atuarem diretamente no patógeno, o que não ocorre com o indutor de resistência Bion<sup>®</sup> (Cole, 2005).

A qualidade do mosto e das bagas está relacionada, entre outros fatores, ao grau de enfolhamento das plantas, ao total de cachos e à influência da quantidade de chuva e doenças (Càstino, 1992). Segundo Rizzon & Miele, (2003), o mosto para a cultivar Merlot, pronto para vinificação, deve apresentar teores de 18,4°Brix, acidez total de 104 meq L<sup>-1</sup> e pH 3,21. Os tratamentos não influenciaram a qualidade das bagas, embora as análises tenham sido realizadas antes da época correta de colheita e os valores de °Brix estarem pouco abaixo do nível ideal. Regina et al. (2006) mencionam que as cultivares tintas podem apresentar maiores dificuldades em atingir um ponto ideal de maturação, em condições de verão chuvoso como o ocorrido neste experimento, na safra 2008/2009.

Em geral, os fosfitos proporcionaram proteção do míldio da videira, cultivar Merlot, semelhante ao tratamento com fungicidas. Mais estudos devem ser realizados para a elucidação do modo de ação dos fosfitos contra o míldio e também contra outras doenças da videira, incluindo a quantificação de fitoalexinas, compostos fenólicos e enzimas relacionadas com a defesa da videira, induzidas por fosfitos. Trabalhos também poderiam ser realizados com o uso dos fosfitos em mistura ou em alternância com fungicidas, visando reduzir o impacto ambiental derivado da utilização desses pesticidas.

#### 4 CONCLUSÃO

Os fosfitos, Pepfós<sup>®</sup>, Reforce<sup>®</sup> e Nutri Phite<sup>®</sup>, controlam o míldio em folhas e cachos de videira, similarmente ao tratamento com fungicidas.

Nas duas safras, 2007/2008 e 2008/2009, o fosfito de potássio Pepfós<sup>®</sup>, na dose de 6 mL L<sup>-1</sup>, proporcionou maior proteção da videira contra o míldio. No primeiro ano, não diferiu estatisticamente do tratamento com Reforce<sup>®</sup>, na dose de 6 mL L<sup>-1</sup> e, no segundo ano, não diferiu dos tratamentos fungicida e Reforce<sup>®</sup> na dose de 4,5 mL L<sup>-1</sup>.

Agro-Mós<sup>®</sup> (manano-oligossacarídeo fosforilado), EFID (extrato de folha de cafeeiro com ferrugem), ECU (extrato de casca de uva) e Bion<sup>®</sup> (acibenzolar-S-metil) não apresentaram boa eficiência na proteção da videira contra o míldio.

Os produtos testados não influenciaram a qualidade das bagas.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, D. R. **Indução de resistência em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* por eliciadores abióticos e extratos vegetais.** 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da videira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas.** 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2., p. 639-651.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 15. ed. Washington, 1990. 2 v.
- AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas.** São Paulo: Ciba Agro e Novartis, 1997. 114 p.
- CÀSTINO, M. La qualità dell'uva. **Vini d'Italia**, Roma, v. 34, n. 5, p. 23-40, 1992.
- COLE, D. L. The efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal diseases of tobacco. **Crop Protection**, Guildford, v. 18, p. 267-273, 2005.
- COSTA, J. C. B. Novos indutores de resistência no manejo da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cacauieiro (*Theobroma cacao* L.). 2008. 84 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- DALBÓ, M. A.; SCHUCK, E. Avaliação do uso de fosfitos para o controle do míldio da videira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 16, n. 3, p. 33-36, 2003.
- DANIEL, R.; GUEST, D. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 67, n. 3/5, p. 194-201, Sept./Dec. 2006.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R. S. B. C.; SILVA, R. L. X. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 30, p. 314-319, 2004.

DERCKX, W.; CREASY, L. L. Influence of foseetyl: al on phytoalexin accumulation in the *Plasmopara viticola* grapevine interaction. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 34, p. 203-213, 1989.

FENN, F. E.; COFFEY, M. D. Studies on the in vitro and in vivo antifungal activity of Foseetyl-Al and Phosphorous Acid. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 74, p. 606- 611, 1984.

GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R.; GOMES, V. N. Fungos associados com o declínio e morte de videiras no estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 322-324, 2004.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. T. J. Action of the fungicide phosphonate on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology: a record of current work on plant diseases and pest in British Isles**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 147-154, Feb. 2000.

LI, J.; ZINGEN-SELL, I.; BUCHENAUER, H. Induction of resistance of cotton plants to *Verticillium* wilt and of tomato plants to *Fusarium* wilt by b-aminobutyric acid and methyl jasmonate. **Journal of Plant Diseases and Plant Protection**, Stuttgart, v. 103, p. 288- 299, 1996.

MADDEN, L. V.; ELLIS, M. A.; LALANCETTE, N.; HUGHES, G.; WILSON, L. L. Evaluation of disease warning system for downy mildew of grapes. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 25, p. 549-554, 2000.

MAGAREY, P. A.; WACHTEL, M. F.; WICKS, T. J. Downy mildew a major disease. **The Australian Grapegrower & Winemaker**, Pensilvânia, v. 321, p. 19-23, 1990.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 139-153.

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

REGINA, M. A.; SOUZA, C. M.; AMORIM, D. A.; FÁVERO, A. C.; PEREIRA, G. E. Avaliação de híbridos de videira destinados à elaboração de vinhos brancos em Caldas, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 28, n. 2, p. 262-266, 2006.

RESENDE, M. L. V.; BARGUIL, B. M.; RESENDE, R. S.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; SALGADO, S. M. L. Induction of resistance against *phoma costarricensis* on coffee leaves by extracts from citrus pulp and coffee leaves and husks. In: THE INTERNATIONAL JOINT WORKSHOP ON PR-PROTEINS AND INDUCED RESISTANCE, 2004, Helsingor. **Proceedings...Helsingor**, 2004. p. 79.

REUVENI, M.; NAOR, A.; REUVENI, R.; SHIMONI, M.; BRAVDO, B. The influence of NPK fertilization rates on susceptibility to powdery mildew of field-grown wine grapes. **Journal of Small Fruit & Viticulture**, Binghamton, v. 2, n. 1, p. 31-41, 1993.

RIZZON, L. A.; MIELE, A. Avaliação da cv. merlot para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 156-161, dez. 2003.

ROSA, R. C. T.; COELHO, R. S. B.; TAVARES, S. C. C. de H.; CAVALCANTI, V. A. L. B. Efeito de indutores no controle de míldio em *Vitis labrusca*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 68-73, mar. 2007.

SANTOS, F. da S.; SOUZA, P. E.; RESENDE, M. L. V.; POZZA, E. A.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; MIRANDA, J. C.; MANERBA, F. C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 59-63, fev. 2007.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R. **Avaliação da eficácia de algumas marcas comerciais de fosfito de potássio e de fosfonato de potássio no controle do míldio da videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 13 p. (Circular Técnica, 60).

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R.; CZERMAINSKI, A. B. C. **Avaliação de fosfitos no controle do mildio da videira**. Bento Gonçalves: Embrapa CNPQU, 2003. 18 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 11).

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35 p. 235-270, 1997.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Controle da pinta preta do tomateiro com o uso de acibenzolar-s-metil isolado em mistura com fungicidas e em programas de aplicação. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 481-487, out./dez. 2005.

WORDELL FILHO, J. A.; MARTINS, D. A.; STADNIK, M. J. Aplicação foliar de tratamentos para o controle do mildio e da podridão-de-escamas de bulbos de cebola. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 544-549, out./dez. 2007.



### **CAPÍTULO 3**

#### **MODO DE AÇÃO DE FOSFITOS E ACIBENZOLAR-S-METIL NA PROTEÇÃO DA VIDEIRA CONTRA O MÍLDIO**

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar fosfitos de potássio e o indutor de resistência Bion<sup>®</sup> quanto à capacidade de proteção, efeito tóxico direto e de indução de respostas de defesa em videira. Mudanças de videira com três meses de idade foram pulverizadas com Pepfós<sup>®</sup> (6 mL L<sup>-1</sup>), Reforce<sup>®</sup> (4,5 mL L<sup>-1</sup>), Reforce<sup>®</sup> (6,0 mL L<sup>-1</sup>), e acibenzolar-S-metil (0,2 g L<sup>-1</sup>), além de testemunhas pulverizadas com água, e sete dias após, foram inoculadas com suspensão de esporângios de *Plasmopara viticola* e mantidas em casa de vegetação. Foi avaliada a incidência da doença nas folhas, a atividade fungitóxica desses produtos na germinação de esporângios e a atividade de proteínas relacionadas à patogênese. Os fosfitos proporcionaram menor incidência da doença nas folhas de videira, além de apresentarem toxidez direta, inibindo a germinação de esporângios. Maiores atividades de peroxidase, polifenoloxidase e quitinase foram detectadas após a aplicação de fosfitos; em geral, estes não propiciaram aumento no teor de lignina. O Bion<sup>®</sup> não foi eficaz no controle do míldio nas folhas e na inibição da germinação de esporângios, porém, proporcionou aumento na atividade de peroxidase e promoveu acúmulo de lignina.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate potassium phosphites and resistance inducer Bion® to expect protection, direct toxic effect and induction of defense responses in grapevine. Seedlings of grapevine with three months of age were sprayed with Pepfós® (6 mL L<sup>-1</sup>), Reforce® (4.5 mL L<sup>-1</sup>), Reforce® (6.0 mL L<sup>-1</sup>), and acibenzolar-S-methyl (0.2 g L<sup>-1</sup>), and witnesses sprayed with water, and after seven days, were inoculated with a suspension of sporangia of *Plasmopara viticola* and kept in a greenhouse. We evaluated the incidence of the disease on the leaves, the fungitoxic activity of these products in the germination of sporangia and activity of proteins related to pathogenesis. Phosphites provided the lowest incidence of disease in vine leaves, in addition to make direct toxicity, inhibiting the germination of sporangia. Major activities of peroxidase, polyphenoloxidase and chitinases were detected after application of phosphites, in general, provided they do not increase the content of lignin. The Bion® was not effective in the control of mildew on the leaves and the inhibition of germination of sporangia, however, increased the activity of peroxidase and promoted accumulation of lignin.

## 1 INTRODUÇÃO

O míldio, cujo agente etiológico é *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt) Berl. & de Toni, é a doença responsável pelos maiores danos à viticultura no Brasil (Gringoletti Júnior & Sônego, 1993). O manejo dessa doença é realizado por meio da pulverização de fungicidas, da utilização de tratos culturais adequados e de cultivares resistentes (Amorim & Kuniyuki, 1997). Porém, a principal forma de controle do míldio adotada pelos produtores é a pulverização com fungicidas de contato e sistêmicos (Sônego & Garrido, 2005).

No mercado, está disponível uma diversidade de princípios ativos para o controle do míldio da videira, entretanto, a utilização de alguns deles apresenta certas restrições, tais como risco de seleção de populações resistentes, contaminação ambiental, intoxicação dos agricultores, alto custo, dentre outros. (Sônego & Garrido, 2005).

Atualmente, o processo produtivo agrícola sofre pressão da sociedade pela produção de alimentos de forma sustentável e sem resíduos químicos (Stadinik & Talamini, 2004). Por essa razão, existe uma busca contínua de alternativas para o controle de doenças, que não representem risco ao homem e meio ambiente.

Uma alternativa que pode ser empregada no controle de fitodoenças é a resistência sistêmica adquirida (SAR), a qual consiste na ativação de mecanismos de defesa natural das plantas contra um amplo espectro de patógenos (Loon, 1997).

Muitos compostos são capazes de induzir a SAR em várias espécies de plantas (Sticher et al., 1997). Por exemplo, formulações à base de acibenzolar S-metil (ASM), silicatos, ácidos cítricos, extratos vegetais, quitosana e fosfitos têm grande potencial de uso no controle de doenças, pela indução da SAR (Peruch et al., 2007; Galvão et al., 2006; Aziz et al., 2006; Godard et al., 2009).

As respostas de defesa das plantas ativadas via SAR se resumem à geração de espécies ativas de oxigênio, biossíntese de fitoalexinas, reação de hipersensibilidade (HR), maior atividade de proteínas relacionadas à patogênese, acúmulo de compostos fenólicos e formação de barreiras estruturais (Loon & Strien, 1999).

Os fosfitos são utilizados no controle de doenças em diversas culturas, tanto herbáceas quanto arbóreas, com eficácia demonstrada contra oomicetos e fungos causadores de podridões do colo, raiz, tronco e frutos (McDonald et al., 2001). A sua ação, aparentemente, se deve à ativação do sistema natural de defesa da planta e à atividade antifúngica sobre o patógeno (Smillie et al., 1989; Boneti & Katsurayama, 2002). Produtos à base de fosfito têm demonstrado resultados expressivos no controle de patógenos de plantas, inclusive no controle de oomicetos (Nojosa et al., 2005).

Vários são os autores que demonstraram a eficácia de fosfitos para o controle de míldio da videira (Peruch et al., 2007; Sônego et al., 2003). Pajot et al. (2001) observaram que fosfitos de potássio, na concentração 40,6 ppm, proporcionaram, em alface, completa proteção ao míldio.

Compostos como acibenzolar-S-metil (ASM) são capazes de induzir resistência em plantas por meio da ativação da resistência da SAR e, dessa forma, vêm sendo estudados em diversos patossistemas, como forma alternativa para manejo convencional de doenças (Resende et al., 2002).

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de fosfitos de potássio e do acibenzolar-S-metil na proteção de mudas de videira contra o míldio, o efeito tóxico direto desses a *P. viticola* e a sua possível influência nas atividades das enzimas de defesa peroxidase, polifenoloxidase, quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase e nos teores de fenóis solúveis totais e lignina.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal e isolado fúngico

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Fisiologia do Parasitismo da Universidade Federal de Lavras, para estudar a proteção e a caracterização dos mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa de mudas de videira contra o míldio. Foram utilizadas mudas de videira com três meses de idade, cultivar Merlot, enxertadas sobre porta-enxerto 1103P-Clone 519, plantadas em sacos de 10 litros, contendo substrato composto de terra, areia e esterco bovino (2:1:1). As mudas foram irrigadas diariamente e adubadas semanalmente, com um grama de fertilizante por muda (formulação 4-14-8 de NPK).

Para a obtenção do inóculo, folhas de videira naturalmente infectadas com *P. viticola* foram coletadas no campo e mantidas em câmara úmida, a 25°C, por 24 horas. Após esse período, os esporângios formados foram raspados com o auxílio de um pincel de cerdas macias em água estéril, preparando-se uma suspensão com  $4,0 \times 10^4$  esporângios<sup>-1</sup> em água estéril.

### 2.2 Produtos utilizados

Nos experimentos, foram utilizados fosfitos de potássio, Reforce<sup>®</sup> (240 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 340 g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), da Agrichem do Brasil Ltda e Pepfós<sup>®</sup> (280 g L<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 420g L<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), da Pepita Fertilizantes Ltda. Foi utilizado também, como tratamento padrão de indução de resistência, o ASM (Bion<sup>®</sup>, 50% de acibenzolar-S-metil), da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.

### **2.3 Efeito dos fosfitos e de Bion<sup>®</sup> na proteção da videira contra o míldio**

Para se avaliar o efeito dos produtos na proteção das mudas de videira contra o míldio, foram utilizados os tratamentos com Pepfós<sup>®</sup> (6mL L<sup>-1</sup>), Reforce<sup>®</sup> (4,5 e 6,0 mL L<sup>-1</sup>), Bion<sup>®</sup> (0,4g L<sup>-1</sup>), além de uma testemunha sem pulverização. A pulverização dos tratamentos foi realizada com o auxílio de bomba costal manual, até o ponto de escorrimento, sete dias antes da inoculação. A inoculação com *P. viticola* foi realizada com a pulverização foliar da suspensão de inóculo obtido conforme metodologia descrita no item 2.1.

Foram realizadas cinco avaliações da severidade do míldio da videira, em intervalo de sete dias, em seis folhas do terço médio de cada muda, iniciando-se aos dez dias após a inoculação do patógeno. A severidade foi avaliada utilizando-se uma escala com notas variando de “0” (ausência de doença) a “5” (mais de 50% do total da planta com área foliar doente) (Azevedo, 1997). A partir dessas avaliações, foi determinada a área abaixo da curva de progresso da severidade do míldio (AACPSD). Os índices de controle do míldio foram obtidos por meio da relação 1-x/y, em que x representa o índice da doença das plantas tratadas e y, o índice de doença da testemunha (Li et al., 1996).

O experimento foi realizado em delineamento em blocos casualizados, com três repetições e parcela experimental de seis plantas.

### **2.4 Efeito dos produtos na germinação de esporângios de *P. viticola*, *in vitro***

Foi realizado um ensaio *in vitro* para se avaliar o efeito tóxico dos produtos testados sobre a germinação dos esporângios de *P. viticola*. Para tanto, 50 µL da suspensão de inóculo e 100 µL dos produtos utilizados no experimento *in vivo* (item 2.3) foram depositados em placas de Petri contendo 10 mL de meio ágar-água 2%. A testemunha recebeu 50 µL da suspensão de esporângios e 100 µL de água destilada estéril. As placas foram mantidas em BOD, sob temperatura de 25°C, por 24 horas, sob regime de fotoperíodo de 12 horas. Após

esse período, avaliou-se o número de esporângios que liberaram zoósporos, 200 por placa, com auxílio do microscópio de luz. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), com auxílio do software Sisvar<sup>®</sup>.

## **2.5 Efeito de fosfitos de potássio e Bion<sup>®</sup> sobre as atividades de enzimas relacionadas a defesa, deposição de lignina e conteúdo de fenóis solúveis totais em mudas de videira**

Para determinar a atividade das enzimas peroxidase de guaicol, polifenoloxidase, quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase e os teores de fenóis solúveis totais e de lignina nos tecidos foliares de mudas de videira (obtidas conforme descrito no item 2.1), foram utilizados os fosfitos de potássio Pepfós<sup>®</sup> ( $6\text{mL L}^{-1}$ ) e Reforce<sup>®</sup> ( $4,5$  e  $6,0\text{ mL L}^{-1}$ ), além do tratamento padrão indutor de resistência Bion<sup>®</sup> ( $0,4\text{g L}^{-1}$ ) e uma testemunha pulverizada apenas com água destilada, todos inoculados e não inoculados com *P. viticola*. A pulverização foi realizada com pulverizador manual, até o ponto de escorrimento e a inoculação foi realizada com a pulverização da suspensão de inóculo, como descrito no item 2.1, sete dias após a pulverização dos tratamentos. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro repetições e parcela composta por duas plantas por parcela por coleta.

Foram utilizadas quatro folhas do terço médio de cada muda de videira (duas mudas por coleta), para a quantificação das proteínas totais, da atividade das enzimas e dos teores de lignina e fenóis solúveis totais. As folhas foram coletadas aos 3; 6; 7,5; 8; 10 e 13 dias após a pulverização. Para a quantificação de lignina e de fenóis solúveis totais, foram utilizadas plantas coletadas aos 4 e aos 13 dias após pulverização. Imediatamente após cada coleta, as folhas foram



congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ , até o momento da maceração.

Para a quantificação de proteínas totais e da atividade das enzimas, tecidos foliares foram triturados em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo, até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, 1g desse pó foi depositado em um tubo, ao qual se adicionou o tampão acetato de sódio 50mM pH 5,2 (10mL de tampão para cada grama de amostra) e homogeneizou-se, por 10 segundos, em agitação. Após esse processo, a suspensão foi centrifugada, a  $12.000g$  por 15 minutos ( $0^{\circ}$ - $4^{\circ}\text{C}$ ) e o sobrenadante foi utilizado como fonte enzimática.

As proteínas solúveis contidas nos extratos foram aferidas com base no ensaio de Bradford (1976), utilizando-se um padrão de albumina sérica bovina (BSA).

A atividade de peroxidases de guaiacol (POX) foi determinada pela adição de  $25\mu\text{L}$  do extrato enzimático, ajustado para 2mL de solução contendo  $900\mu\text{L}$  de acetato de sódio 50 mM pH 5,2,  $500\mu\text{L}$  de guaiacol 20mM e  $500\mu\text{L}$  peróxido de hidrogênio 60mM. Após incubação a  $30^{\circ}\text{C}$ , por 10 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro, a 480nm (Urbanek et al., 1991). Uma unidade POX foi expressa como variação de 1  $\text{OD}_{480}$  por miligrama de proteína solúvel por minuto ( $\text{UA mgP}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ).

A atividade de polifenoloxidase (PPO) foi determinada pela adição de  $50\mu\text{L}$  do extrato enzimático a 3 mL de uma solução contendo tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 6,5, e 25 nM de catecol. Após incubação a  $30^{\circ}\text{C}$ , por 10 minutos, a absorbância foi medida a 410 nm (Gauillard et al., 1993).

A atividade de quitinase (CHI) foi determinada pela adição de  $100\mu\text{L}$  do extrato enzimático ajustado para  $320\mu\text{L}$  de uma solução com acetato de sódio 50mM pH 5,2 e  $70\mu\text{L}$  de CM-Chitin-RBV ( $2\text{mg mL}^{-1}$ ; um substrato específico para quitinase fornecido por Loewe Biochemica GmbH), em microplacas de 96 cavidades, com volume de  $350\mu\text{L}$  por cavidade. Após incubação a  $35^{\circ}\text{C}$ , por 120

minutos, as amostras foram acidificadas com 50 $\mu$ L de HCl 0,5N, resfriadas em banho de gelo por 10 minutos e centrifugadas (1.450g, por 10min), a 4°C. Uma alíquota de 200 $\mu$ L do sobrenadante de cada amostra foi transferida para nova microplaca, para leitura em 492nm, em um leitor ELISA-compatível (Wirth & Wolf, 1990). A atividade CHI foi expressa pela variação de 1 OD<sub>492</sub> por miligrama de proteína solúvel por minuto (UA mgP<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>).

A atividade da  $\beta$ -1,3-glucanase (GLU) foi determinada de modo análogo ao da quitinase, apenas com substituição do substrato para CM-Curdlan-RBB (4 mg mL<sup>-1</sup>; Loewe Biochemica GmbH).

Para a determinação dos teores de fenóis solúveis totais e de lignina, tecidos foliares foram triturados em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo, até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, as amostras foram liofilizadas por 16 horas. Uma alíquota de 30mg do material liofilizado foi transferida para microtubo de 2mL, homogeneizada com 1,5mL de metanol a 80% e mantida sob agitação, por 16horas, em agitador rotativo, protegido da luz à temperatura ambiente. A suspensão foi centrifugada, a 12.000g, por 5minutos. O sobrenadante foi transferido para novo microtubo, com o qual se realizou a determinação de fenóis solúveis totais, enquanto o resíduo sólido foi utilizado para a determinação de lignina solúvel.

Para a determinação dos teores de fenóis solúveis totais, alíquotas de 150 $\mu$ L do extrato metanólico foram misturadas a 150 $\mu$ L do reagente de Folin-Ciocalteau 0,25N, por 5 minutos, homogeneizadas com 150 $\mu$ L de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1M, por 10 minutos e diluídas com 1mL de água ultrapura, à temperatura ambiente, por uma hora. Os valores de absorbância desta reação foram determinados, a 725nm, em espectrofotômetro e calculados com base em curva de catecol (0-100 $\mu$ g mL<sup>-1</sup>). Os compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente  $\mu$ g de catecol por miligrama de massa seca (Spanos & Wrolstad, 1990).

Para a determinação de lignina solúvel, foi adicionado ao resíduo sólido 1,5mL de água, homogeneizando-se e centrifugando-se, 12.000g por 5 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi seco, a 65°C, por 15 horas. Posteriormente, acrescentou-se 1,5mL de solução de ácido tioglicólico:HCl 2M (1:10). Em seguida, agitaram-se suavemente os microtubos, para hidratar o resíduo e estes foram colocados em banho-maria, em fervura, por 4 horas. Posteriormente, os microtubos foram centrifugados, a 12.000g, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado com 1,5mL de água ultrapura e novamente centrifugado, a 12.000g, por 10 minutos, a 4°C. A seguir, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspensão em 1,5 mL de NaOH 0,5M e mantido em agitador rotativo, por 15 horas, à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 12.000g, por 10 minutos, a 4°C e o sobrenadante transferido para novo microtubo, ao qual foram adicionados 200 µL de HCl concentrado. A suspensão obtida foi mantida em câmara fria (4°C), por 4 horas, para permitir a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico. A seguir, a mistura foi centrifugada a 12.000g, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante descartado e o precipitado ressuspensão em 2mL de NaOH 0,5M. A absorbância desta solução foi determinada em espectrofotômetro, a 280nm e os valores calculados com base na curva de lignina solúvel (0-100µg mL<sup>-1</sup>) e expressos em µg de lignina solúvel por miligrama de massa seca (Doster & Bostock, 1988).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Efeito dos fosfitos e de Bion<sup>®</sup> na proteção da videira contra o míldio

Todos os produtos testados, fosfitos e Bion<sup>®</sup>, proporcionaram redução significativa na AACPSD em relação à testemunha. Entretanto, os tratamentos com fosfitos de potássio proporcionaram menores AACPSD, não diferindo entre si, mas diferindo do tratamento com o Bion<sup>®</sup>. O controle do míldio em mudas de videira proporcionado pelos fosfitos variou entre 81,48% e 76,03%, sendo o maior controle proporcionado pelo Pepfós<sup>®</sup>. O tratamento com Bion<sup>®</sup> proporcionou controle intermediário (29,57%) (Tabela 1). Analisando-se o progresso do míldio no decorrer das avaliações (Figura 1), observa-se que os fosfitos proporcionaram menor severidade, comportando-se de forma semelhante e destacando-se dos demais tratamentos, Bion<sup>®</sup> e testemunha. Essa baixa severidade, proporcionada pelos fosfitos, se manteve até a última avaliação, aos 45 dias após a pulverização (Figura 1).

Wordell Filho et al. (2007) observaram que acibenzolar-S-metil (5g/L) e fosfitos de potássio (250mL/L) proporcionaram controle intermediário do míldio da cebola (*Peronospora destructor*), tendo os fosfitos propiciado um atraso da doença no campo, quando comparados aos demais tratamentos. Estes resultados são similares aos obtidos neste trabalho, pois, além de os tratamentos utilizados proporcionarem controle do míldio da videira, nas plantas tratadas com fosfitos foi possível observar um atraso da doença quando comparadas aos demais tratamentos. Sônego & Garrido (2005) mostraram que fosfitos de potássio, independente do tempo de aplicação, semanal ou quinzenalmente, reduziram a incidência do míldio em folhas de videira cv. Merlot de forma similar à redução da doença proporcionada pelo fungicida utilizado.

### 3.2 Efeito dos fosfitos de potássio e de Bion<sup>®</sup> na germinação de esporângios de *P. viticola*, *in vitro*

Para o teste *in vitro*, todos os tratamentos apresentaram porcentagem de germinação de esporângios estatisticamente diferente da testemunha (52,7%); no caso dos fosfitos de potássio, intermediária entre 22,3% e 31,3%, sendo a maior inibição de germinação proporcionada pelo Pepfós<sup>®</sup>. O Bion<sup>®</sup>, embora tenha diferido estatisticamente da testemunha, propiciou baixa inibição de germinação de esporângios de *P. viticola* (Tabela 1), mostrando que não apresenta efeito direto sobre o patógeno.

TABELA 1 Efeito dos tratamentos na área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD), no controle do míldio nas folhas de videira cv. Merlot, *in vivo* e na germinação de esporângios, *in vitro*.

Tratamentos	<i>in vivo</i>		<i>in vitro</i>	
	AACPSD	Controle (%)	Germinação (%)	Inibição (%)
Pepfós <sup>®</sup> (6,0 mL L <sup>-1</sup> )	113 a	81,5	22,3 a	57,7
Reforce <sup>®</sup> (4,5 mL L <sup>-1</sup> )	176 a	71,2	27,3 ab	48,2
Reforce <sup>®</sup> (6,0 mL L <sup>-1</sup> )	146 a	76,1	31,3 ab	40,6
Bion <sup>®</sup> (0,4 g L <sup>-1</sup> )	431 b	29,6	35,0 b	33,6
Testemunha	612 c	---	52,7 c	---
CV	18,42		9,31	

Médias com mesma letra na coluna não diferem, pelo teste Tukey (P≤0,05).

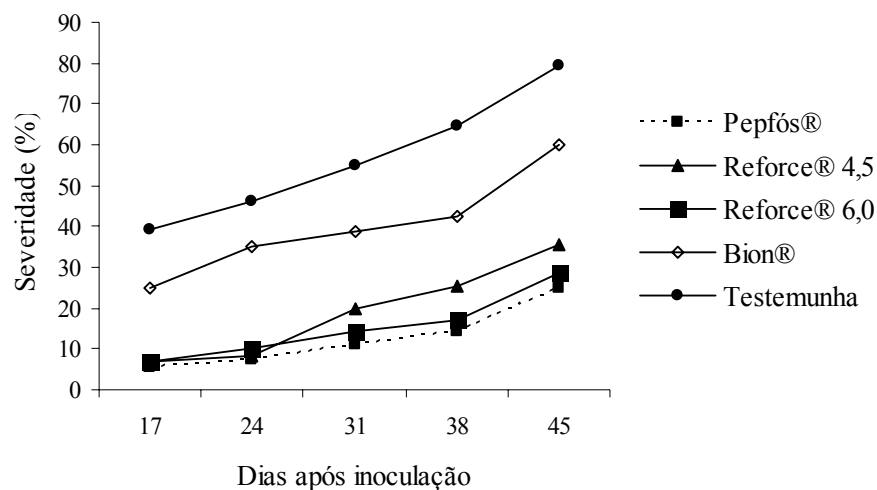


FIGURA 1 Efeito dos tratamentos no progresso da severidade do míldio da videira cultivar Merlot. As avaliações foram realizadas em intervalo de sete dias. Tratamentos: Pepfós® (6 mL L<sup>-1</sup>), Reforce® (4,5 mL L<sup>-1</sup>), Reforce® (6 mL L<sup>-1</sup>), Bion® (0,4 g mL L<sup>-1</sup>) e testemunha sem pulverização.

### 3.3 Efeito de fosfitos de potássio e de Bion® sobre atividades de enzimas relacionadas a defesa, deposição de lignina e conteúdo de fenóis solúveis totais em mudas de videira

As peroxidases de plantas participam de diversos processos fisiológicos, dentre eles a formação de lignina e são frequentemente utilizadas como marcadores enzimáticos para os estudos da SAR (Rasmussen et al., 1995). A atividade desta enzima, com frequência, aumenta em resposta aos estresses, ao ataque de patógenos e aos tratamentos com indutores, sendo a proteção celular contra reações oxidativas também uma das suas principais funções (Anterola & Lewis, 2002).

No presente trabalho, até os 7,5 dias após a pulverização (DAP), não foi observada atividade diferencial da peroxidase (POX) em plantas tratadas com fosfitos ou com Bion<sup>®</sup>, em relação à testemunha (Figura 2 A-D). Após os 7,5 DAP, em plantas tratadas com fosfitos e Bion<sup>®</sup>, observou-se aumento na atividade da POX em relação à testemunha. O Bion<sup>®</sup> proporcionou aumento na atividade de POX aos 8 DAP, enquanto que, para esse tratamento, em plantas inoculadas, maior atividade também foi observada aos 8 DAP, mantendo-se alta até os 10 DAP (Figura 2A). Plantas tratadas com os fosfitos revelaram comportamento semelhante ao daquelas tratadas com Bion<sup>®</sup>, apresentado um aumento na atividade de POX aos 8 DAP, que se manteve alta até os 13 DAP (Figura 2B, C e D).

A pulverização das mudas de videira com o Bion<sup>®</sup> não promoveu aumento na atividade de polifenoloxidase (PPO) (Figura 2E), entretanto, para os tratamentos com fosfitos, Pepfós<sup>®</sup> e Reforce<sup>®</sup>, nas duas doses utilizadas, foi observado aumento da PPO a partir dos 10 DAP (Figura 2F, G e H).

Quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases são enzimas que estão relacionadas à proteção de plantas a patógenos em vários patossistemas (Pieterse et al., 2001). A quitinase e a  $\beta$ -1,3-glucanase apresentam ação direta contra patógenos, degradando a parede celular, com o objetivo de impedir o estabelecimento do patógeno na planta. Neste processo, polímeros de N-acetilglucosamina e  $\beta$ -1,3-glucana, provenientes da parede celular de fungos ou bactérias, degradados por estas enzimas, podem funcionar como eliciadores e ativar outros mecanismos de defesa (Okinaka et al., 1995).

Não foi observado aumento significativo na atividade de quitinase (CHI) em mudas de videira tratadas com Bion<sup>®</sup> até os 13 DAP, época da última avaliação (Figura 3A). O tratamento com o Pepfós<sup>®</sup>, sem inoculação, proporcionou aumento da atividade de CHI a partir dos 10 DAP, enquanto o mesmo tratamento, seguido de inoculação, apresentou maior atividade aos 13

DAP (Figura 3B). Os tratamentos com o Reforce<sup>®</sup>, 6 e 4,5 mL L<sup>-1</sup>, apresentaram atividade similar, com aumento a partir dos 7,5 DAP, voltando ao nível das testemunhas aos 13 DAP, exceto pelo Reforce<sup>®</sup>, na dose de 4,5 mL L<sup>-1</sup> (Figura 3C e D). Não foi observado aumento significativo na atividade de  $\beta$ -1,3-glucanase, proporcionada pelos tratamentos, pois todos apresentaram comportamento semelhante à atividade observada nas testemunhas.



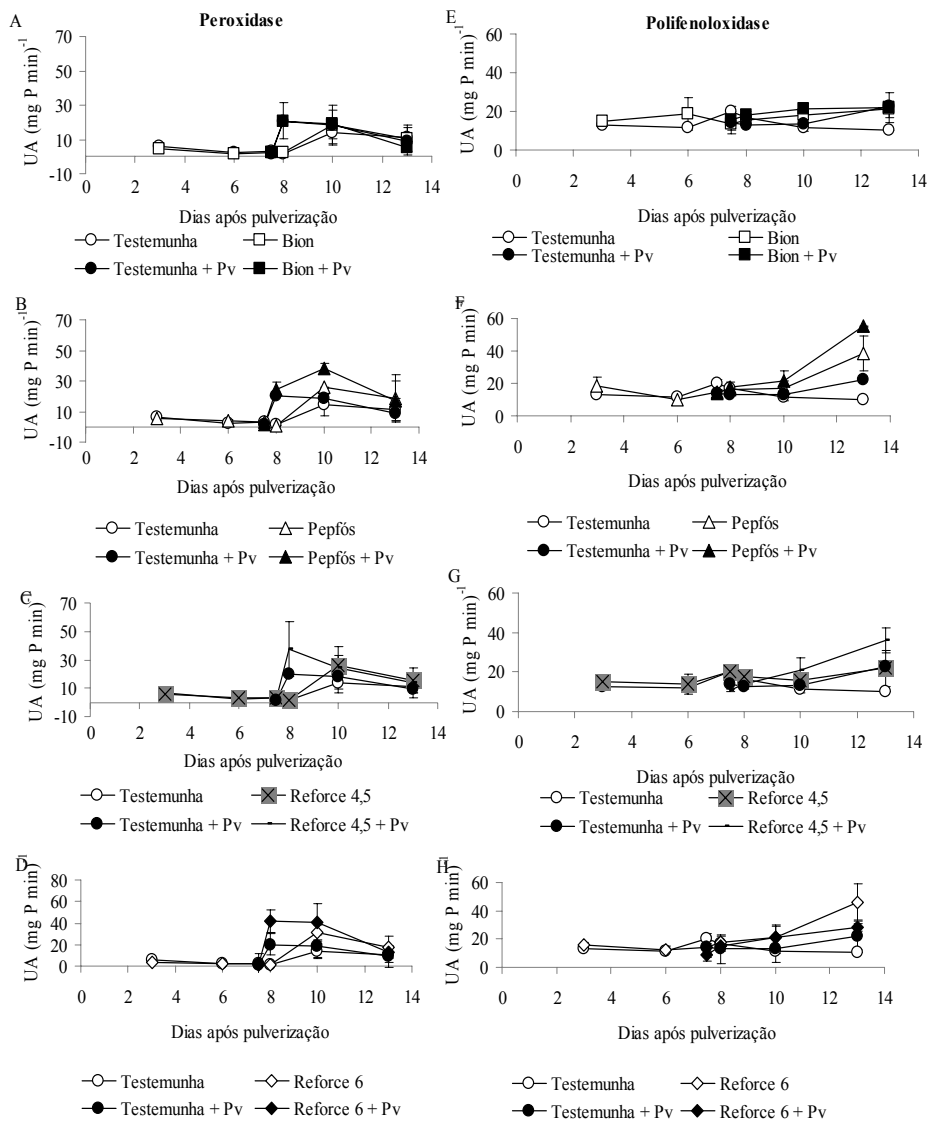


FIGURA 2 Atividade de peroxidase de guaiacol (A, B, C e D) e polifenoloxidase (E, F, G e H) em folhas de mudas de videira ‘Merlot’, após tratamentos com: Bion® – acibenzolar-S-metil; fosfitos de potássio, Pepfós® (6 mL L<sup>-1</sup>) e Reforce® (4,5 e 6 mL L<sup>-1</sup>), em comparação com a testemunha. A inoculação com *P. viticola* (Pv) foi realizada sete dias após a pulverização. Barras indicam desvio padrão da média.

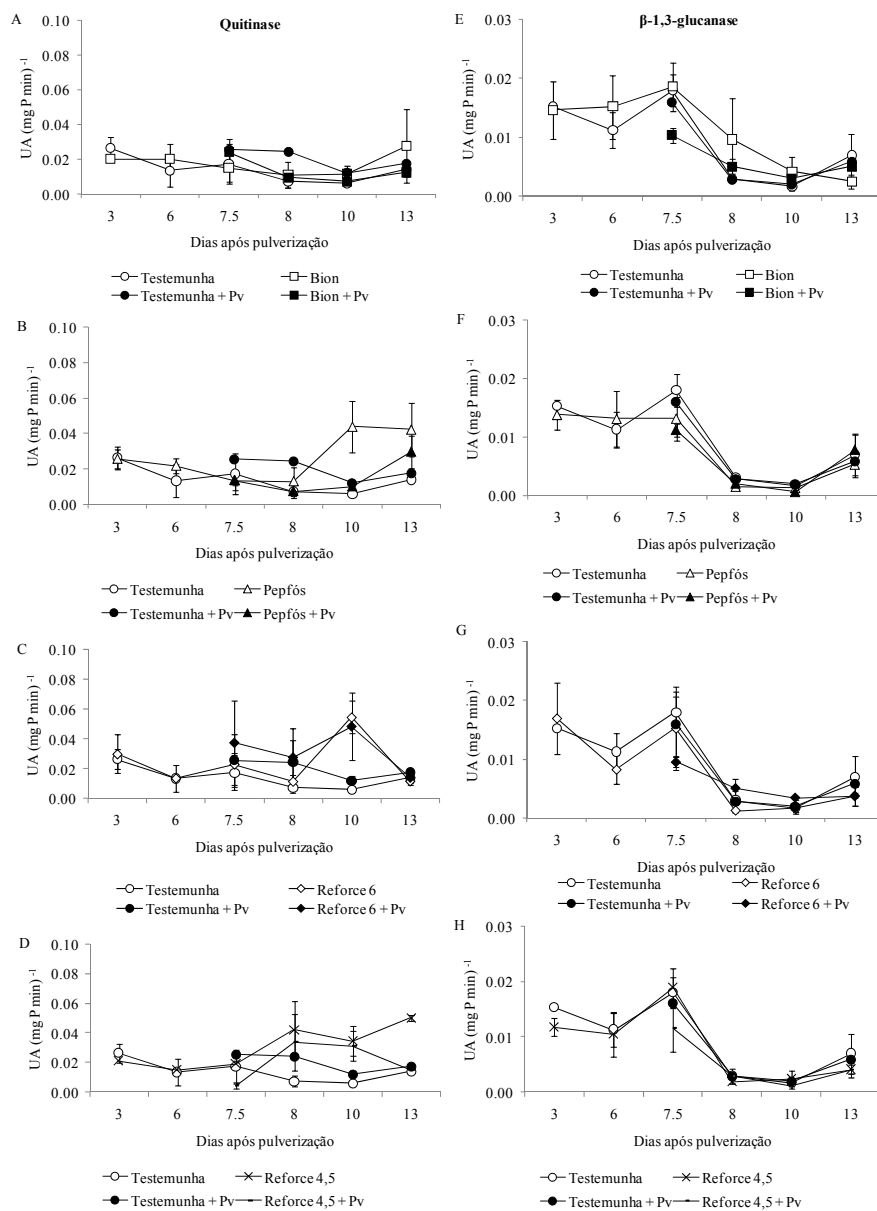


FIGURA 3 Atividade de quitinase (A,B,C e D) e  $\beta$ -1,3-glucanase (E, F, G e H) em folhas de mudas de videira ‘Merlot’, após tratamentos com: Bion<sup>®</sup> – acibenzolar-S-metil; fosfatos de potássio, Pepfôs<sup>®</sup> (6 mL L<sup>-1</sup>) e Reforce<sup>®</sup> (4,5 e 6 mL L<sup>-1</sup>), em comparação com a testemunha. A inoculação com *P. viticola* (Pv) foi realizada sete dias após a pulverização. Barras indicam desvio padrão da média.

O acúmulo de compostos fenólicos e lignina pode estar relacionado com componentes estruturais das reações de defesa de plantas a patógenos (Moerschbacher et al., 1988). Compostos fenólicos são conhecidos como substâncias fungitóxicas e, em alta concentração nas células, podem ser oxidados a quinonas, constituindo componentes de defesa do vegetal contra fatores externos (Nicholson & Hammerschmidt, 1992). Mudanças suscetíveis de *Eucalyptus marginata*, tratadas com fosfito e inoculadas com *P. cinnamomi*, apresentaram elevada atividade de enzimas envolvidas na resposta de defesa, incluindo fenilalanina amônia liase (FAL), coumarato coenzima A ligase (4-CL), cinamil álcool desidrogenase (CAD) e, conseqüentemente, a elevada síntese de compostos fenólicos (Jackson et al., 2000). Daniel & Guest (2006) observaram, em arábopsis cultivadas em meio contendo fosfito de potássio, 6 horas após inoculação com *P. palmivora*, acúmulo de compostos fenólicos no local de infecção e, 48 horas após a inoculação, esses compostos estavam concentrados ao redor das células infectadas. Nojosa (2003), trabalhando com fosfito de potássio, observou maior lignificação em folhas de mudas de cafeeiro tratadas com esse produto, sem inoculação e inoculadas com *Hemileia vastatrix*.

No presente trabalho, os teores de fenóis solúveis totais não foram influenciados pelos tratamentos, com fosfitos e Bion<sup>®</sup>, em nenhuma das épocas avaliadas, aos 4 e aos 13 DAP (Tabela 2). Aos 4 DAP, não foi observado efeito significativo dos tratamentos, fosfitos e Bion<sup>®</sup>, nos teores de lignina. Entretanto, aos 13 DAP, em plantas tratadas com o Bion<sup>®</sup>, seguido ou não de inoculação com *P. viticola* e em plantas tratadas com Reforce<sup>®</sup> (6 mL L<sup>-1</sup>), seguido de inoculação, foi observado aumento nos teores de lignina. Os demais tratamentos não proporcionaram aumento significativo em relação às testemunhas (Tabela 2).

TABELA 2 Teor de lignina solúvel ( $\mu\text{g mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$ ) e de fenóis solúveis totais ( $\mu\text{g de catecol mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$ ), em folhas de mudas de videira ‘Merlot’, após tratamentos com: Bion<sup>®</sup> – acibenzolar-S-metil e fosfitos de potássio, Pepfós<sup>®</sup> (6 mL L<sup>-1</sup>) e Reforce<sup>®</sup> (4,5 e 6 mL L<sup>-1</sup>) e testemunha. A inoculação com *P. viticola* (Pv) ocorreu sete dias após pulverização.

Tratamentos	Fenóis solúveis totais ( $\mu\text{g mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$ )		Lignina solúvel ( $\mu\text{g mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$ )	
	Dias após pulverização			
	4	13	4	13
Bion <sup>®</sup>	0,77 a	0,77 a	11.0 a	24,00 a
Bion <sup>®</sup> + Pv		0,79 a		21,67 b
Pepfós <sup>®</sup>	0,79 a	0,65 a	10.0 a	18,33 c
Pepfós <sup>®</sup> + Pv		0,81 a		19,67 c
Reforce <sup>®</sup> 4,5	0,76 a	0,76 a	13.3 a	20,00 c
Reforce <sup>®</sup> 4,5 + Pv		0,80 a		20,33 c
Reforce <sup>®</sup> 6,0	0,78 a	0,77 a	9.3 a	21,33 b
Reforce <sup>®</sup> 6,0 + Pv		0,77 a		18,33 c
Testemunha	0,75 a	0,77 a	10.0 a	20,00 c
Testemunha + Pv		0,79 a		20,67 c

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem, pelo teste de Scott Knott ( $P \leq 0,05$ ).

O tratamento com Bion<sup>®</sup> proporcionou controle intermediário do míldio e apresentou baixa toxidez direta. Esse controle, possivelmente, ocorreu pela ativação de respostas de defesa nas mudas de videira como aumento da atividade de POX e nos teores de lignina. Cavalcanti et al. (2007) observaram que plantas de tomates tratadas com ASM apresentaram pico na atividade de POX aos 9 dias após a pulverização (DAP). Ribeiro Júnior (2008) observou aumento na atividade de POX proporcionada por Bion<sup>®</sup> aos 11 DAP, sendo este aumento mantido até os 14 DAP, tanto para mudas de café inoculadas com *C. coffeicola* quanto para não inoculadas. Este mesmo autor relata que o ASM não

proporcionou aumento significativo no teor de lignina nas mudas de café avaliadas.

Os fosfitos proporcionaram maior proteção das mudas de videira contra o míldio. Entretanto, além de apresentarem toxidez direta, propiciaram maiores atividades de peroxidase, polifenoloxidase e quitinase. A atuação dos fosfitos ainda não foi totalmente elucidada, porém, alguns trabalhos demonstraram efeito fungicida, atuando diretamente sobre patógenos (Fenn & Coffey, 1984), enquanto outros afirmam que fosfitos possuem a propriedade de estimular a formação de substâncias naturais de autodefesa da planta, protegendo-a do ataque de fungos (Dercks & Creasy, 1989).

Fosfitos têm sido muito utilizados para o controle de oomicetos, pois, na forma de sal de potássio, apresentam ação semelhante à do Fosetyl-Al, fungicida muito recomendado para o controle de *Pythium* e *Phytophthora*. Esse fungicida é constituído por três moléculas de etil fosfonato ligadas ao alumínio, que neutraliza suas cargas negativas. A partir da hidrólise do etil fosfonato, o fosfito é liberado, conferindo à planta a proteção contra fungos patogênicos. Processo análogo parece ocorrer para o fosfito de potássio. Em *Phytophthora*, o fosfito de potássio causa acúmulo de fósforo nas formas de polifosfato e pirofosfato e, assim, a redução da doença está relacionada ao metabolismo do pirofosfato, pois ele interfere em várias vias metabólicas essenciais ao crescimento fúngico (Nojosa et al., 2005).

Diversos são os trabalhos envolvendo fosfitos no controle de doenças de plantas. Jackson et al. (2000) observaram redução do desenvolvimento de lesões em folhas de eucalipto tratadas com fosfitos de potássio e inoculadas com *Phytophthora cinnamomi*. Observaram, ainda, que, aos dois e cinco dias após a pulverização com fosfitos, as plantas inoculadas com o patógeno apresentaram aumento no teor de fenóis solúveis totais. Além disso, os fosfitos inibiram o crescimento micelial do patógeno, apresentando efeito direto e indireto por meio

da indução de respostas de defesa no hospedeiro. Estes resultados corroboram os obtidos neste trabalho, pois, os fosfitos de potássio, além de atuarem diretamente, reduzindo a severidade e a porcentagem de germinação do míldio em folhas de videira, também induziram respostas de defesa no hospedeiro, por meio do aumento da atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e quitinase.

*Plasmopara viticola* é um fungo classificado como sendo da classe dos oomicetos e, assim, não apresenta quitina na sua parede celular, e sim celulose (Agrios, 2005). Dessa forma, o incremento na atividade de quitinase, induzido pelos fosfitos na folhas de videira, não apresenta efeito sobre esse patógeno, porém, o aumento dessa proteína relacionada à patogênese mostra-se importante no combate a outros patógenos da videira, uma vez que sua ação é por meio da atuação direta sobre fungos que possuem quitina na parede celular.

De acordo com Thao & Yamakawa (2009), a ação dos fosfitos pode ser direta nos patógenos fúngicos ou indireta, estimulando respostas de defesa da planta contra patógenos. Esse estímulo pode ocorrer por meio da inoculação do patógeno no hospedeiro, no intervalo de 1 a 7 dias após a pulverização dos tratamentos, pois assim ocorre a indução da resistência sistêmica adquirida (SAR) nas plantas (Baysal et al., 2005). Magarey et al. (1990) relataram a eficácia do ácido fosforoso, por meio da redução da incidência de míldio em plantas de videira, quando aplicado três dias antes da inoculação com o patógeno, sendo essa proteção obtida até 13 dias, devido à redução da área foliar afetada, em comparação com testemunhas. Os mesmos autores observaram, ainda, que esporângios desenvolvidos a partir de folhas pulverizadas com fosfito, até os 17 dias pós-infecção, tiveram a viabilidade reduzida, o que levou à redução do potencial para desenvolver epidemias. Esse fato pode ter ocorrido no presente trabalho, pois as plantas tratadas com fosfitos, quando comparadas com a testemunha, apresentaram aumento na incidência da doença somente após a

segunda avaliação, aos 24 dias após a infecção. Assim sendo, esporângios podem ter tido a viabilidade reduzida até esse período, retardando a epidemia (Figura 1).

Os fenômenos de resistência induzida podem estar associados a um aumento na capacidade para uma rápida e efetiva ativação de respostas de defesa celular, a qual é induzida apenas após o contato com o patógeno desafiador, processo este chamado *priming* (Conrath et al., 2002). Neste trabalho, além de os fosfitos de potássio aumentarem o teor de POX e PPO nas plantas de videira, foi observado também o efeito *priming*, pois, em plantas tratadas com os indutores e inoculadas com *P. viticola*, ocorreu um aumento da atividade de POX no momento da inoculação (7 DAP).

Vários são os eliciadores capazes de induzir respostas de defesa em plantas de videira. Godard et al. (2009) observam aumento na atividade de POX em folhas de *Vitis vinifera* cv. Chasselas, pulverizadas com extrato de raiz de *Rheum palmatum* e extrato da casca de *Frangula alnus*, 3 e 6 horas após a inoculação com *Plasmopara viticola*. Aziz et al. (2006) observaram que folhas de videira cv. Chardonnay, quando pulverizadas com quitosana nas doses 0, 100, 200 e 300 ug/mL, apresentaram aumento nas atividades de CHI e  $\beta$ -1,3-glucanase, dez horas após a pulverização, sendo o pico de atividade dessas enzimas obtido 24 horas após a pulverização e mantido pelas plantas por, pelo menos, até 48 horas.

O controle do míldio por meio dos fosfitos se deve a uma ação tanto direta, por toxidez, como pela ativação destas e de outras enzimas de defesa e, até mesmo, de fitoalexinas. A exploração dos mecanismos de defesa endógenos das plantas para o controle de doenças associado à ação tóxica direta a patógenos torna os fosfitos uma boa alternativa no controle de doenças de plantas. Além disso, os fosfitos, sendo menos tóxicos ao ambiente e ao homem,

certamente contribuirão para a produção de uvas e seus derivados de melhor qualidade, a serem oferecidos ao consumidor.

Naturalmente, mais investigações devem ser realizadas para elucidar o efeito desses produtos na ativação de outras repostas de defesa em videira, tais como a produção de fitoalexinas (resveratrol e outros estilbenos), bem como o estudo da expressão de genes que codificam para a síntese desses metabólitos secundários, além de verificar o efeito dos fosfitos em outros parâmetros da produção e da qualidade da matéria-prima para elaboração de vinhos.



#### 4 CONCLUSÃO

Os fosfitos de potássio controlaram a doença nas folhas de videira, além de inibirem a germinação dos esporângios de *P. viticola* e de promoverem o aumento nas atividades de peroxidase, polifenoloxidase e quitinase.

O ASM não apresentou resultados satisfatórios para o controle da doença e para germinação de esporângios, apesar de ter propiciado maior atividade de peroxidase e aumento no teor de lignina nas mudas de videira durante o período de avaliação.

Fosfitos podem ser uma alternativa para o manejo integrado do míldio da videira, diminuindo problemas de toxidez ao homem e ao meio ambiente.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5 ed. New York: Academic, 2005. 922 p.
- AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da videira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 736-757.
- ANTEROLA, A. M.; LEWIS, N. G. Trends in lignin modification: a comprehensive analysis of the effects of genetic manipulations/ mutations on lignification and vascular integrity. **Phytochemistry**, Oxford, v. 61, n. 3, p. 221-294, Oct. 2002.
- AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: [s.n.], 1997. 114 p.
- AZIZ, A.; TROTEL-AZIZ, P.; DHUICQ, L.; JEANDET, P.; COUDERCHET, M.; VERNET, G. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, p. 1188-1194, 2006.
- BAYSAL, Ö.; TURGUT, C.; MAO, G. Acilbenzolar-S-methyl induced resistance to *Phytophthora capsici* in pepper leaves. Acilbenzolar-S-methyl induces. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 49, n. 4, p. 599-604, 2005.
- BONETI, J. I.; KATSURAYAMA, Y. Viabilidade do uso de fosfitos no manejo das doenças de macieira. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 5., 2002, Fraiburgo. **Anais...** Fraiburgo: EPAGRI, 2002. v. 5, p. 125-139.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; OLIVEIRA, J. T.; SILVEIRA, J. A.; CARVALHO, C. P. An aqueous suspension of *Crinipellis pernicioso* mycelium activates tomato defence response against *Xanthomonas vesicatoria*. **Crop Protection**, Oxford, v. 26, p. 729-738, 2007.

CONRATH, U.; PIESTERSE, C. M.; MAUCH-MANI, B. M. Priming in plant-pathogens interaction. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 7, n. 5, p. 210-216, May 2002.

DANIEL, R.; GUEST, D. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 67, n. 3/5, p. 194-201, Sept./Dec. 2006.

DERCKX, W.; CREASY, L. L. Influence of fosetyl: al on phytoalexin accumulation in the *Plasmopara viticola* grapevine interaction. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 34, p. 203-213, 1989.

DOSTER, M. A.; BOSTOCK, R. M. Quantification of lignin formation in almond bark in response to wounding and infection by *Phytophthora* species. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 78, n. 4, p. 473-477, Apr. 1988.

FENN, F. E.; COFFEY, M. D. Studies on the in vitro and in vivo antifungal activity of Fosetyl-Al and Phosphorous Acid. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 74, p. 606- 611, 1984.

FUNG, R.W.; GONZALO, M.; FEKETE, C.; KOVACS, L. G.; HE, Y.; MARSH, E.; MCINTYRE, L. M.; SCHACHTMAN, D. P.; QIU, W. Powdery mildew induces defense-oriented reprogramming of the transcriptome in a susceptible but not in a resistant grapevine. **Plant Physiology**, Rockville, v. 146, p. 236-249, 2008.

GALVÃO, S.; STADINIK, M. J.; PERUCH, L. A. M.; DELLA BRUNA, E. Avaliação de eficiência de produtos alternativos para o controle do míldio e da antracnose em videira, cultivar Niágara Branca. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 19, n. 4, p. 91-93, 2006.

GAUILLARD, F.; RICHARD-FORGET, F.; NICOLAS, J. New spectrophotometric assay for polyphenol oxidase activity. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 215, p. 59-65, 1993.

GODARD, S.; SLACANIN, I.; VIRET, O.; GINDRO, K. Induction of defence mechanisms in grapevine leaves by emodin- and anthraquinone-rich plant extracts and their conferred resistance to downy mildew. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 47, n. 9, p. 827-837, Sept. 2009.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SÔNEGO, O. R. **Principais doenças fúngicas da videira no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa CNPUV, 1993. 36 p. (Embrapa CNPUV. Circular Técnica, 17).

HAMIDUZZAMAN, M. M.; JAKAB, G.; BARNAVON, L.; NEUHAUS, J. M.; MAUCH-MANI, B. Beta-aminobutyric acid-induced resistance against downy mildew in grapevine acts through the potentiation of callose formation and jasmonic acid signaling. **Molecular Plant-microbe Interaction**, Saint Paul, v. 18, n. 8, p. 819-29, 2005.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. T. J. Action of the fungicide phosphonate on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology: a record of current work on plant diseases and pest in British Isles**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 147-154, Feb. 2000.

LI, J.; ZINGEN-SELL, I.; BUCHENAUER, H. Induction of resistance of cotton plants to *Verticillium* wilt and of tomato plants to *Fusarium* wilt by b-aminobutyric acid and methyl jasmonate. **Journal of Plant Diseases and Plant Protection**, Stuttgart, v. 103, p. 288- 299, 1996.

LOON, L. C. van. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 103, n. 9, p.753-765, Dec. 1997.

LOON, L. C. van; STRIEN, E. A. van. The families of patogenesis-related proteins, their activities and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, n. 3, p. 85-97, 1999.

MAGAREY, P. A.; WICKSB, T. J.; WACHTEL, M. F. Phosphonic (phosphorous) acid controls *Plasmopara viticola* the cause of downy mildew of grapevines. **Australasian Plant Pathology**, Loxton, v. 19, n. 4, p. 126-127, 1990.

MCDONALD, A. E.; GRANT, B. R.; PLAXTON, W. C. Phosphite phosphorous acid: its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, n. 10, p. 1505-1519, 2001.

MOERSCHBACHER, B. M.; NOLI, U. M.; FLOTT, B. U.; REISENER, H. J. Lignin biosynthesis enzymes in stem rust infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat lines. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 33, n. 1, p. 33-46, 1988.

NICHOLSON, R. L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, 1992.

NOJOSA, G. B. A. Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. à *Hemileia vastatrix* BERK & BR. e *Phoma costarricensis* ECHANDI. 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 139-153.

OKINAKA, Y.; MIMORI, K.; TAKEO, K.; KITAMURA, S.; TAKEUCHI, Y.; YAMAOKA, N.; YOSHIKAWA, M. A structural model for the mechanisms of elicitor release from fungal cell walls by plant [beta]-1,3-endoglucanase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 109, n. 3, p. 839-845, Nov. 1995.

PAJOT, E.; CORRE, D. L.; SILUÉ, D. Phytogard<sup>®</sup> and DL-β-amino butyric (BABA) induce resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce (*Lactuca sativa* L.) **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 9, p. 861-869, 2001.

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

PIETERSE, C. M. J.; TON, J.; LOON, L. C. van. Cross-talk between plant defense signaling pathways: boost or burden? **AgBiotechNet**, Wallingford, v. 3, p. 1-8, 2001.

POINSSOT, B.; VANDELLE, E.; BENTEJAC, M.; ADRIAN, M.; LEVIS, C.; BRYGOO Y.; GARIN, J.; SICILIA, F.; COUTHOS-THEVENOT, P.; PUGIN, A. The endopolygalacturonase 1 from *Botrytis cinerea* activates grapevine defense reactions unrelated to its enzymatic activity. **Molecular Plant-microbe Interaction**, Saint Paul, v.16, p.553-564, 2003.

RASMUSSEN, C. B.; DUNFORD, H. B.; WELINDER, K. G. Rate enhancement of compound I formation of barley peroxidase by ferulic acid, caffeic acid, and coniferyl alcohol. **Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 12, p. 4022-4029, Mar. 1995.

RESENDE, M. L. V.; NOJOSA, G. B. A.; CAVALCANTI, L. S.; AGUILAR, M. A. G.; SILVA, L. H. C. P.; PEREZ, J. O.; ANDRADE, G. C. G.; CARVALHO, G. A.; CASTRO, R. M. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology**, Oxford, v. 51, n. 5, p. 621-628, Oct. 2002.

RIBEIRO JÚNIOR, P. M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 105 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; RESENDE, M. L.V; PEREIRA, R. B.; CAVALCANTI, F. R.; AMARAL, D. R.; PÁDUA, M. A. Fosfito de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* kleb., em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 629-636, jul./ago. 2006.

SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp in plants. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, n. 9, p. 921-926, Sept. 1989.

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R. **Avaliação da eficácia de algumas marcas comerciais de fosfito de potássio e de fosfonato de potássio no controle do míldio da videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 13 p. (Circular Técnica, 60).

SÔNEGO, O. R.; GARRIDO, L. R.; CZERMAINSKI, A. B. C. **Avaliação de fosfitos no controle do míldio da videira**. Bento Gonçalves: Embrapa CNPVU, 2003. 18 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 11).

SPANOS, G. A.; WROLSTAD, R. E. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 38, n. 7, p. 1572-1579, July 1990.

STADNIK, M. J. **Induction of resistance in wheat by a benzothiadiazole derivative against the powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*): practical aspects and mechanisms of action.** 1999. 165 p. Thesis (PhD in Phytopathology) - University of Hohenheim, Stuttgart.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Ed.). **Manejo ecológico de doenças de plantas.** Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. 293 p.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35 p. 235-270, 1997.

THAO, H. T. B.; YAMAKAWA, T. Phosphite (phosphorous acid): fungicide, fertilizer or bio-stimulator? **Soil Science and Plant Nutrition**, Tokyo, v. 55, p. 228-234, 2009.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, H. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum**, Varsóvia, v. 13, n. 1, p. 43-50, 1991.

WORDELL FILHO, J. A.; MARTINS, D. A.; STADNIK, M. J. Aplicação foliar de tratamentos para o controle do míldio e da podridão-de-escamas de bulbos de cebola. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 544-549, out./dez. 2007.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os fosfitos têm se tornado importantes no manejo de doenças, pois, além da atuação direta e indireta no patógeno, são menos tóxicos ao ambiente, ao homem e contribuem para a geração de produtos com maior qualidade.

No presente estudo, os fosfitos proporcionaram menor severidade do míldio da videira no campo, além de induzirem respostas de defesa na planta. Para a região de Caldas, MG, local onde foram conduzidos os experimentos de campo, notou-se melhor proteção das videiras quando foram utilizados fosfitos de potássio na dose de 6mL/L. Foi possível notar que os produtos utilizados que apresentavam maiores dosagens de  $K_2O$  e  $P_2O_5$  nas suas formulações proporcionaram melhor controle da doença nos cachos.

Porém, mais estudos devem ser realizados visando à aplicação de fosfitos em mistura ou alternados com fungicidas e para o controle de outros patógenos da videira. Além disso, novas pesquisas poderão elucidar o efeito desses produtos na ativação de outras respostas de defesa em videira, tais como a produção de fitoalexina (resveratrol), bem como o estudo da expressão de genes que codificam para a síntese desses metabólitos secundários e a interferência de fosfitos de potássio na qualidade de vinhos.