

CIRCULAR TÉCNICA

146

Bento Gonçalves, RS
Novembro, 2019

Produtos com menor teor de cobre para o controle do míldio em viticultura

Fabio Rossi Cavalcanti
Kelly Francine Cassuba
João Caetano Fioravanço



Produtos com menor teor de cobre para o controle do míldio em viticultura¹

Introdução

O míldio da videira, causado pelo oomiceto *Plasmopara viticola* (Berk. & Curtis) Berlese & De Toni, ainda é considerado como a doença que apresenta maior ameaça para esta cultura no mundo. O míldio é uma doença especialmente destrutiva na Europa e na metade Leste dos Estados Unidos, em regiões amenas e úmidas, não secas. O míldio pode afetar todas as estruturas da parte aérea da planta, como folhas, inflorescências e frutos (EL-SHARKAWY et al., 2018). Em casos extremos pode desfolhar a planta e causar perda total de produção (GESSLER et al., 2011).

No ciclo da doença, o patógeno consegue colonizar os tecidos vegetais e produzir zoosporângios (= esporângios que liberam zoósporos) que são as estruturas de propagação e dispersão espacial do microrganismo. Uma vez depositadas na superfície do tecido susceptível, o esporângio libera zoósporos biflagelados que conseguem se deslocar e penetrar até aberturas naturais (estômatos), iniciando a infecção. Assim que a penetração é concluída, os zoósporos perdem os flagelos e encistam. Um tubo germinativo é lançado e atinge a cavidade subestomática, onde se forma uma vesícula. Eventualmente, uma hifa primária emerge e se desenvolve em um micélio que se dispersa dentro do tecido formando haustórios que, por sua vez, irão invaginar e penetrar na célula do hospedeiro (KIEFER et al., 2002). A olho nu, em termos de sintomatologia, a descrição trata justamente do fenômeno que promove o aparecimento das manchas de óleo (sintomas) e da pulverulência branca (sinais), que caracterizam a doença respectivamente na parte superior e inferior da folha de videira, horas após a infecção (FIORAVANÇO et al., 2015).

¹ Fabio Rossi Cavalcanti, Eng. Agrônomo, Dr. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS; Kelly Francine Cassuba, Tecnóloga em Viticultura e Enologia, Instituto Federal de Ensino Tecnológico, Campus Bento Gonçalves, RS; João Caetano Fioravanzo, Eng. Agrônomo, Dr. em Agronomia, Pesquisador da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS.

O míldio da videira é controlado principalmente por meio de esquemas de pulverização de substâncias químicas que protegem a planta e erradicam o patógeno (GESSLER et al., 2011). A calda bordalesa (*Bordeaux mixture*, sulfato de cobre + óxido/hidróxido de cálcio) representa a primeira proteção da história da Fitopatologia, e, ainda hoje, é usada na viticultura para o controle do míldio, pulverizada sobre a copa. Outras substâncias protetoras como, por exemplo, o oxicleto de cálcio, o octanoato de cobre etc., podem ser utilizadas. Apesar de sua natureza “química” (inorgânica), substâncias à base de cobre são muito importantes na viticultura orgânica em várias regiões de produção no mundo, sendo ainda o veículo mais confiável para o controle do míldio nesse sistema (SELIM, 2013). O cobre acumula nas células do oomiceto formando compostos de coordenação com grupamentos sulfídricos, hidroxila, amino ou carboxilas presentes nas estruturas primárias de enzimas, inativando-as. Isso leva a um comprometimento generalizado do metabolismo respiratório, danos em membranas e na integridade da célula suficientes para interferir na formação do tubo germinativo. Tais danos à fisiologia do pseudofungo também são acelerados pelo aumento nas concentrações de espécies ativas de oxigênio (AOS), como os radicais superóxido (O_2^-) e hidroxila (OH^-) (STENERSEN, 2004; MIOTTO et al., 2014).

Substâncias à base de cobre, apesar de serem eficientes e amplamente recomendadas para o controle de doenças, podem causar danos ao meio ambiente. Talvez o dano mais urgente seja a questão do seu acúmulo nos solos de vinhedos, principalmente em áreas de cultivo tradicionais e mais antigas. Isso, porque o cobre aplicado como fungicida protetor de contato não é absorvido pelos tecidos vegetais, sendo carregado da planta para o solo através da ação mecânica do vento, da água da chuva ou de irrigação. Uma vez que o cobre no solo não é degradado, e possui taxas insignificantes de remoção por processos de lixiviação, escoamento superficial ou absorção por raízes, este metal se acumula e permanece indefinidamente como potencial contaminante, causando efeitos tóxicos em plantas, microrganismos e organismos do solo e de águas de mananciais, bem como na saúde animal e humana (LA TORRE et al., 2018). De acordo com Schaffer Júnior et al. (2003), doses muito altas e tóxicas do elemento cobre (acima de 100 mg de $CuSO_4$ por kg de solo) foram evidenciadas na Serra Gaúcha, no Rio Grande do Sul. Tais doses tóxicas foram interpretadas como sendo consequência direta da aplicação de fungicidas em áreas de vinhedos. A Instrução Normativa nº 17, de

18 de junho de 2014, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece que a quantidade máxima de cobre que pode ser aplicada, em qualquer uma de suas formas, não deve exceder o valor de $6 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (BRASIL, 2014), em viticultura orgânica. Esta determinação teve como finalidade regular um limite de deposição do metal no solo, como elemento utilizado na proteção de vinhedos. No mundo, quando não há a proibição, a tolerância para aplicações de cobre varia entre $0,3$ e $6 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, tanto para viticultura orgânica, quanto para o Manejo Integrado de Pragas e Doenças (MIPD) (LA TORRE et al., 2018).

As estratégias para redução do cobre usado no controle do míldio seguem em várias frentes, nos rígidos critérios da viticultura orgânica: 1) Novas formulações em tecnologia de aplicação – maximização da relação superfície/volume (micronização) para incremento da adesão da substância ativa e diminuição do escoamento para o solo, com ou sem microencapsulação do cobre; 2) Redução de dosagem e misturas – desenvolvimento e validação de substâncias baseadas em cobre, mas com seu conteúdo reduzido na formulação final, como por ex. diluições com cálcio da calda bordalesa e misturas com enxofre, ou com outras formulações além do hidróxido, como oxiclureto e octanoato (FIORAVANÇO et al., 2015); 3) Investimento em coberturas plásticas; 4) Substituição por extratos biológicos e formulações naturais, revisados por Dagostin et al. (2011) – substâncias que produzem controle biológico e/ou induzem resistência vegetal, para o controle do progresso do míldio; 5) Adoção de cultivares apresentando resistência genética e 6) Adoção de sistemas de monitoramento, favorabilidade, alerta e predição de doenças.

Com relação à viticultura convencional, outros produtos são distribuídos para o controle do míldio. A partir da segunda metade do século passado, foram disponibilizados fungicidas de baixo custo, sem cobre em suas misturas, testados para o controle do míldio, com boa eficiência no controle e reduzidos problemas de fitotoxicidade sobre as plantas. Outros fungicidas orgânicos sintéticos, competitivos, com princípios ativos como metalaxil-M, cimoxanil, benalaxil etc, são indicados até hoje para o controle do míldio. Mais recentemente, inibidores da oxidação de quinonas (Qols), como estrubirulinas e diversos inibidores da biossíntese de celulose e da polimerização de rRNA também estão certificados para aplicação no controle de oomicetos (SELIM, 2013). Substâncias baseadas em ácido fosforoso e fosfonatos (fosfitos) também são

aplicadas para o controle do *P. viticola* em vinhedos. No entanto, tais produtos são catalogados geralmente como fertilizantes foliares, mesmo exercendo função de proteção da videira contra o míldio por meio de um mecanismo misto, não completamente elucidado, sobre o patógeno e por indução de resistência vegetal (CAVALCANTI et al., 2014).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho de glucona de cobre, fosfito de cobre e oxiclreto de cálcio, substituintes à calda bordalesa para controle do míldio da videira, com potencial aplicação em qualquer modelo de viticultura. Para isso, experimentos de monitoramento de doença foram realizados para avaliar reduções no progresso de lesões e eficiência de proteção de plantas nas cultivares Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*), em casa de vegetação, e Isabel (*Vitis labrusca*) em condições de campo.

Material e Métodos

Descrição dos Experimentos

Três experimentos foram realizados no âmbito da Embrapa Uva e Vinho (Bento Gonçalves/RS) durante as safras 2015/16 e 2017/18 para monitorar a eficiência de três substâncias substituintes à calda de cobre e cálcio (mistura bordalesa).

Experimento CASA DE VEGETAÇÃO

Nesse experimento, mudas de 'Cabernet Sauvignon' de três anos e rebrotas de 45 dias foram usadas para compor as parcelas. O desenho experimental usado foi o delineamento em blocos casualizados com três repetições por tratamento. Cada bloco do experimento foi envolvido por uma gaiola de madeira individualizada, envolvida por filme plástico transparente, com um umidificador ultrassom ligado 24h na parte de dentro. O umidificador foi usado para garantir microclima favorável à infecção. Cada parcela experimental foi composta por cinco mudas em vasos de 1 L, contendo areia, vermiculita e solo peneirado nas proporções 2:1:1. Temperatura e umidade relativa do ar oscilaram entre $25 \pm 5^\circ\text{C}$ e $82 \pm 15\%$ UR, no interior da gaiola.

Os tratamentos, constituídos por produtos com menores teores de cobre do que a calda bordalesa, foram:

- 1) Glucona de cobre², na concentração 200 mL/100 L [% Cu dissolvido = 160 ppm];
- 2) Fosfito de cobre³, na concentração de 200 mL/100 L [% Cu dissolvido = 112 ppm];
- 3) Controle positivo (Ctrl+), calda bordalesa clássica a 1% (CB1010) na proporção de 10 g de Sulfato de Cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 10 g de Cal Virgem (CaO) por litro de água [% Cu dissolvido = 1.160 ppm⁴];
- 4) Controle negativo (Ctrl-), parcelas pulverizadas com água destilada.

Todos os tratamentos foram aplicados seguindo o mesmo calendário, em intervalos de quatro dias intercalados às inoculações. A submissão dos tratamentos foi feita por atomização até o ponto de escorrimento foliar. As plantas foram inoculadas por meio de pulverização com uma suspensão de zoospórângios de *Plasmopora viticola* coletados no campo e ressuspensos em água destilada em uma concentração de 10^5 esp/mL, mirando a parte inferior e superior das folhas.

Para o estudo em condições de campo, dois experimentos foram conduzidos no mesmo vinhedo 'Isabel', para verificar o rendimento de substituintes de cobre em situação de produção. Nos dois experimentos, o delineamento adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), com parcela experimental de cinco plantas por repetição e três repetições por tratamento. As parcelas foram situadas em uma fileira (espaçamento de 1 m entre plantas) com bordadura lateral mínima de cinco plantas e espaçamento de 1,5 m entre fileiras. Durante as duas safras, todos os tratamentos foram submetidos ao mesmo calendário de pulverizações, com aplicações semanais entre os meses de setembro e dezembro.

² Produto Registrado no MAPA com n° SP- 09849 10025-2, como FERTILIZANTE MINERAL SIMPLES EM SOLUCAO/SUSPENSAO.

³ Produto Registrado no MAPA com n° SP- 80319 10149-3, como FERTILIZANTE MINERAL COMPLEXO.

⁴ 1% em massa de cada componente = 10 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em 1.000 g de água = 1.160 ppm de Cu

A disposição das linhas do vinhedo foi no sentido oeste-leste, com inclinação entre 20-30° norte (GPS: -29.161956, -51.528818). As condições climáticas gerais do experimento seguiram de acordo com as Tabelas 1 e 2.

Experimento Campo 1 (2015/16)

Durante a safra de 2015/2016, o objetivo foi testar o oxiclreto de cálcio⁵ em diferentes concentrações e frequências de aplicação. Os tratamentos usados foram:

- 1) Oxiclreto de cálcio, nas concentrações de 0,5 g/L, aplicação quinzenal.
- 2) Oxiclreto de cálcio, nas concentrações de 1,0 g/L, aplicação semanal.
- 3) Oxiclreto de cálcio, nas concentrações de 1,0 g/L, aplicação quinzenal.
- 4) Controle positivo (Ctrl+), calda bordalesa clássica a 1% (CB1010);
- 5) Controle negativo (Ctrl-), parcelas pulverizadas com água destilada.

Neste experimento, o oxiclreto de cálcio foi aplicado nas parcelas por pulverizador costal até o ponto de escorrimento, a partir da emissão da inflorescência e desenvolvimento dos cachos. Durante o desenvolvimento vegetativo, as plantas foram protegidas por calda bordalesa (CB1010).

Experimento Campo 2 (2017/18)

Durante a safra de 2017/18, os tratamentos usados foram:

- 1) Glucona de cobre, na concentração 200 mL/100 L;
- 2) Fosfito de cobre, na concentração de 200 mL/100 L;
- 3) Controle positivo (Ctrl+), calda bordalesa clássica a 1% (CB1010);
- 4) Controle negativo (Ctrl-), parcelas pulverizadas com água destilada.

⁵ O oxiclreto de cálcio utilizado tem registro n° 384300009 na ANVISA como SANEANTE. Folheto comercial disponível em <https://lonzaagro.com.br/produtos/frexus-ch-fert/> alega ter teor de cálcio 20% em massa O folheto no site de um dos fabricantes é mencionada apenas para fins ilustrativos, não havendo, por parte da Embrapa e autores desta publicação, qualquer tipo de conotação comercial ou de recomendação de uso.

5) Controle positivo adicional (Ctrl+): Aplicação de [metalaxil-M + mancozeb],⁶ na concentração de 300 g/100 L.

Os produtos foram aplicados via pulverização mecanizada por turbina, em volume de calda de aproximadamente 100 L/ha.

Avaliação do progresso da Doença

Tanto o experimento em casa de vegetação quanto os de campo foram avaliados seguindo exatamente a mesma metodologia. Por inspeção visual, foram anotadas a incidência e severidade de sintomas e sinais de míldio apresentados em folhas e cachos (apenas no experimento de campo), a partir de inoculação forçada em casa de vegetação ou natural no vinhedo. Avaliações da doença foram feitas em todas as folhas de dois ramos marcados nas plantas. Na parte reprodutiva, três cachos por planta de cada parcela experimental foram selecionados para inspeção. Avaliações de sintomas/sinais foram realizadas por meio de avaliador humano validado pelo software *Rocket v 1.0* (AMPESE et al., 2017), tendo uma escala gráfica (AZEVEDO, 1998) dividida em cinco níveis como referência para cobrir 0-100% de severidade de doença. Leituras foram submetidas à transformação angular $Y_i = \arcsen [ID_{(i)}^{1/2}]$ para realização de testes de normalidade e inferências estatísticas a 5% de probabilidade. Valores de Índice de Doença (ID%) foram considerados para a quantificação de severidade de doença (CZERMAINSKI, 1999). Áreas Abaixo da Curva de Progresso de Doença (AACPDs) foram calculados de acordo com a equação $AACPD = \sum((Y_i + Y_{i+1})/2)(t_{i+1} - t_i)$, sendo t_i o i -ésimo monitoramento em dias após inoculação (DAI). Em cachos, dez cachos por repetição foram analisados por contagem de 0-100% de bagas injuriadas. Na caracterização, foram consideradas as bagas murchas e danificadas pelo grão preto ou míldio larvado, seguindo a mesma metodologia de análise adotada para parte vegetativa. Percentagens de proteção (%) foram definidas como sendo a AACPD do tratamento testado sobre a AACPD do Ctrl-.

Na avaliação dos tratamentos de oxiclreto de cálcio (safra 2015/16), foram considerados também danos causados por *Glomerella cingulata*, causador

⁶ Registrado no MAPA/Agrofit, como PRODUTO FORMULADO sob nº 09599.

Tabela 1. Condições ambientais gerais para os experimentos de Campo 1. Estação Meteorológica Automática - Embrapa Uva e Vinho - Bento Gonçalves-RS, Lat. 29°09'S; Lon. 51°31'O; Alt. 640 m, safra 2015/2016.

Parâmetro	Mês/Ano											
	Set/15	Out/15	Nov/15	Dez/15	Jan/16	Fev/16						
T. máx. do ar (média do mês / normal) (°C)	20,5	20,4	21,3	22,8	23,1	24,8	25,9	26,7	28,4	27,8	28,0	27,5
T. mín. do ar (média do mês / normal) (°C)	11,4	10,6	13,1	12,3	14,9	14,2	17,6	16,0	18,6	17,3	19,1	17,3
T. méd. do ar (média do mês / normal) (°C)	15,4	14,9	16,8	17,0	18,5	18,9	21,2	20,7	22,8	21,8	22,6	21,7
Precip. pluviom. (total do mês / normal) (mm)	250	185	279	156	145	140	198	144	115	140	146	139
Umidade relativa do ar (média do mês) (%)	78,3	-	83,2	-	80,5	-	81,5	-	73,0	-	79,0	-

Fonte: A estação meteorológica utilizada neste estudo pertence à rede de estações do Instituto Nacional de Meteorologia (<http://www.inmet.gov.br>)

Tabela 2. Condições ambientais gerais para os experimentos de Campo 2. Estação Meteorológica Automática - Embrapa Uva e Vinho - Bento Gonçalves-RS, Lat. 29°09'S; Lon. 51°31'O; Alt. 640 m, safra 2017/2018.

Parâmetro	Mês/Ano											
	Set/17	Out/17	Nov/17	Dez/17	Jan/18	Fev/18						
T. máx. do ar (média do mês / normal) (°C)	24,6	20,4	22,7	22,8	24,2	24,8	27,6	26,7	26,7	27,8	27,1	27,5
T. mín. do ar (média do mês / normal) (°C)	14,8	10,6	13,5	12,3	13,1	14,2	17,0	16,0	17,5	17,3	16,7	17,3
T. méd. do ar (média do mês / normal) (°C)	19,1	14,9	17,7	17,0	18,2	18,9	21,7	20,7	21,4	21,8	21,0	21,7
Precip. pluviom. (total do mês / normal) (mm)	106	185	184	156	162	140	104	144	146	140	86	139
Umidade relativa do ar (média do mês) (%)	74,3	-	75,6	-	70,4	-	72,6	-	77,4	-	73,6	-

Fonte: A estação meteorológica utilizada neste estudo pertence à rede de estações do Instituto Nacional de Meteorologia (<http://www.inmet.gov.br>)

da podridão da uva madura, e *Botrytis cinerea*, causador da podridão cinzenta. No entanto, tais lesões não foram contabilizadas para efeito estatístico.

Avaliação de Viabilidade de esporângios

Para avaliar a viabilidade de zoosporângios de *P. viticola* e sua capacidade de lançamento de zoósporo após a exposição aos substituintes ao cobre, foi obtida uma suspensão de esporângios (10^5 esp/mL), a partir de pulverulências frescas encontradas em folhas não tratadas, inoculadas artificialmente com o oomiceto. Em seguida, alíquotas dessa suspensão foram expostas às substâncias testadas, em lâminas escavadas, as quais foram deixadas em caixa *gerbox*. Inspeções sobre as estruturas e contagens foram realizadas nas lâminas escavadas, por microscópio óptico (MO), com aumento de 400x. Após 15 h, as contagens foram registradas como uma variação (Δ) entre zoosporângios cheios (C), inativados pelo produto, menos os vazios (V), ativos: [$\Delta = C - V$]. Foram feitas médias das contagens de quatro quadrantes em câmara de Neubauer, um total de $n = 100$ zoosporângios. Zoosporângios expostos a água destilada foram considerados como testemunhas (Ctrl-).

Avaliação Enoquímica

Nos experimentos de campo da safra 2017/2018, cachos das parcelas experimentais foram coletados, embalados, identificados e armazenados a -20°C para determinação de variáveis enoquímicas. Tais variáveis foram selecionadas para indicar alterações fisiológicas em frutos submetidos aos diferentes tratamentos protetores estudados, durante o estágio de maturação. Após o descongelamento das bagas, o mosto foi extraído dentro dos próprios sacos plásticos por simples maceração. A fração líquida do mosto de cada amostra foi transferida para béqueres identificados para análises de pH, °Brix e acidez total. Para obtenção do pH das amostras, realizou-se a leitura em potenciômetro previamente calibrado (OIV, 2018: OIV-MA-AS313-15:R2011). Graus Brix (°Brix) das amostras foram determinados com o auxílio de um refratômetro de bancada (OIV, 2018: OIV-MA-AS2-02:R2012). Acidez total (mEq/L) foi obtida através da titulometria de neutralização (OIV, 2018: OIV-MA-E-AS313-01:R2015).

Tanto para avaliação dos dados gerados em casa de vegetação, no experimento de campo e das determinações enoquímicas, estatísticas descritivas, testes de Normalidade, ANOVA, testes t de Student, testes F e Tukey foram analisados por uso de softwares devidamente certificados.

Resultados e Discussão

Em abordagem inicial, as substâncias com teores reduzidos de cobre (glucona de cobre e fosfito de cobre), foram avaliados como protetores da videira contra o míldio em condições controladas de casa de vegetação. Foi possível verificar, nessas condições, proteções das plantas atingindo 71,38%, com glucona de cobre e 61,81% com fosfito de cobre (Figura 1), comparáveis com a proteção do controle (Ctrl+), calda bordalesa (CB1010). Todas as substâncias testadas produziram diferenças significativas ($P < 0,05$), em comparação à testemunha (Ctrl-), em termos de área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD) (Figura 2).

Para os produtos testados na parte vegetativa e reprodutiva da videira, em condições do Experimento Campo 2 - vinhedo (cv. Isabel), durante a safra 2017/2018 - foram verificadas proteções intermediárias obtidas por ambos os produtos, entre 41-42%, contra o míldio (Figura 3). A calda bordalesa, na safra estudada, não conferiu proteção adequada para as parcelas submetidas a esse tratamento (Figura 3). No entanto, a AACPD da calda (CB1010) não diferiu estatisticamente dos substituintes (glucona de cobre e fosfito de cobre), com $P < 0,05$ (Figura 4), nas avaliações envolvendo a parte vegetativa (folhas). A glucona de cobre (usada a 160 ppm de Cu) é um produto que é comercializado como fertilizante foliar, à base de cobre e enxofre complexado ao ácido glucônico. O ácido glucônico é um produto da oxidação da glicose com aplicações farmacêuticas, como um potencializador de reações de absorção em tecidos (RAMACHANDRAN et al., 2006). Já o fosfito de cobre é um produto baseado em cobre (usada a 120 ppm de Cu), aditivado com fosfitos e enxofre, também vendido como fertilizante foliar. Fosfitos possuem um duplo modo de ação na proteção de plantas: atuando diretamente pela formação de poros celulares por danos na membrana e na parede celular da hifa (de patógenos), ou por ativação de mecanismos de defesa vegetal (CAVALCANTI et al., 2014). Os tratamentos com substituintes ao cobre foram

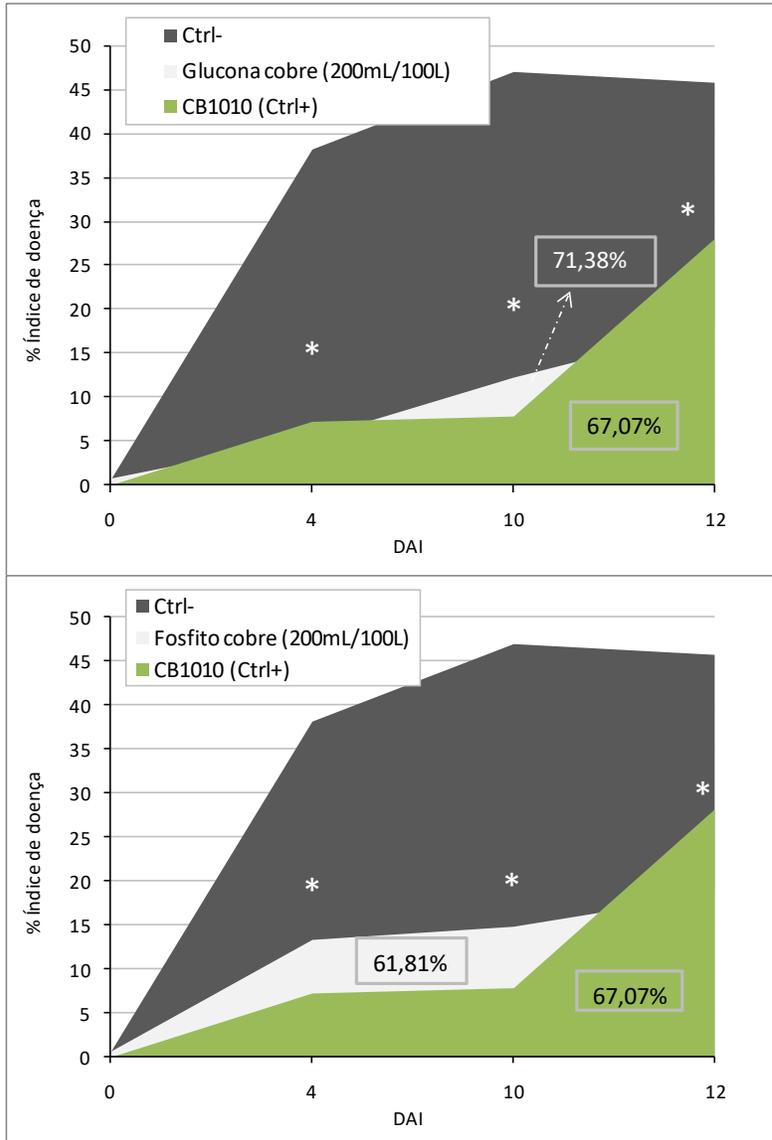


Figura 1. Avaliação do progresso do míldio e percentagem de proteção (valores nas caixas) em folhas de videira, cv. Cabernet Sauvignon, em casa de vegetação (Experimento Casa de Vegetação). Asteriscos dentro de cada dia de avaliação representam valores médios diferentes entre tratamento e Ctrl-, de acordo com o teste t (Student) a um nível de significância de 5%.

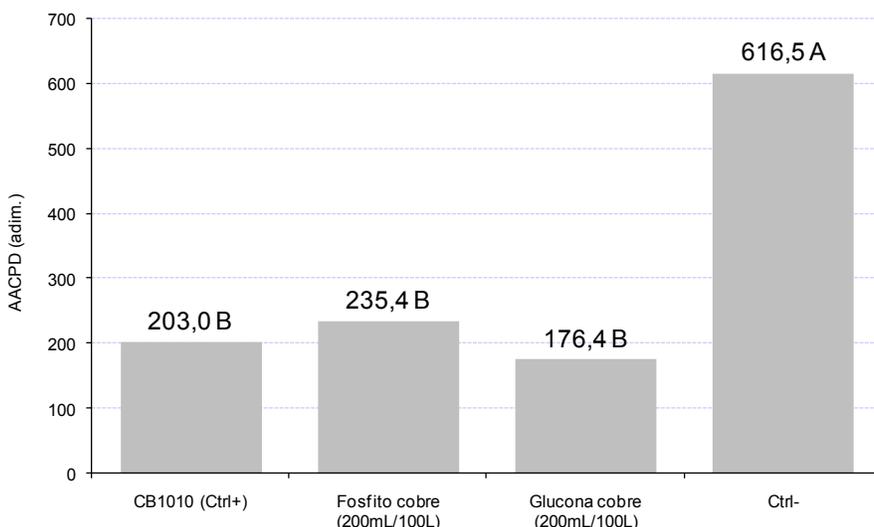


Figura 2. Áreas abaixo da curva de progresso do míldio (AACPD) em folhas de videira, cv. Cabernet Sauvignon, (Experimento Casa de Vegetação). Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

incorporados ao calendário de pulverizações do vinhedo, juntamente com as duas formulações que serviram como controle positivo (Ctrl+): metalaxil-M + mancozeb e calda bordalesa (CB1010) com 1.160 ppm de Cu (Figura 4).

Considerando as performances das substâncias testadas na safra 2017/2018 (Experimento Campo 2) na proteção dos cachos contra os danos causados pelo míldio, não foram vistas diferenças significativas entre a calda bordalesa (CB1010) e os substituintes testados (Figura 5). No entanto, todas as substâncias baseadas em cobre, inclusive a calda bordalesa (Ctrl+, CB1010), obtiveram desempenhos significativos ($P < 0,05$) entre o Ctrl+ sintético e as parcelas desprotegidas (Ctrl-) (Figura 6). O produto baseado em glucona de cobre atingiu 77,81% de proteção de cachos, repetindo os desempenhos em casa de vegetação e em campo, na parte vegetativa (Figura 5), com eficiência acima de 70%, competitivos em situação de viticultura orgânica.

Parcelas experimentais com plantas adultas 'Isabel', do mesmo vinhedo, (Experimento Campo 1) foram avaliadas com relação a respostas de prote-

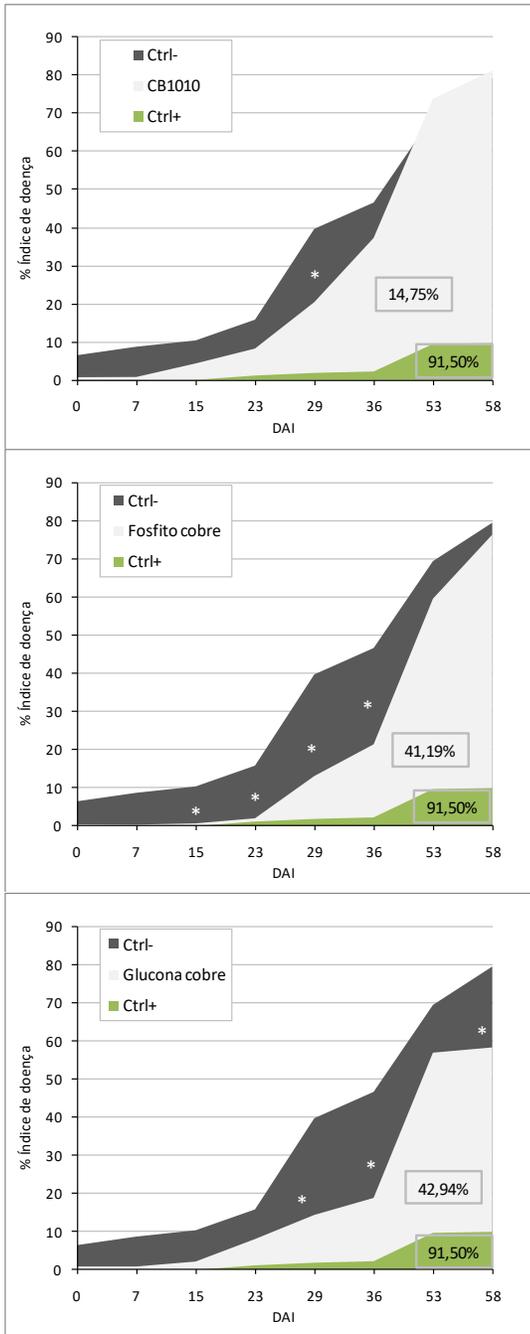


Figura 3. Avaliação do progresso do míldio e percentagem de proteção (valores nas caixas) em folhas de videira em vinhedo cv. Isabel, (Experimento Campo 2) em 2017/18, em condições de campo. Asteriscos dentro de cada dia de avaliação representam valores diferentes entre tratamento e Ctrl-, de acordo com o teste t (Student) a um nível de significância de 5%.

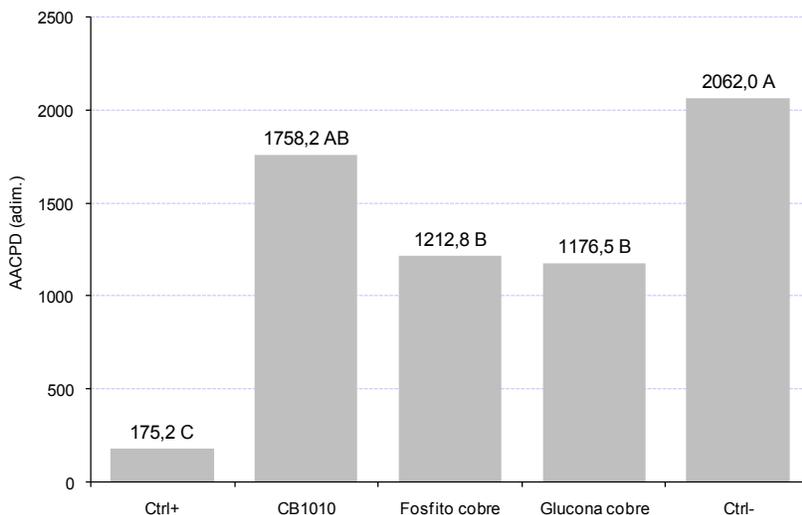


Figura 4. Áreas abaixo da curva de progresso do míldio (AACPD) em folhas de videira em vinhedo cv. Isabel, (Experimento Campo 2) em condições de campo, em 2017/18. Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

ção dadas por duas concentrações (0,5 g/L e 1,0 g/L) e frequências (semanal e quinzenal) de aplicação de oxicleto de cálcio em experimento controlado durante a safra de 2015/2016 (Figura 7). Com esse experimento, verificou-se que o tratamento de oxicleto de cálcio, a partir do lançamento da inflorescência, promoveu um nível discreto de proteção dos frutos, mesmo considerando a maior frequência de aplicação, semanal (Figuras 7 e 8). Como esperado, os demais tratamentos, com frequência quinzenal de aplicação, demonstraram menores percentuais de proteção (Figura 7). O experimento também atestou que a concentração de 1,0 g/L é a mais recomendada.

Resultados da avaliação Enoquímica

Com a coleta dos cachos do Experimento Campo 2, da safra 2017/18 ao final do trabalho (fevereiro/18), foram determinadas as características enoquímicas do mosto das bagas expostas aos substituintes: glucona de cobre e fosfito de cobre (Tabela 3). Em comparação, com as bagas coletadas das

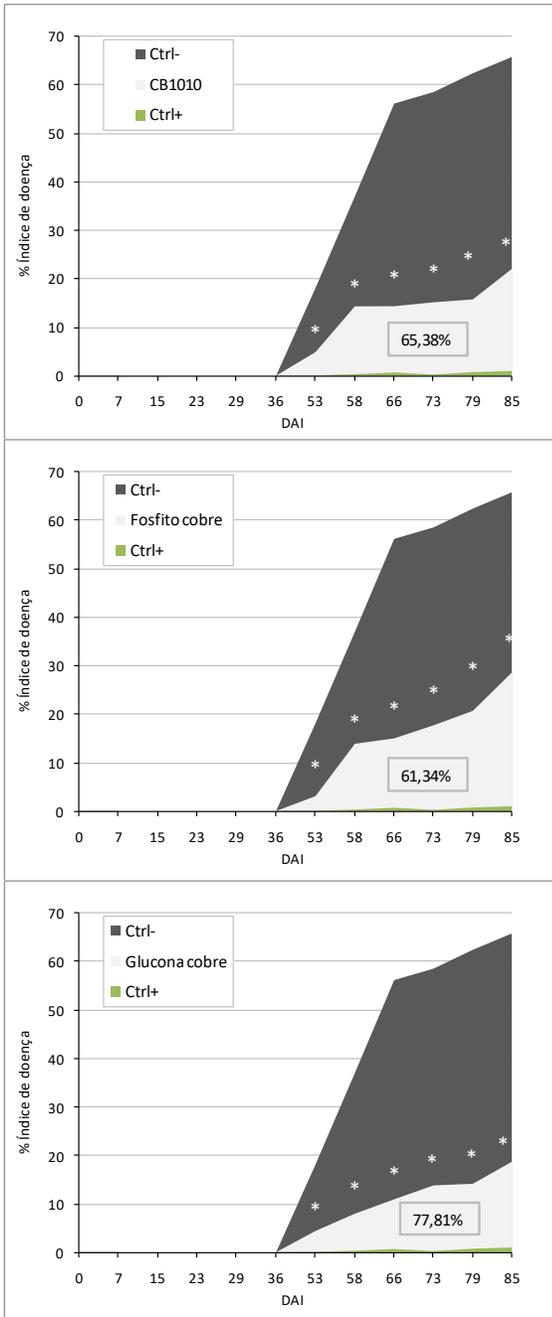


Figura 5. Avaliação do progresso do míldio larvado e percentagem de proteção (valores nas caixas) em cachos de videira, cv. Isabel, em 2017/18, em condições de campo (Experimento Campo 2). Asteriscos dentro de cada dia de avaliação representam valores diferentes entre tratamento e Ctrl-, de acordo com o teste t (Student) a um nível de significância de 5%.

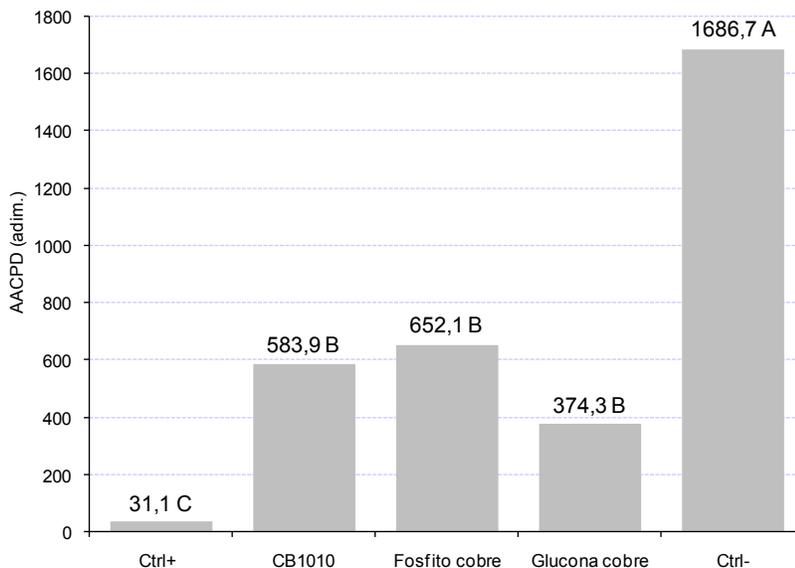
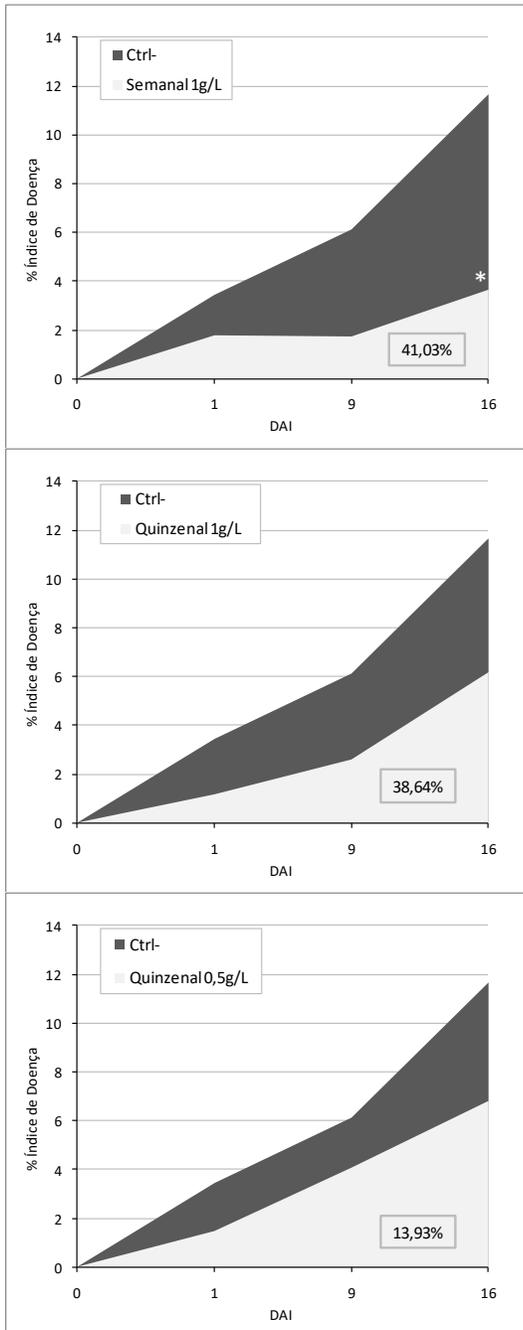


Figura 6. Áreas abaixo da curva de progresso do míldio (AACPD) em cachos de videira, cv. Isabel, em condições de campo, em 2017/18 (Experimento Campo 2). Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

plantas testemunhas (Ctrl-), foi obtido mosto contendo significativamente ($P < 0,05$) menores teores de acidez total (mEq/L), à exceção das coletadas de cachos protegidos por glucona de cobre, que não revelaram valores significativamente ($P < 0,05$) diferentes aos apresentados pelas das testemunhas. Tal resposta em acidez total também se refletiu nos teores de pH do mosto obtido dessas bagas (Tabela 1). Por outro lado, tais bagas protegidas por glucona de cobre atingiram valores de °Brix equivalentes ($P > 0,05$) às coletadas de cachos protegidos por metalaxil-M + mancozeb (Ctrl+). O mosto obtido de cachos em parcelas protegidas mostraram teores de °Brix incrementados, à exceção dos cachos de plantas em parcelas que receberam a calda bordalesa (CB1010) (Tabela 3).



Resultados da viabilidade de Esporângios

A ação direta das substâncias substituintes ao cobre sobre esporângios frescos coletados de folhas infectadas não tratadas foi avaliada, para verificação de possíveis danos sobre as estruturas do patógeno (Figura 9). De acordo com as contagens feitas na inspeção visual em MO, duas substâncias promoveram ação direta sobre a viabilidade do zoosporângio na liberação de zoósporos para o meio aquoso, o fosfito de cobre (200 mL/100 L) que produziu uma paralisação de 66,4% ($\Delta = 32,8$) em média de 100 esporângios por quadrante em lâmina escavada, e a

Figura 7. Avaliação do progresso do míldio e percentagem de proteção (valores nas caixas) em plantas de videira em vinhedo cv. Isabel, em 2015/16 (Experimento Campo 1) em condições de campo. Asteriscos dentro de cada dia de avaliação representam valores diferentes entre tratamento e Ctrl-, de acordo com o teste t (Student) a um nível de significância de 5%.

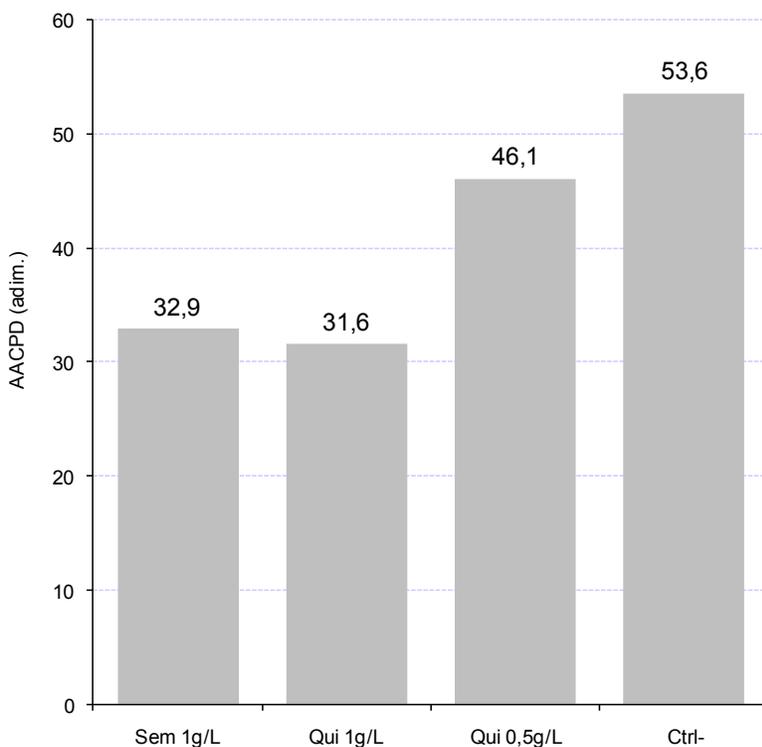


Figura 8. Áreas abaixo da curva de progresso da podridão cinzenta do cacho (AACPD) em plantas de videira, cv. Isabel, (Experimento Campo 1) sobre as diferentes programações (períodos e dose) das aplicações de oxicloretto de cálcio. Não foram observadas diferenças entre as médias, de acordo com o teste de Tukey ($P > 0,05$)

Tabela 3. Características enoquímicas do mosto, após o calendário de proteção contra o míldio 2017/2018 (Experimento Campo 2) em cachos de videira cv. Isabel.

Tratamentos ^(*)	Acidez Total (mEq/L)	pH	°Brix
Ctrl(-)	98,44 A	2,99 C	15,06 C
Ctrl(+)	81,44 B	3,18 A	18,57 A
CB1010	81,40 B	3,12 BC	15,12 C
Fosfito de cobre	80,72 B	3,15 B	16,75 BC
Glucona de cobre	92,10 AB	3,11 BC	17,31 AB

(*) Médias seguidas por letras distintas são significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$).

calda bordalesa (CB1010), com $\Delta = 7,5$. O fosfito de cobre e a calda bordalesa produziram diferenças significativas entre si, com relação a inibições de viabilidade de esporângio ($P < 0,05$). Por outro lado, a glucona de cobre não produziu inibição significativa do lançamento de zoósporos para o meio aquoso, com relação aos zoosporângios expostos à água destilada (Ctrl-). No entanto, 15 horas após exposição aos tratamentos (HAT), não foram observadas atividades de zoósporos em amostras expostas à glucona de cobre, mostrando que, embora essa substância pareça ter pouca atividade sobre o zoosporângio, ela inibe a atividade de zoósporos. Neste ensaio in vitro, atividades de zoósporos foram observadas apenas em cavidades com estruturas do patógeno expostas à água destilada (Ctrl-) (Figura 9).

Até o conhecimento, não há trabalhos estudando mecanismos específicos de inibição em estruturas de dispersão de *Plasmopara viticola*. Provavelmente, os mecanismos de inibição remontem àqueles comentados na Introdução do presente trabalho: bloqueio respiratório, danos em membranas celulares, inibição enzimática e explosão oxidativa. Também não foram encontrados evidências, em oomicetos, da existência de sistemas de tolerância celular ao cobre, presentes em outros microrganismos (como bactérias), tais como bombas de eliminação de cobre do protoplasma mediadas a ATPases, proteínas ligantes ao cobre e oxidases de cobre I para II, como as presentes em espaços periplasmáticos de bactérias gram-negativas (LA TORRE et al., 2018).

Conclusões

Glucona de cobre e fosfito de cobre demonstram proteção do vinhedo ao míldio em níveis equivalentes aos garantidos pela calda bordalesa. Ambos os produtos são baseados em concentrações reduzidas de cobre (menores do que 10% do produto), com aditivos associados à ativação de respostas vegetais de defesa contra patógenos e/ou inibição direta sobre estruturas de infecção de *Plasmopara viticola*. Tais substituintes podem contribuir para a redução de inserções de cobre em vinhedos com histórico de utilização frequente desse elemento como fungicida de contato.

Oxicloreto de cálcio, mesmo aplicado semanalmente a 1 g/L, não promove percentuais seguros de proteção da videira contra o míldio.

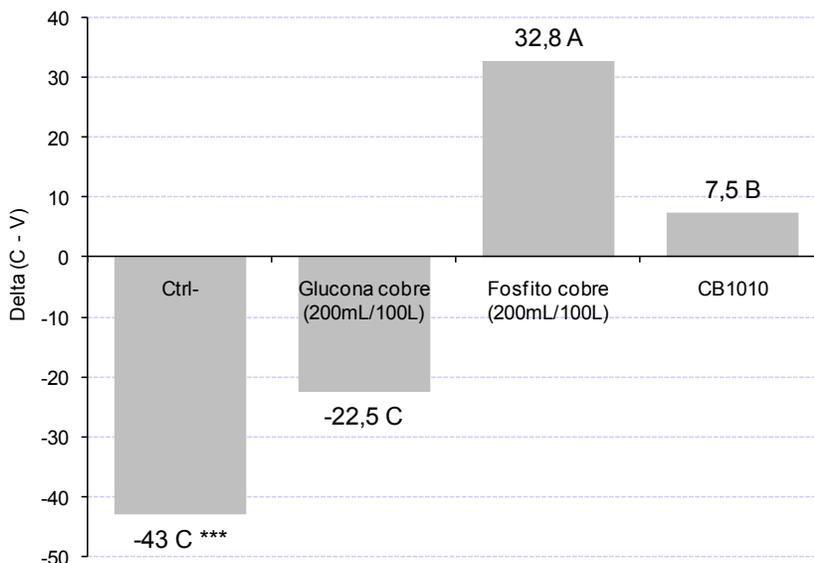


Figura 9. Viabilidade de esporângio sadios (frescos) de *P. viticola* e do lançamento de zoósporos em meio aquoso. Valores seguidos com as mesmas letras não diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey ($P > 0,05$). Asteriscos indicam (***) altíssima atividade, de zoósporos após 15 HAT.

Referências Bibliográficas

AMPESE, L. C.; LOBATO, A.; CAVALCANTI, F. R. ROCKET: ferramenta para validar a detecção visual de um avaliador. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2017; ENCONTRO DE PÓS-GRADUANDOS DA EMBRAPA UVA E VINHO, 11., 2017, Bento Gonçalves.

Resumos... Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2017. p. 56. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 103).

AZEVEDO, L. A. S. de. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: Novartis Biociências, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 17, de 18 de junho de 2014. Estabelece o regulamento técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção, bem como as listas de substâncias e práticas permitidas para uso nos Sistemas Orgânicos de Produção. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 20 jun. 2014. Seção 1, p. 32. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-17-de-18-de-junho-de-2014.pdf/view>>. Acesso em: 28 out. 2019.

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

CZERMAINSKI, A. B. C. Generalização de um índice de intensidade de infecção em experimentos de avaliação de doenças em plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 9, p. 1545-1555, set. 1999.

DAGOSTIN, S.; SCHARER, H-J; PERTOT, I.; TAMM, L. Are there alternatives to copper for controlling grapevine downy mildew in organic viticulture? **Crop Protection**, v. 30, n. 7, p. 776-788, July 2011. Doi: 10.1016/j.cropro.2011.02.031

EL-SHARKAWYL, H. H. A.; ABO-EL-WAFA, T. S. A.; IBRAHIM, S. A-A. Biological control agents improve the productivity and induce the resistance against downy mildew of grapevine. **Journal of Plant Pathology**, v. 100, n. 1, p. 33-42, April 2018.

FIORAVANÇO, J. C.; HUNOFF, T. S.; ZILIO, R. A.; CAVALCANTI, F. R. **Alternativas para redução de cobre em caldas usadas no controle do míldio da videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2015, 8 p. (Embrapa Uva e Vinho. Comunicado Técnico, 119). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/130797/1/Circular-Tecnica-119.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2019.

GESSLER, C.; PERTOT, I.; PERAZZOLLI, M. Plasmopara viticola: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 50, n. 1, p. 3-44, April 2011. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-9360.

KIEFER, B.; RIEMANN, M.; BUCHE, C.; KASSEMAYER, H-H.; NICK, P. The host guides morphogenesis and stomatal targeting in the grapevine pathogen Plasmopara viticola. **Planta**, v. 215, n. 3, p. 387-393, July 2002.

LA TORRE, A.; IOVINO, V.; CARADONIA, F. Copper in plant protection: current situation and prospects. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 57, n. 2, p. 201-236, Sept. 2018. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-23407.

MIOTTO, A.; CERETTA, C. A.; BRUNETTO, G.; NICOLOSO, F. T.; GIROTTO, E.; FARIAS, J. G.; TIECHER, T. L.; DE CONTI, L.; TRENTIN, G. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. **Plant and Soil**, v. 374, n. 1-2, p. 593-610, Jan. 2014.

OIV. International Organization of Vine and Wine. Technical standards and documents. Methods of analysis. **Compendium of International Methods of Analysis of Wine and Musts**. Vol. 1. Paris: OIV, 2018. Disponível em: <<http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/methods-of-analysis/compendium-of-international-methods-of-analysis-of-wines-and-musts-2-vol>>. Acesso em: 28 out. 2019.

RAMACHANDRAN, S.; FONTANILLE, P.; PANDEY, A.; LARROCHE, C. Gluconic Acid: Properties, Applications and Microbial Production. **Food Technology and Biotechnology**, v. 44, n. 2, p. 185-195, 2006.

SELIM, M. **Elicitation of grapevine defense responses against Plasmopara viticola, the causal agent of downy mildew**. 246 f. Tese (Doutorado em Dr. rer Nat.) - Universidade Justus Liebig Gießen (JLU), Gießen, Alemanha, 2013.

SCHÄFER JÚNIOR, A.; MELO, G. W. de; CÉSARO, A. de. Influência do excesso de cobre em dois tipos de solo sobre o porta-enxerto Paulsen 1103 em casa de vegetação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 10.; SEMINÁRIOS CYTED: INFLUÊNCIA DA TECNOLOGIA VITÍCOLA E VINÍCOLA NA COR DOS VINHOS, 1., 2003, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 175. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 40).

STENERSEN, J. **Chemical pesticides**: mode of action and toxicology. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2004.

Exemplares desta edição
podem ser adquiridos na:

Embrapa Uva e Vinho

Rua Livramento, 515 - Caixa Postal 130
95701-008 Bento Gonçalves, RS

Fone: (0xx) 54 3455-8000

Fax: (0xx) 54 3451-2792

www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

Publicação digitalizada (2019)



Comitê Local de Publicações
da Embrapa Uva e Vinho

Presidente

Adeliano Cargnin

Secretário-Executivo

Edgardo Aquiles Prado Perez

Membros

João Henrique Ribeiro Figueredo, Jorge Tonietto,

Klecius Ellera Gomes, Luciana Mendonça Prado,

Nubia Poliana Vargas Gerhardt, Rochelle Martins

Alvorcem, Viviane Maria Zanella Bello Fialho

Supervisão editorial

Klecius Ellera Gomes

Revisão de texto

Edgardo Aquiles Prado Perez

Normalização bibliográfica

Rochelle Martins Alvorcem CRB10/1810

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Edgardo Aquiles Prado Perez

Foto da capa

Viviane Maria Zanella Bello Fialho