

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

CLAUDEMAR HELMUTH HERPICH

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Botrytis cinerea* EM VIDEIRA PELO USO DE
BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS E EPIFÍTICAS DA FILOSFERA DE VIDEIRA**

**LAGES
2022**

CLAUDEMAR HELMUTH HERPICH

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *Botrytis Cinerea* EM VIDEIRA PELO USO DE
BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS E EPIFÍTICAS DA FILOSFERA DE VIDEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Ph.D Amauri Bogo.
Co-orientador: Dr. Leocir José Welter.

LAGES

2022

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Herpich, Claudemar Helmuth
CONTROLE BIOLÓGICO DE Botrytis Cinerea EM
VIDEIRA PELO USO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS E
EPIFÍTICAS DA FILOSFERA DE VIDEIRA / Claudemar
Helmuth Herpich. -- 2022.
70 p.

Orientador: Amauri Bogo
Coorientador: Leocir José Welter
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages,
2022.

1. Viticultura. 2. Bactérias associadas. 3. Antibiose
bacteriana. 4. Podrião-cizenta-da-uva. I. Bogo, Amauri . II.
Welter, Leocir José . III. Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Produção Vegetal. IV. Título.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dávida da vida e pelas oportunidades que tem me proporcionado.

Ao prof. Ph.D Amauri Bogo, pela orientação, compreensão nos momentos difíceis e parceria durante o curso, tornando possível este momento;

Ao prof. Dr. Leocir José Welter, pela coorientação, pelas oportunidades, parceria e companheirismo durante a vida acadêmica, amizade, paciência, persistência e dedicação, o meu muito obrigado!

A UDESC, em especial aos professores do programa de pós-graduação em Produção Vegetal, pelos ensinamentos e companheirismo.

A UFSC, campus de Curitibanos, local aonde conduzi meus experimentos, aprendi e construí grandes amizades.

Ao Grupo de pesquisa NEUVIN e LMCP Campus de Curitibanos pela parceria durante o período acadêmico.

A FAPESC e CAPES pela concessão de bolsas.

Aos meus pais, Carlos e Marlene e minhas irmãs Carolina e Graciela por me influenciar nos estudos e exemplo de bons profissionais. Meus alicerces!

A minha namorada Jennifer Richter pelo apoio, minha inspiração e meu orgulho! Sempre serás o meu maior troféu de toda a minha vida!

Aos meus sinceros amigos, em especial aos envolvidos em minha vida acadêmica que sempre torceram por meu sucesso, saibam que estão em meu coração e que desejo tudo em dobro a vocês.

A todos meu muito obrigado!!!

RESUMO

As regiões de altitude de Santa Catarina têm elevado potencial para a viticultura. Devido às condições de elevada precipitação, um dos maiores desafios dos produtores é o controle de podridões de bagas, em especial a podridão-cinzenta-da-uva causada pelo fungo *Botrytis cinerea* (De Bary) Whetzel, 1945 (mofo cinzento). O emprego contínuo de fungicidas no controle de *B. cinerea* em videira tem elevado os custos de produção, bem como ocasionam impactos negativos na pressão de seleção, ao ambiente e à saúde humana. O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial de bactérias epífitas e endofíticas isoladas de videira no controle da podridão-cinzenta-da-uva. As bactérias foram isoladas de diferentes partes de plantas obtidas de vinhedos comerciais do planalto central de Santa Catarina, isoladas de órgãos e tecidos vegetais (epífitas) e de tecidos internos (endofíticas) de folhas de videira; enquanto que *B. cinerea*, foi a partir de cachos de uva com sintomas da doença. Os experimentos foram conduzidos em duas etapas *in vitro* e *in vivo*. Na fase *in vitro*, foram realizadas identificações e testes de antibiose dos isolados bacterianos contra o *B. cinerea* em placas de Petri (90 mm). O material foi acondicionado em câmara de crescimento tipo “biochemical oxygen demand” (BOD) com temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 h de luz. Os isolados bacterianos foram selecionados com base em avaliações da amplitude (cm) do halo de inibição. Na fase *in vivo*, foram realizados testes de antibiose em bagas destacadas a partir de cachos de uva coletados na maturação fisiológica da variedade ‘Suavignon Blanc’, com os seguintes tratamentos: 1) água destilada esterilizada (testemunha); 2) fungicida Eco-Shot® (controle biológico comercial); 3) Isolado (s) bacteriano (s) com maior potencial de antibiose obtidos nos ensaios *in vitro*. As bagas foram inoculadas previamente com esporos de *B. cinerea* na concentração aproximada de $1,0 \times 10^6$ conídios. mL⁻¹, 24h antes da pulverização com os tratamentos. Os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições. Testes bioquímicos de glicose, lactose, lisina, indol, oxidase e fermentação (OF), citrato, indol e uréia foram realizados. Os dados foram submetidos a análise de variação ANOVA e quando significativo ao teste de separação de médias de Scott-Nott a 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR versão 5.6. Foram obtidos 52 isolados bacterianos morfológicamente diferentes de acordo com as características de coloração e rugosidade, sendo 31 de origem epífitas e 21 endofíticas. Destes isolados, nove epífitas e cinco endofíticas obtiveram significativamente o maior potencial de

biocontrole sobre *B. cinerea* no teste *in vitro*. Os isolados bacterianos UEN 13, UEN 14, UEP 38, UEP 40, UEP 43 e UEP 51 foram os que apresentaram os melhores valores de antibiose em testes *in vivo* com bagas destacadas de uva, corroborando com os resultados obtidos no teste *in vitro* onde os mesmos isolados bacterianos apresentaram efeito de biocontrole sobre *B. cinerea* em relação a testemunha negativa. Bactérias endofíticas e epifíticas da filosfera de videira possuem efeito de biocontrole sobre *B. cinerea*.

Palavras-chave: Viticultura, Bactérias associadas, Antibiose bacteriana, Podridão-cinzenta-da-uva.

BIOLOGICAL CONTROL OF BOTRYTIS CINEREA IN VINE BY THE USE OF ENDOPHYTIC AND EPIPHYTIC BACTERIA FROM THE VINE PHILOSPHERE

The altitude regions of Santa Catarina have high potential for viticulture. Due to high rainfall conditions, one of the biggest challenges for growers is the control of rot, especially those caused by the pathogen *Botrytis cinerea*. The continuous use of fungicides in the control of *Botrytis cinerea* in the vine raises production costs, as well as causing negative impacts to the environment and human health. The present study aimed to evaluate the potential of bacteria isolated from grapevines to control grape rot (*Botrytis cinerea*). All microorganisms were isolated from different parts of plants obtained from commercial vineyards in the Planalto Central de Santa Catarina. The phytopathogen was isolated from bunches with symptoms of the disease. While surface (epiphytic) and internal tissue (endophytic) bacteria of vine leaves. Bacterial isolates were obtained from plants with and without symptoms of Grape Gray Rot. The project was carried out in two stages. In the first isolation, identification and *in vitro* antibiosis tests of bacterial isolates against the phytopathogen in Petri dishes (90 mm). The material was conditioned in BOD with a temperature of 25 ± 1 °C and a photoperiod of 12 h of light. Bacterial isolates were selected based on inhibition halo (cm) assessments. In the second, *in vivo* antibiosis tests were carried out on berries detached from bunches collected in the technological maturation of the 'Suavignon Blanc' variety. Comparing the following treatments: 1) sterile distilled water (control); 2) Eco-Shot® fungicide (commercial biological control); 3) Bacterial isolate(s) with the highest potential for antibiosis *in vitro*. Berries were inoculated preventively with *B. cinerea* spores (10^6 conidia. mL⁻¹) 24h before spraying with the treatments. For both stages of the experiment, the experimental design was completely randomized. Biochemical tests of Glucose, Lactose, Lysine, Indole, OF, Citrate and Urea were performed. Subsequently submitted to ANOVA when significant to the Scott-Nott mean separation test at 5% probability, using the SISVAR software version 5.6. A total of 52 morphologically different bacterial isolates were isolated, 31 of epiphytic and 21 of endophytic origin. Of these isolates, nine epiphytic and five endophytic had significantly the highest potential for biocontrol over *B. cinerea* in the *In vitro* test in the first experiment. While in the second selection, the bacterial isolates UEN 13, UEN 14, UEP 38, UEP 40, UEP 43, UEP 51 stood out. This corroborates the results obtained in the *In vivo* test, where the same bacterial isolates showed a biocontrol effect on *B. cinerea* in relation to

the negative control inoculated with the phytopathogen. Endophytic and epiphytic bacteria of the vine phyllosphere have a biocontrol effect on *B. cinerea*.

Keywords: Viticulture, Associated bacteria, Bacterial antibiosis, Grape gray rot.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Centro de origem das espécies do gênero <i>Vitis</i> | 13 |
| Figura 2 - Ciclo de vida de <i>Botrytis cinerea</i> em videiras | 20 |
| Figura 3 - Plantas de videira da cv. Sauvignon Blanc usadas para coleta de <i>Botrytis cinerea</i> | 27 |
| Figura 4 – Micélio pulverulento de <i>Botrytis cinerea</i> em bagas de uva cv. Sauvignon Blanc. | 28 |
| Figura 5 - Morfologia da estrutura reprodutiva de conídios e conidióforos de <i>Botrytis cinerea</i> visualizada em micorscopia de varredura de campo claro. | 29 |
| Figura 6 - Diagrama do isolamento de bactérias denominadas “epifíticas”. | 32 |
| Figura 7 - Diagrama do isolamento de bactérias denominadas “endofíticas” (imagem meramente ilustrativa)..... | 34 |
| Figura 8 - Procedimento de armazenamento de bactérias. A. Isolado bacteriano pronto para ser armazenado. B. Repicagem de uma colônia individual para LB líquido em tubos de ensaio. C. Tubos criogênicos com a solução de LB líquido e glicerol após crescimento bacteriano. | 35 |
| Figura 9 - Placa de Petri usada para coleta de <i>Botrytis cinerea</i> | 37 |
| Figura 10 - Bagas de S. Blanc após perfuração para recebimento dos tratamentos | 38 |
| Figura 11 - Preparo de meios de cultivo usados para os testes bioquímicos | 40 |
| Figura 12 - Incidência de <i>B. cinerea</i> nos dias 3, 5 e 7 dias após a inoculação de <i>Botrytis cinerea</i> em bagas destacadas. | 49 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabela 1- | Primeira análise (“screening”) de antibiose de isolados bacterianos epífitos à <i>B. cinérea</i> | 42 |
| Tabela 2- | Primeira análise (“screening”) de antibiose de isolados bacterianos endofíticos à <i>B. cinerea</i> | 44 |
| Tabela 3- | Segunda análise de antibiose dos isolados bacterianos à <i>B. cinérea</i> | 45 |
| Tabela 4- | Testes bioquímicos efetuados nos isolados bacterianos após 48 hrs de crescimento em meio de cultura específico. | 47 |
| Tabela 5- | Valores em porcentagem de incidência do fitopatógeno sobre as bagas. | 47 |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 13 |
| 2.1 | IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL DA VIDEIRA | 13 |
| 2.2 | CULTIVAR SAUVIGNON BLANC | 16 |
| 2.3 | PODRIDÃO-CINZENTA DA UVA (<i>Botrytis cinerea</i>) | 18 |
| 2.3.1 | Controle biológico | 22 |
| 3. | MATERIAL E MÉTODOS..... | 26 |
| 3.1 | OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DO <i>Botrytis cinerea</i> | 26 |
| 3.1.1 | Armazenagem e acondicionamento do fitopatógeno..... | 29 |
| 3.1.2 | Postulado de Koch (teste de patogenicidade) | 29 |
| 3.1.3 | Extração e isolamento de bactérias associadas a videira | 30 |
| 3.1.3.1 | Bactérias epifíticas | 30 |
| 3.1.3.2 | Bactérias endofíticas | 33 |
| 3.1.3.3 | Armazenagem dos isolados bacterianos | 35 |
| 3.1.4 | Teste de antibiose de bactérias sobre <i>Botrytis cinerea</i>..... | 35 |
| 3.2 | REATIVAÇÃO DO FITOPATÓGENO | 37 |
| 3.2.1 | Teste de Antibiose <i>In vivo</i>..... | 38 |
| 3.2.2 | Testes bioquímicos | 39 |
| 3.2.3 | Análise estatística | 40 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 42 |
| 4.1 | ISOLAMENTO BACTERIANO E TESTES <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i> | 42 |
| 4.1.1 | Segunda seleção de isolados bacterianos..... | 45 |
| 4.1.2 | Testes bioquímicos para caracterização dos isolados bacterianos..... | 46 |
| 4.1.3 | Teste de Antibiose <i>In vivo</i> | 47 |
| 5 | CONCLUSÃO | 50 |
| 6 | REFERÊNCIAS | 51 |

1 INTRODUÇÃO

A videira por uma ser das primeiras espécies agrícolas a ser domesticada foi amavelmente difundida e cultivada em todo o mundo, caracterizando-se por tornar-se uma atividade de importância econômica e social. Apesar da viticultura brasileira ser uma atividade recente em comparação a outros países o Brasil obteve uma expansão da área destinada ao cultivo de videiras nas últimas décadas (MELLO, 2014). Em função de ser uma alternativa frutícola nas regiões de clima temperado, tropical e subtropical e devido aos avanços tecnológicos da produção de uvas e de vinhos (GUERRA et al., 2009).

O aumento do cultivo em diferentes regiões permitiu também a ocorrência de diferentes doenças, devido a condições ambientais favoráveis tanto ao cultivo de videiras quanto ao desenvolvimento de patógenos (CALONNEC et al., 2012).

Dentre os patógenos principais que afetam a videira está o fungo *Botrytis cinerea* Pers.: Fr (anamorfo de *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel) causador da doença podridão-cinzenta de cacho ou podridão de Botrytis, causadora de impactos econômicos na cultura da videira (FEDELE et al., 2020).

B. cinerea pode desenvolver como saprófita, necrotrófica ou parasita em praticamente todos os tecidos vegetais da videira por múltiplas vias de infecção (FEDELE et al., 2020), porém com as infecções principais, nos estádios fenológicos de floração, frutificação e após o amolecimento da baga (FEDELE et al., 2020).

Para controle das doenças, viticultores tem empregado aplicações sequenciais de agroquímicos com base nos principais estádios fenológicos de infecção do patógeno (GONZALEZ-FERNANDEZ et al., 2020b). Esta prática aumenta os custos de produção, prejudicando a saúde humana a todos os envolvidos na cadeia produtiva.

Além de ocasionar impactos negativos sob a pressão de seleção de fitopatógenos, uma vez que as aplicações sequenciais de fungicidas do mesmo grupo ou mesma molécula podem induzir a resistência dos fitopatógenos. Ainda ocasionar danos ao ambiente e prejudicar a fermentação de vinhos gerado pelo residual de fungicidas.

Dentro disso, estratégias de manejo da doença tem surgido para reduzir o uso de fungicidas através da inclusão ou substituição por agentes de biocontrole microbiano (BCAs) como leveduras, fungos e bactérias (FEDELE et al., 2020). Nesse

estudo, objetivou-se testar diferentes isolados bacterianos oriundos da filosfera da videira no controle biológico de *Botrytis cinerea* na cultura da videira.

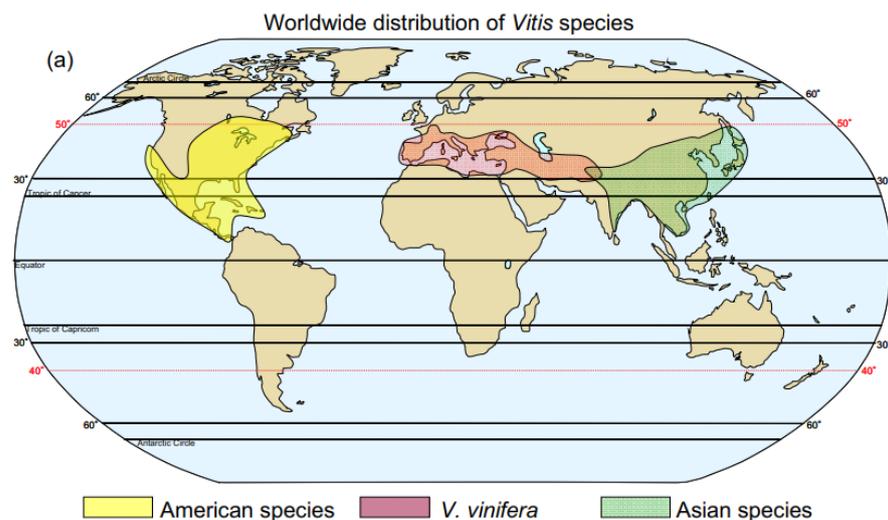
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL DA VIDEIRA

A videira foi uma das primeiras espécies vegetais a serem domesticadas e está amplamente difundida em todo o mundo (ALAGUMANI, ANJUGAM, 2018). Considera-se que existem três centros de origem da videira: Eurásia, Ásia e América, dando origem as espécies viníferas, asiáticas e americanas, respectivamente (figura 1) (TÖPFER *et al.*, 2011).

Atualmente, várias cadeias produtivas compõem o setor vitícola no mundo, que exploram diferentes cultivares de dois grupos principais: o das americanas (*Vitis labrusca*) e híbridas e o das cultivares europeias (*Vitis vinifera*). Este último grupo é o mais cultivado no mundo e amplamente utilizado para a elaboração de vinhos finos, espumantes, geléias, uvas passas, dentre outros usos (CAMARGO, 2017).

Figura 1 – Centro de origem das espécies do gênero *Vitis*.



FONTE: Adaptado de TÖPFER *et al.*, 2011.

O Brasil é o 17º maior produtor mundial de uva com 1.748.197 toneladas de

uva produzidas em uma área de 75.622 ha⁻¹, atingindo uma produtividade média de 23,1 toneladas por hectare (IBGE, 2021). O Brasil se consolida como o quinto maior produtor de vinhos do Hemisfério Sul, abrangendo mais de 1.100 vinícolas espalhadas em seu território (IBRAVIN, 2020).

Das uvas processadas no Brasil, cerca de 20 % são de cultivares europeias e 80 % de uvas de cultivares americanas e híbridas (IBGE, 2019). Essas últimas abrangem a maior área cultivada nacional em função de sua rusticidade e elevada produtividade (EMBRAPA, 2020).

Dado a importância observamos que a viticultura contribui tanto para a geração de empregos e riquezas ao país, quanto à redução do êxodo rural (ZANUS, 2015). E em função de que a cultura possui uma grande variabilidade genética permite obter cultivos do Sul ao Norte do país apesar da diversidade ambiental entre as regiões de produção (WURZ *et al.*, 2017). Abrangendo assim cultivos nos diferentes estados, mas com destaque a região sul nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.

O Rio Grande do Sul, estado responsável por aproximadamente 50% da produção nacional, teve no ano de 2021 uma área de produção de videiras de 46.295 ha (MELLO, MACHADO, 2020). Com uma produção total de aproximadamente 951.254 toneladas de uvas e um rendimento médio de 20,5 toneladas por ha⁻¹. Deste total aproximadamente 90 % foram de uvas americanas e híbridas e apenas 10 % de *V. Vinifera* (IBGE, 2021).

Santa Catarina, sexto maior produtor nacional de uvas, apresentou, em 2021, 3.911 ha plantados com videira, com produção de 59.712 toneladas e produtividade média de 15,2 toneladas por ha⁻¹ de uva (IBGE, 2021). No estado a vitivinicultura catarinense é responsável por 6,2% da área em produção brasileira. Havendo participação de uvas comuns (americanas e híbridas), de mesa e vinífera na fruticultura catarinense com um percentual de 4,7 % (GOULART JR. *et al.*, 2017). Deste percentual as uvas são divididas em uvas comuns (americanas e híbridas); uvas de mesa (européias) e uvas viníferas (*Vitis vinifera* L.) com uma área de 2.735, 102 e 419 ha⁻¹ e produção de 42.418 (92,8%), 780 (1,7%) e 2.485 (5,4%) ton⁻¹, respectivamente (EPAGRI, CEPA, 2018).

A região do vale do Rio do Peixe é responsável por 86% da produção do estado de Santa Catarina (IBGE, 2021). Os municípios de Tangará, Caçador, Videira, Pinheiro Preto, Urussanga e São Joaquim são os principais responsáveis pela produção estadual (IBGE, 2021). A maior produção de vinhos está concentrada no

município de Pinheiro Preto (IBGE, 2021). Nesta região, a atividade é desenvolvida por pequenos e médios produtores, cuja base da mão de obra é familiar (DUARTE, 2013).

Outra região que vem ganhando cada vez mais espaço na vitivinicultura catarinense é a da Serra e Planalto Catarinense, com destaque para os vinhos de altitude (EMBRAPA, 2020). Cujos vinhedos estão localizados entre 900 a 1400 m de altitude (EMBRAPA, 2020). Na última década a região serrana do Sul do Brasil tem se destacado como a região de cultivo de uvas (*V. vinifera*) para a produção de vinhos finos. As uvas produzidas nesta região apresentam alta qualidade e tipicidade, levando em consideração o solo, condições edafoclimáticas e genotípicas de cada cultivar (BRIGHENTI *et al.*, 2013).

Nessas regiões de altitude (Serra e Planalto Catarinense) a ocorrência de temperaturas mais amenas numa média aproximada de 19 ° C durante o cultivo da videira (entre os meses de setembro e abril) provoca o atraso da brotação e um ciclo vegetativo e reprodutivo mais extenso. Favorecendo a maturação mais lenta e completa dos frutos e a produção de vinhos finos com elevada qualidade enológica (ROSIER, 2003; MALINOVSKI, 2013). ‘Suavignon Blanc’ por exemplo é uma das variedades que melhor se adapta ao clima da região do Planalto Central de Santa Catarina (BRIGHENTI *et al.*, 2013).

O ambiente natural inserido nessas regiões, definindo características de solo, temperatura e microbiota presente nos vinhedos, além das inovações tecnológicas utilizadas na produção de uvas e vinhos de variedades de *V. vinifera*, originou interesse na implantação de uma Indicação Geográfica (IG) referente aos vinhos finos “de altitude”. Tais condições ambientais e tecnológicas determinam a qualidade superior dos vinhos produzidos nessa região (JUNIOR, REITER, MONDARDO, 2019).

Áreas nessas regiões com cultivo de uvas viníferas vem aumentando em uma taxa anual de crescimento médio de 11,6% em função das características de tipicidade e qualidade, despertando o interesse de investidores catarinenses. A microrregião dos Campos de Lages por exemplo foi responsável pela produção de 76,4% de uvas viníferas do estado. Enquanto a microrregião de Joaçaba com 14,8% do volume do estado (EPAGRI, CEPA, 2018).

Regiões de altitude com suas diferentes variedades de videira (*V. vinifera*) e produtos diferenciados e valorizados no mercado dos vinhos finos, apresentam investimentos em cantinas, hospedagem e gastronomia, com foco no enoturismo.

Fortalecendo o desenvolvimento da atividade vitivinícola do estado (JUNIOR, REITER, MONDARDO, 2019).

O grupo de *V. labrusca* ou também conhecido como *V. Labruscana* é explorado para a produção de uvas comercializadas *in natura* e destinadas a elaboração de sucos e vinhos de mesa (EMBRAPA, 2005). São exemplos de cultivares deste grupo 'Niágara Rosada', 'Niágara Branca', 'Bordo', 'Isabel', entre outras (MELLO; ALMEIDA, 2012). Essas últimas são consideradas de maior resistência a doenças fúngicas e pragas (MELLO; ALMEIDA, 2012).

Enquanto que o grupo de *V. vinífera* mais cultivadas na região são as cultivares 'Cabernet Sauvignon', 'Malbec', 'Pinot Noir' e 'Syrah' utilizadas para vinhos tintos. 'Sauvignon Blanc', 'Chardonnay' e 'Muscat Petit grain' são usadas na elaboração de vinhos brancos. Porém estas últimas com uma maior suscetibilidade a doenças fúngicas pelo fato de apresentarem coloração branca, uma vez que quanto menor o nível de antocianinas maior é a suscetibilidade da variedade a podridões inclusive a causada por *B. cinerea* (CAMARGO, 2017).

Atualmente, a variedade 'Sauvignon Blanc' é considerada como uma das cultivares símbolo das regiões de altitude de Santa Catarina (VIANNA *et al.*, 2016). A qual teve aumento de 68,9% em sua área de cultivo (VIANNA *et al.*, 2016). Porém, possui cachos pequenos, cilíndrico-cônicos e compactos, dificultando a entrada de fungicidas em seu interior (RIZZOTTO, 2015), apresentando maior suscetibilidade a *Botritis cinerea*.

2.2 CULTIVAR SAUVIGNON BLANC

Originária de Bordeaux, na França, a 'Sauvignon Blanc' (*V. vinífera*) também tem como sinônimo *Fumé Blanc* ou *Blanc Fumé*. É uma variedade branca caracterizada por ser muito aromática (SOUSA, 1996).

A variedade apresenta boa adaptação ao clima na região serrana devido a sua brotação tardia, evitando assim problemas relacionados a geadas tardias (BRIGHENTI *et al.*, 2013). Seu ciclo fenológico é intermediário e permite maturação completa nessa região (BRIGHENTI *et al.*, 2013). Possui aptidão a elaboração de vinhos brancos finos de elevada qualidade enológica com alta intensidade e complexidade aromática (MARCON FILHO, 2015). Tais características associadas a sua adaptação a fatores específicos do *terroir* reforça o alto potencial da variedade

para a região (MARCON FILHO, 2015). A variedade além de ser destinada a elaboração de vinhos finos é também usada como base para espumantes (BUENO, 2010).

No entanto, as condições climáticas no Sul do Brasil favorecem o desenvolvimento de uma série de doenças. Classificado como temperado o clima da região Sul também é influenciado pelo clima subtropical no norte da região aumentando a possibilidade de ocorrência de diferentes fitopatógenos na videira. Como exemplo o míldio (*Plasmopara viticola* (Berk & Curt.) Berl. & de Toni), antracnose (*Elsinoe ampelina* (de Bary) Shear), podridão de cacho (*Glomerella cingulata* (Stonemam) Spauld & Schrenk;), podridão cinzenta da uva (*Botrytis cinerea* Pers.), ferrugem (*Phakopsora euvitis* Ono), dentre outros (CAVALCANTI, 2015).

O Planalto Catarinense por exemplo é classificado como temperado quente (Cfb) com temperatura média anual entre 16 °C e 17°C e precipitação anual variando entre 1500 e 1700 mm (ALVARES *et al.*, 2013). Devido a essas condições climáticas uma das principais doenças de grande potencial de dano econômico e de maior ocorrência e desenvolvimento é o mofo cinzento ou a podridão do cacho causada pelo fungo *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel, estágio sexual de *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries (Ellis, 1971).

Quando associado o clima, hospedeiro e estádios fenológicos de maior suscetibilidade, a doença desenvolve-se de maneira agressiva podendo reduzir significativamente o rendimento e a qualidade da uva de várias variedades como exemplo a Sauvignon Blanc.

Dentre os estádios fenológicos da videira, o de pleno florescimento, compactação de cacho e ou amadurecimento da uva são os estádios fenológicos de maior suscetibilidade a infecção de *B. cinerea* (HILL, 2014). No florescimento Hill (2014) observou que ocorria o crescimento micelial abundante de *B. cinerea* sobre as flores de Sauvignon Blanc, incluindo pedicelos e estames.

A variedade Sauvignon Blanc por possuir bagas pequenas, ovaladas, alto teor de açúcar ao final da maturação e por caracterizar-se como uma variedade branca é considerada uma das variedades mais suscetíveis a infecção e desenvolvimento de *Botrytis cinerea* (SILVA, 2017).

Brighenti *et al.*, (2013) em três safras consecutivas de Sauvignon Blanc em São Joaquim apresentou Sólidos Solúveis Totais (SST) de 20,2 °Brix. Seja possui níveis elevados de açúcar em seu mosto (SILVA, 2017).

Coincidente a maturação e a elevação do nível de açúcar, Hill (2014) observou crescimento micelial de hifas aéreas de *B. cinerea* sobre a superfície da baga de Sauvignon Blanc. Apresentando crescimento micelial semelhante em 24 h, 48 h e cinco dias após a inoculação do fitopatógeno quando realizado fermento em bagas (HILL, 2014). Além do crescimento aéreo de hifas de *B. cinerea* sobre a superfície, estas cresciam subcutaneamente em bagas feridas (HILL, 2014). Ou seja, uma vez causando fermentos em bagas facilita a infecção e multiplicação do fitopatógeno.

2.3 PODRIDÃO-CINZENTA DA UVA (*Botrytis cinerea*)

O fitopatógeno pode se manter viável na forma de escleródios em ramos e gemas dormentes e na forma de micélios formados na casca e demais restos orgânicos das videiras até meados da primavera (Figura 2) (MIELE *et al.*, 2003; LUZ *et al.*, 2019).

Neste período, *B. cinerea* pode afetar a maioria das partes das plantas, porém no processo de amadurecimento da videira é onde ocorre o maior dano (DE BEM *et al.*, 2017). Durante o florescimento da videira, restos vegetais como flores abortadas, estames mortos, caliptras, gavinhas e tecidos de folhas mortos são infectados saprotrófico pelo fitopatógeno (VAN KAN, 2006).

O fitopatógeno é considerado hemibiotrófico, ou seja, inicia a infecção nutrindo-se do hospedeiro vegetal, porém ao atingirem a fase de desenvolvimento e colonização, atuam como necrotrófico. Seja alimenta-se de restos vegetais ou tecidos mortos, antes mesmo de coloniza-la, pois é capaz de liberar enzimas que destroem o tecido da planta hospedeira (VAN KAN, 2006). Também pode permanecer em forma latente sobre os restos vegetais da videira até o momento em que haja condições favoráveis ao seu desenvolvimento (Figura 2) (MIELE *et al.*, 2003).

Infecções latentes ocorrem em três principais estádios fenológicos da videira (HILL, 2014): florescimento, compactação do cacho e início da maturação (*veraison*). Onde uma vez que o fitopatógeno está infectado no hospedeiro, este permanece sem se desenvolver. Uma vez que as condições ideais de temperatura e umidade forem atingidas o fitopatógeno volta a se desenvolver e se multiplicar sobre os tecidos vegetais (PARLEVLIET, 1975).

Os estádios fenológicos amplamente aceitos de maior suscetibilidade a infecção se referem ao pleno florescimento e início da maturação (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2020). Porém, a maior incidência e/ou severidade da doença ocorre próximo a colheita (HILL, 2014). Momento em que os açúcares presentes nas bagas estão disponíveis em maior quantidade, aumentando o desenvolvimento e multiplicação do fitopatógeno por conter mais fonte de alimento, conseqüentemente facilitando novas infecções (GONZALEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2020). Uma vez que há ferimentos nas bagas, novas infecções irão se desenvolver, levando em consideração que o fitopatógeno não é capaz de infectar tecidos vegetais sem que haja uma ruptura no tecido vegetal.

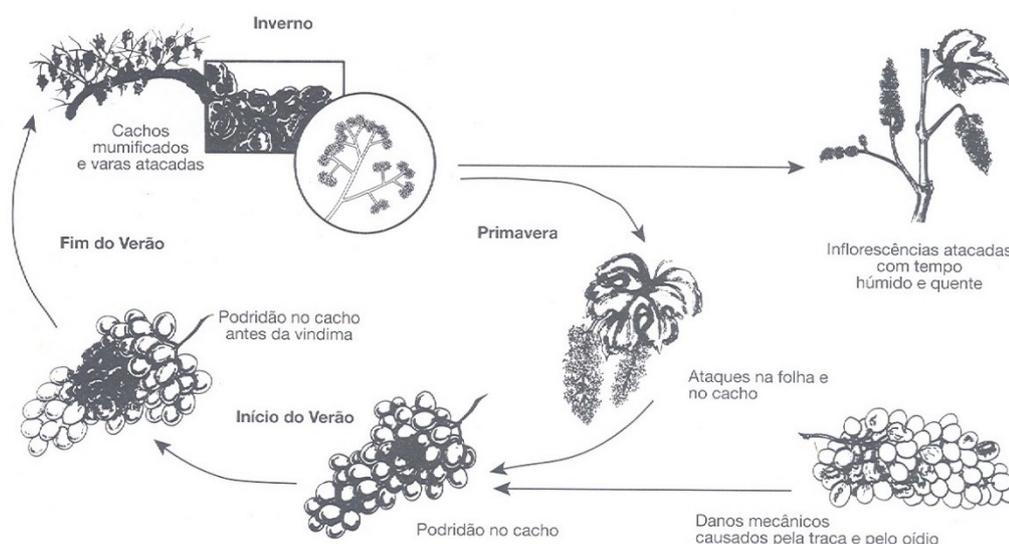
Sob condições favoráveis, 25 °C e 90 % de umidade relativa do ar o fitopatógeno produz conídios em abundância (MIELE *et al.*, 2003). Os conídios germinam em uma ampla faixa de temperatura, variando de 1 a 30 °C (MIELE *et al.*, 2003).

Porém em temperaturas altas durante o dia e alta umidade a noite são condições que favorecem a infecção da planta pelo fitopatógeno (GONZALEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2020). O tempo de infecção é variável de acordo com a temperatura, ocorrendo em 24 ou 12 h nas temperaturas de 12° C e 25° C, respectivamente.

Nos estádios de início de inflorescência e desenvolvimento de cachos são os períodos em que mais tem esporos de *B. cinerea* (GONZALEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2020). E quanto maior a concentração de esporos nos estádios fenológicos suscetíveis maiores as chances de desenvolvimento da doença (GONZALEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2020). Pois geralmente nesse período em que há a temperatura mais favorável para o fitopatógeno e que ocorrem as infecções latentes no hospedeiro.

Figura 2 - Ciclo de vida de *Botrytis cinerea* em videiras

Ciclo Biológico da Podridão Cinzenta da Videira:



Fonte: ADAPTADO DE BOVERY *et al.*, 2019.

O tempo entre a infecção e a manifestação dos sintomas de *B. cinerea* em bagas quase maduras é suficientemente curto (em média cinco dias) para que haja infecções secundárias do fitopatógeno (HILL, 2014). Contribuindo para o desenvolvimento da epidemia (HILL, 2014). Os conídios são uma fonte de inóculo para infecção principalmente na maturação das bagas (AMMOUR *et al.*, 2019).

Um microclima favorável, como um dossel vegetativo pouco aerado também pode influenciar, aumentando a incidência e severidade da doença significativamente (GONZALEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2020). Esse mesmo autor indica que esporos acima do nível de 100 esporos indica um importante fator de risco para a ocorrência da doença (GONZALEZ-FERNANDEZ *et al.*, 2020).

Uma vez infectada a baba, o fitopatógeno utiliza as fontes de açúcares e nutrientes disponíveis na mesma (LUZ *et al.*, 2019). Em condições favoráveis desenvolve-se sob rachaduras ou danos na película principalmente ocasionadas por insetos ou passáros (BOTTON *et al.*, 2015). *B. cinerea* não tem a capacidade de perfurar as bagas, mas suas hifas são altamente ramificadas e intercelulares, crescendo entre a cutícula e a epiderme (HILL, 2014). Algumas das hifas do fitopatógeno tem a capacidade de penetrar profundamente o tecido da baba expondo a polpa (LUZ *et al.*, 2019).

Os sintomas iniciais da podridão-cinzenta da uva são percebidos como pontuações ligeiramente claras e circulares de 2 a 3 mm, observadas 72 h após a

multiplicação dos esporos. No início da maturação com apenas uma baga infectada, a podridão cinzenta toma início, apresentando coloração amarronzada, apodrecendo e produzindo uma grande massa de esporos. Uma vez ocorrendo a rachadura da baga infectada, o mosto escorre ao decorrer do cacho produzindo a característica aparente de podridão cinzenta. Caso ocorrer o ataque do fitopatógeno sobre o pedúnculo, forma-se a podridão peduncular, responsável pela queda prematura dos cachos (HAMMAN, 2011).

O *B. cinerea* causa danos consideráveis de rendimento e qualidade de frutos em condições de campo e no armazenamento pós-colheita, depreciando o seu valor de mercado ou impossibilitando seu consumo *in natura* (HAIDAR *et al.*, 2016). Além disso, o fitopatógeno produz a enzima lacase, que interfere negativamente no aroma, cor e sabor do vinho (MIELE *et al.*, 2003).

O controle de *B. cinerea* se torna desafiador pelos seguintes motivos: 1) *B. cinerea* pode atuar como saprófita, necrotrófico ou parasita; 2) o fitopatógeno pode se manter latente e esporular em várias fontes de inóculo (restos culturais de cachos e folhas); 3) as videiras são suscetíveis ao fitopatógeno em múltiplos estádios de crescimento; 4) há múltiplos tecidos vegetais suscetíveis ao fitopatógeno (AMMOUR *et al.*, 2019); 5) devido ao seu ciclo de vida curto e reprodução prolífica, *B. cinerea* é considerado um fitopatógeno de alto risco para o surgimento de raças com resistência a fungicidas (HAIDAR *et al.*, 2016). Resistência essa, já detectada em raças de *B. cinerea* em muitos países e em várias culturas (HAIDAR *et al.*, 2016).

Algumas práticas culturais em videira, como a desfolha na região dos cachos vem sendo utilizada como um método preventivo à ocorrência de podridões (WURZ *et al.* 2017). A desfolha proporciona maior aeração e luminosidade, reduzindo danos causados por *B. cinerea* (MOLITOR *et al.* 2012; MOLITOR *et al.* 2014; WURZ *et al.* 2017b). Na cv. Sauvignon Blanc observou-se que a desfolha precoce realizada até o estágio fenológico 'grão ervilha', resultou em redução da severidade de *B. cinerea* (WURZ *et al.* 2017).

O controle químico é a principal forma de manejo da doença. Atualmente, uma série de ingredientes ativos são usados para o controle desta, tais como: iprodiona, procimidona, tiofanato metílico, pirimetanil, clorotalonil, mancozebe, entre outros (NOGUEIRA *et al.*, 2017). Mas, além dos impactos econômicos e riscos à saúde humana, esses fungicidas podem ser prejudiciais a leveduras utilizadas na fermentação do mosto (LISBOA *et al.*, 2007).

Métodos alternativos e complementares de controle a doença como o uso de microrganismos não patôgenicos como agentes de controle biológico (BCAs) são considerados uma alternativa atrativa e promissora para toda a cadeia produtiva (HAIDAR *et al.*, 2016).

2.3.1 Controle biológico

O controle biológico sobre fitopatógenos é resultado de uma ação indireta das associações bacterianas sobre os fitopatógenos (BORGES, 2006). Frequentemente fisiologistas e anatomistas vegetais consideravam plantas como organismos únicos (SOBRAL, 2003). No entanto, há uma série de outros organismos em associações às plantas, os quais podem ser extraídos e usados como forma de controle biológico contra fitopatógenos, como exemplo, associações microbianas (BORGES, 2006).

As associações microbianas podem desempenhar diversas formas de controle biológico sobre fitopatógenos. Uma das formas de controle biológico de fitopatógenos causadores de danos em frutos ou plantas mais conhecidos e empregado é a antibiose ou *antagonismo*. (HAMANN, 2011).

O termo *antagonismo* é empregado para designar a ação de bactérias sobre o crescimento e o metabolismo de algum fitopatógeno (BARKAI-GOLAN, 2001). Há vários modos de ação antagonista que as bactérias podem desempenhar a fim de controlar algum microrganismo fitopatogênico (BARKAI-GOLAN, 2001; BETTIOL; GHINI, 1995). Os efeitos antagônicos mais conhecidos são competição, parasitismo e resistência sistêmica induzida de plantas (BENHAMOU; CHET, 1996). Na competição, o espaço e os nutrientes ofertados pelo meio são os principais elementos-alvo que os microrganismos competem (BENHAMOU; CHET, 1996).

Braga Junior *et al.*, (2017) em seu estudo de antibiose envolvendo sete isolados de *Bacillus subtilis* teve como um dos resultados a inibição do crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Fusarium subglutinans*, *Curvularia lunata* e *Bipolaris* sp., causadores das doenças de Fusariose, Mancha das Glumelas e Manha-Parda, respectivamente.

Toigo *et al.*, (2002) em seu estudo de efeito fungistático observou que a estirpe bacteriana FV 12 de *Bacillus* spp. inibiu os fungos fitopatogênicos *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum* spp. Kasfi *et al.* (2018) em seu trabalho encontrou quatro estirpes bacterianas pertencentes aos gêneros *Bacillus* e

Ralstonia capazes de exercer efeito de biocontrole significativo sobre *B. cinerea*.

Kasfi *et al.* (2018) em seu estudo obteve 103 microrganismos diferentes, desde leveduras a bactérias epifíticas oriundas de folhas e bagas da videira. E ao fim duas espécies de leveduras e quatro bacterianas tiveram efeito significativo de controle a *B. cinerea*.

Em resumos nas últimas décadas, algumas pesquisas identificaram estirpes de espécies bacterianas com atividade antagonista ao *B. cinerea*, como por exemplo bactérias pertencentes às famílias *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Streptomyces*, *Ralstonia*, *Pseudomonadaceae*, *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Actinobacteria* e *Burk-Holderiaceae* (BHATT; VAUGHAN, 1962; COMPANT *et al.*, 2013).

Uma segunda forma de controle exercida pelas associações microbianas é o parasitismo. No parasitismo, o antagonista lança mão de atributos físicos para conter o avanço do fitopatógeno (BÉLAGER *et al.*, 1995), promovendo o crescimento de suas estruturas morfológicas sobre o fitopatógeno (BHATT; VAUGHAN, 1962).

Um exemplo é o isolado endofítico oriundo do braço de madeira da uva designado como *Bacillus subtilis* da cv. Chenin Blanc, que apresentou potencial de redução a infecção e a proliferação de fitopatógenos (FERREIRA; MATTHEE, 1991). Os efeitos observados foram a inibição do crescimento micelial e redução da germinação de ascósporos em teste *in vitro* contra *Eutypa lata* (fitopatógeno causador de doença no tronco da videira) (FERREIRA; MATTHEE, 1991). Também foi observada a redução da infecção deste agente fitopatogênico quando pulverizado suspensões desta estirpe bacteriana sobre o tronco da videira (FERREIRA; MATTHEE, 1991).

Em um estudo similar observou-se que a estirpe bacteriana GI 070 pertencente à *Bacillus circulans* desenvolvia um efeito parasita sobre *B. cinerea* suprimindo completamente o fitopatógeno em placas de Petri *In vitro* (PAUL *et al.*, 1997).

Enquanto uma terceira forma de controle seria a inibição do fitopatógeno através de atributos metabólicos, como a secreção de enzimas e compostos antibióticos (BÉLAGER *et al.*, 1995; BHATT; VAUGHAN, 1962). Uma vez que metabólicos secundários de bactérias podem atuar impedindo a absorção de nutrientes e ou bloqueando as funções relacionadas ao crescimento de fitopatógenos, tendo ação de biocontrole (COMPANT *et al.*, 2013).

Novamente as bactérias das famílias *Bacillus* e *Paenibacillus* podem exercer

controle biológico sobre *B. cinerea*, porém através de uma outra forma de biocontrole, seja através da ação dos metabólicos secundários, caracterizados como componentes antifúngicos. Incluindo antibióticos lipopeptídicos, anti-proteínas fúngicas, compostos voláteis e enzimas líticas (LOPES, 1986). Além de estirpes das famílias anteriormente citadas, existem outras estirpes bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas syringae* e *Burkholderia cepacia* capazes de promoverem biocontrole. As quais são possíveis agentes de biocontrole contra o fitopatógeno *Ganoderma boninense*, causador da podridão basal do caule em dendezeiro. Apesar de não terem sido esclarecidos os mecanismo de ação, acredita-se que os metabólitos secundários são os responsáveis por atuar no biocontrole (SUJARIT *et al.*, 2020).

Tal forma do biocontrole, através do uso de metabólicos secundários oriundo de estirpes bacterianas podem desencadear no uso de uma variedade de elicitores de defesas de plantas, incluindo constituintes bacterianos como flagelos ou lipopolissacarídeos. Porém existe uma alta diversidade estrutural de metabólitos secundários, específica de certas estirpes bacterianas (COMPANT *et al.*, 2013).

A descoberta de novos elicitores especialmente oriundos de locais ainda não explorados podem ser capazes de desencadear mecanismos de defesa de plantas, sendo de interesse para a redução do uso de pesticidas (COMPANT *et al.*, 2013). Bactérias endofíticas por exemplo são uma fonte de metabólitos secundários podendo atuar como elicitores de defesas vegetais ou como agentes microbianos ao controle de fitopatógenos (COMPANT *et al.*, 2013).

As associações bacterianas ainda podem desencadear na resistência sistêmica induzida nas plantas. A qual se refere quando algum microrganismo é capaz de aumentar os mecanismos de defesa das plantas. Esse comportamento ocorre em toda a planta, onde prepara-se para responder mais intensamente em resposta a um ataque de patógeno (HAIDAR, 2016).

Vários compostos produzidos por bactérias, incluindo voláteis, sideróforos, flagelina e lipopeptídeos são conhecidos por induzir resistência sistêmica contra *B. cinerea* em muitas espécies de plantas (HAIDAR, 2016). Varnier *et al.*, (2009) em seu estudo descobriu que os metabólitos secundários de biossurfactantes glicolipídicos, como ramnolipídeos secretados por *Pseudomonas aeruginosa* ocasionam respostas atuantes na sinalização da indução de defesa em plantas de videira. A sinalização está relacionada com o influxo de Ca (2+), a ativação da proteína quinase ativada por mitogênio e a produção de espécies reativas de oxigênio. Em consequência reduzem

o desenvolvimento de *B. cinerea* em plântulas de videira *in vitro* (VARNIER *et al.*, 2009).

Trotel-Aziz *et al.*, (2008) em seu estudo de bactérias isoladas da rizosfera e da endosfera da cv. Chardonnay encontrou vinte e seis isolados de estirpes de *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Actinobacter* e *Pantoea* inibindo o crescimento micelial de 85 à 100 % em culturas de *B. cinerea*. As estirpes PTA-268 e PTA-CT2 de *Pseudomonas fluorescens*; PTA-271 de *Bacillus subtilis*; PTA-AF1 e PTA-AF2 de *Pantoea agglomerans*; PTA-113 e PTA-152 de *Acinetobacter lwoffii* induziram resposta de defesa em plântulas de cv. Chardonnay (TROTEL-AZIZ *et al.*, 2008). As respostas de defesa observadas referem-se a produção de lipoxigenases, finilalanina amônia-liases e quitinases em folhas de videira (TROTEL-AZIZ *et al.*, 2008).

Lakkis *et al.* (2019) em sua pesquisa envolvendo *Pseudomonas fluorescens* PTA-CT2 com o objetivo de observar resistência sistêmica induzida em videira contra *Plasmopora viticola* e *B. cinerea* obteve resultados positivos, em que o isolado bacteriano ativou vias de defesa comuns em duas cultivares de videira: Solaris e Pinot Noir.

Em um outro isolado, *Pseudomonas fluorescens* designado de NRC 10 reduziu significativamente a incidência e a severidade de podridão radicular na cv. de videira Thompson Seedless (ZIEDAN; EL-MOHAMEDY, 2008). Apesar de não estar bem esclarecido quais metabólitos secundários atuam na inibição desta doença (ZIEDAN; EL-MOHAMEDY, 2008), especula-se que o jasmonato e o etileno são os responsáveis por induzir à resistência sistêmica em plantas de videira contra a podridão de *Fusarium* spp. (COMPANT *et al.*, 2013).

Isolados de *Pantoea agglomerans* AF2; *Bacillus subtilis* 271, *Acinetobacter lwoffii* 113 e *Pseudomonas fluorescens* CT2 aumentaram a oxidação e a produção de fitoalexina e resveratrol em folhas de videira, correlacionando a maior resistência a *B. cinerea* (VERHAGEN *et al.*, 2011). Esses mesmos autores demonstraram que a produção dos metabólitos secundários ácido salicílico (SA), 2,4-diac-etilfloroglucinol (DAPG), pyochelin e pyoverdin atuam no mecanismo de defesa das plantas contra *B. cinerea*.

Pesquisas em estirpes específicas permitem a descrição de metabólitos secundários que podem ser responsáveis por seus efeitos em alvos patogênicos e ou mecanismos de indução de resistência em videiras (COMPANT *et al.*, 2013). Ziedan *et al.*, (2010) em seu estudo descobriu que o isolado de *Strptomyces alni* ocasionava

um efeito de antibiose contra *Fusarium* spp. mediado por um antibiótico até então não caracterizado.

Hao *et al.* (2017) em sua pesquisa encontrou uma estirpe bacteriana pertencente ao gênero *Paeniacillus* capaz de induzir a expressão dos genes de defesa CHI (quitinase), PR-3 (inibidor de proteinase) e LOX (lipoxigenase) na planta sobre os patógenos aéreos ou radiculares da videira.

Metabólitos bacterianos secretados por estirpes de *Streptomyces* sp., como tetraciclo-peptídeos, promovem proteção a plantas por induzirem direta ou indiretamente respostas de defesa (LEBRIHI A, ERRAKHI R, 2009).

Verhagem *et al.*, (2010) quando introduziu diferentes estirpes de *Pseudomonas* spp. em contato com folhas e bagas de videira induziu a resistência sistêmica destes órgãos vegetais. Em função do acúmulo de fitoalexina (resveratrol e viniferina) resultando no controle biológico contra *B. cinerea* (VERHAGEM *et al.*, 2010).

Portanto várias são as formas de biocontrole de patógenos existentes na literatura, porém ainda existe uma lacuna de informações referente a estratégias de biocontrole de *B. cinerea*. Levando em consideração que tanto o hospedeiro e patógeno, quanto as bactérias presentes no mesmo ambiente passam por processos evolutivos, o biocontrole do patógeno poderá ser mais eficiente com o uso de bactérias oriundas do mesmo habitat natural.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DO INÓCULO DE *Botrytis cinerea*

O patógeno *B. cinerea* foi isolado a partir de bagas apresentando sintomas da podridão-cinzenta, coletadas de vinhedo comercial (Lat.: 27.67354338; Long.: -50.74525665; Alt.: 938.00 m.) da Vinícola Abreu Garcia, localizada no município de Campo Belo do Sul, Planalto Central de Santa Catarina. As plantas da variedade de Sauvignon Blanc usadas para a coleta dos cachos infectados com *B. cinerea* foram isoladas do restante do vinhedo evitando o residual de fungicida (Figura 3).

Figura 3 - Plantas de videira da cv. Sauvignon Blanc usadas para coleta de *Botrytis cinerea*



Fonte: Elaborada pelo autor, 2020.

Os cachos coletados a campo com sintomas da doença (Figura 4) foram transportados até o Laboratório de Microbiologia de Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas na Universidade Federal de Santa Catarina, Campus de Curitibanos, Curitibanos/SC, onde foram imersos em álcool (96%) por 1 min, posteriormente no hipoclorito de sódio (2,5%) por 2 min e enxaguados com água destilada autoclavada, por cinco vezes.

Figura 4 – Micélio pulverulento de *Botrytis cinerea* em bagas de uva cv. Sauvignon Blanc.

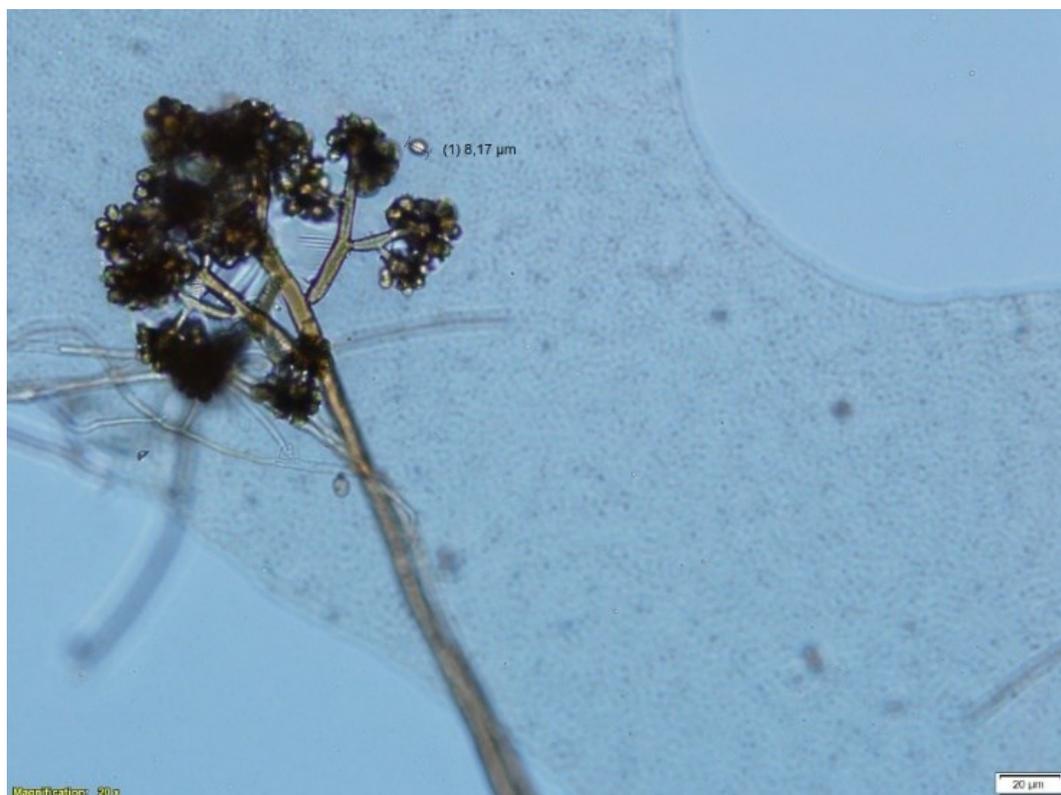


Fonte: Elaborada pelo autor, 2020.

Após a secagem, tecidos infectados com o fitopatógeno foram excisados de bagas com o auxílio de uma Alça de Platina esterilizada. Os tecidos foram então depositados no centro de placas Petri contendo meio de cultura contendo Batata, Dextrose e Ágar (BDA) (39 g L^{-1}), usando em torno de 15 mL do meio de cultura por unidade de placa de Petri (60 x 15 mm). Foram realizadas oito repetições (bagas) de cinco cachos manifestando os sintomas. As placas foram armazenadas em câmara de crescimento tipo BOD (*biochemical oxygen demand*) em temperatura de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas de luz (BRUISSON *et al.*, 2019).

O fungo foi submetido a condições de estresse através da oscilação da temperatura. Após cinco dias de crescimento micelial a 25°C a temperatura foi reduzida para 20°C para que estimulasse a esporulação. Após foi repicado e realizado a cultura monospórica até sua purificação, que foi confirmada por meio de análises morfológicas das estruturas reprodutivas (conídios e conidióforos) em microscopia de varredura de campo claro, empregando o indicador azul de metileno (HAIDAR *et al.*, 2016) (Figura 5).

Figura 5 - Morfologia da estrutura reprodutiva de conídios e conidióforos de *Botrytis cinerea* visualizada em microrscopia de varredura de campo claro.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2021.

3.1.1 Armazenagem e acondicionamento do fitopatógeno

Após purificado, o fitopatógeno foi repicado em triplicata no meio BDA (39g/L), contendo uma tira de papel filtro sobre o meio de cultivo, utilizando temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz, por um período de sete dias. Após o crescimento do fitopatógeno sobre o papel filtro, este foi retirado e colocado em uma placa de petri descartável previamente preparada. Na parte inferior desta foi colocado sílica-gel coberta por uma camada de papel filtro. A tira de papel filtro contendo o fitopatógeno foi depositada sobre esta camada de papel filtro, e foi recoberta por outra camada de papel filtro, formando um “sanduiche”. O conjunto foi vedado com parafilme e armazenado a uma temperatura de 0 °C, mantendo a viabilidade do fitopatógeno, até o momento de seu uso.

3.1.2 Postulado de Koch (teste de patogenicidade)

Teste de patogenicidade em bagas de videira foram realizados visando confirmar a patogenicidade do *B. cinerea* isolado (Akkermans, 2014) (Figura 6). Conídios foram retirados de uma placa de Petri, quantificados pela câmara de Neubauer® e a suspensão de conídios foi ajustada para a concentração de 50.000 conídios mL⁻¹ com água destilada autoclavada. A suspensão de conídios foi aplicada com uso de pipeta volumétrica sobre bagas de uva previamente perfuradas (2 mm x 3 mm), usando um volume de 15 µl em cada baga. Posteriormente as bagas foram acondicionadas em BOD a 25° C e um fotoperíodo de 12 h de luz durante sete dias ou até o surgimento (confirmação) da doença, que foi confirmada através da observação de estruturas reprodutivas morfológicas do fitopatógeno.

3.1.3 Extração e isolamento de bactérias associadas a videira

Foram coletadas duas sub-amostras de folhas de plantas da cv. Sauvignon Blanc, sendo a primeira composta de folhas de três plantas diferentes, que apresentavam cachos com sintomas de podridão cinzenta (sintomáticas) e a segunda folhas de três plantas diferentes, sem sintomas de podridão nos cachos (assintomáticas).

3.1.3.1 Bactérias epifíticas

Bactérias epifíticas isoladas da superfície das folhas foram obtidas a partir de mistura de 1 g de folhas fragmentadas (5 cm x 5 cm) em 9 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS - *Phosphate buffered saline*) (Na₂HPO₄ 10 mM; KH₂PO₄ 2 mM; KCl 3 mM; 140 mM NaCl; pH 7,4).

A desinfestação foi feita pela lavagem superficial das folhas segmentadas com uso de álcool (92,6%) por 1 min, seguida de imersão em hipoclorito de sódio (2,5%) por 2 min e enxague em água destilada autoclavada por cinco vezes.

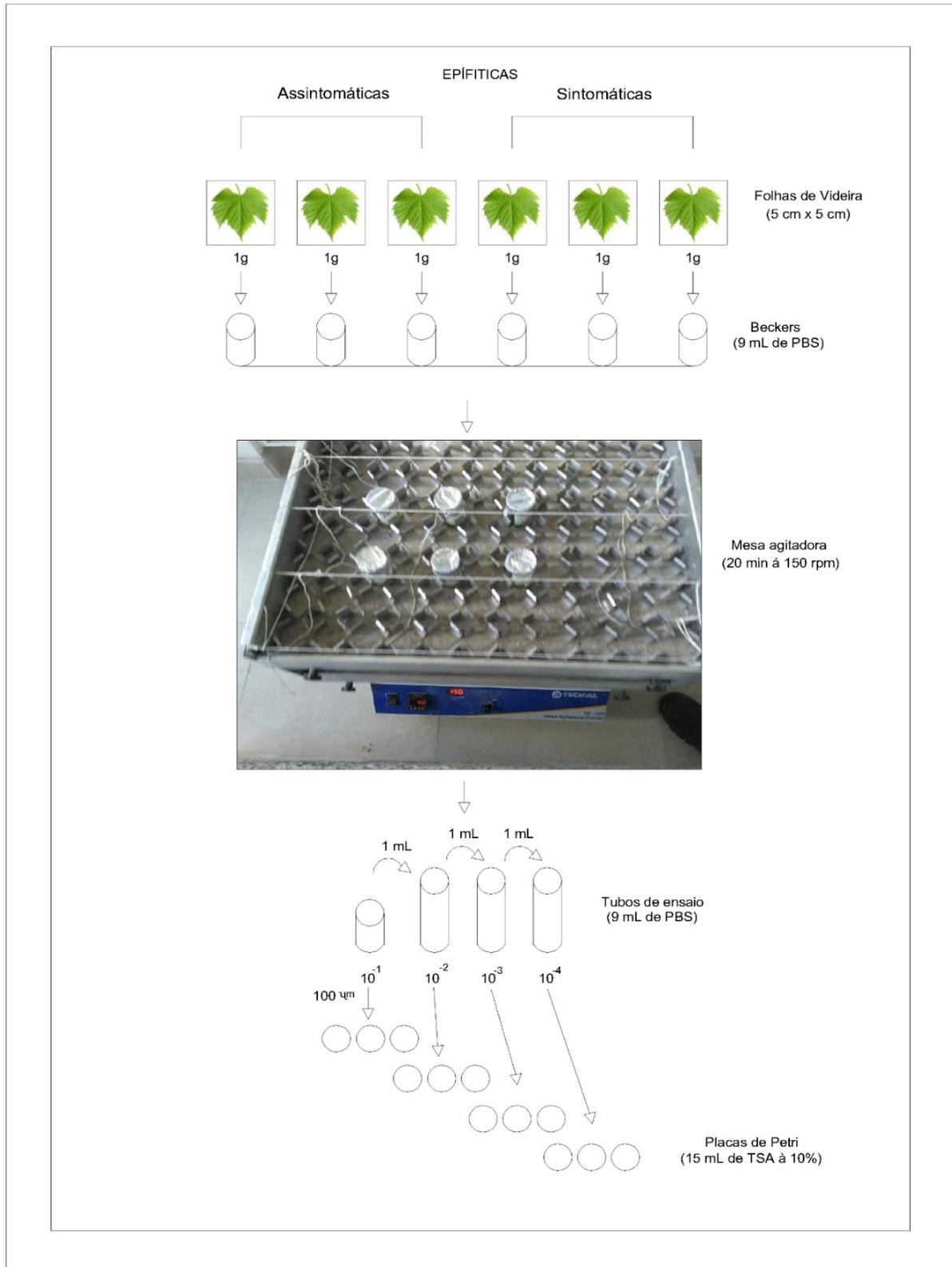
As suspensões das amostras foram acondicionadas em agitador do tipo mesa agitadora orbital (TE-145) em temperatura ambiente (24-25°C), sob agitação constante a 150 rpm por 20 min. Em seguida, 1 mL de cada suspensão foi utilizado para processar as diluições seriadas até (10⁻⁴ vezes), feitas de acordo com Wollun (1982), descrita a seguir (figura 6).

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica foi coletado 1 mL da solução PBS

original contendo as bactérias dispostas no Becker (10^{-1}). O referido volume foi disposto em tubo de ensaio contendo 9 mL de PBS, totalizando 10 mL de solução (10^{-2}). Deste tubo de ensaio retirou-se 1 mL contendo as bactérias e diluído o volume em outros 9 mL de solução PBS (10^{-3}). Da mesma maneira será feita para a diluição seguinte (10^{-4}).

Cem microlitros de cada uma das diluições foram acondicionados, com o auxílio de alça de Drigalski, sobre meio Triptona Soja Ágar (TSA) (Difco) a 10% (4 g/L), suplementado com ágar bacteriológico (18g/L) e ciclohexamida (100 ppm/placa), para inibir contaminação fúngica. Foram feitas inoculações em triplicatas de cada uma das diluições, totalizando ao final 72 placas para esta etapa (6 becker's x 12 placas = 72 placas).

Figura 6 - Diagrama do isolamento de bactérias denominadas “epifíticas”.



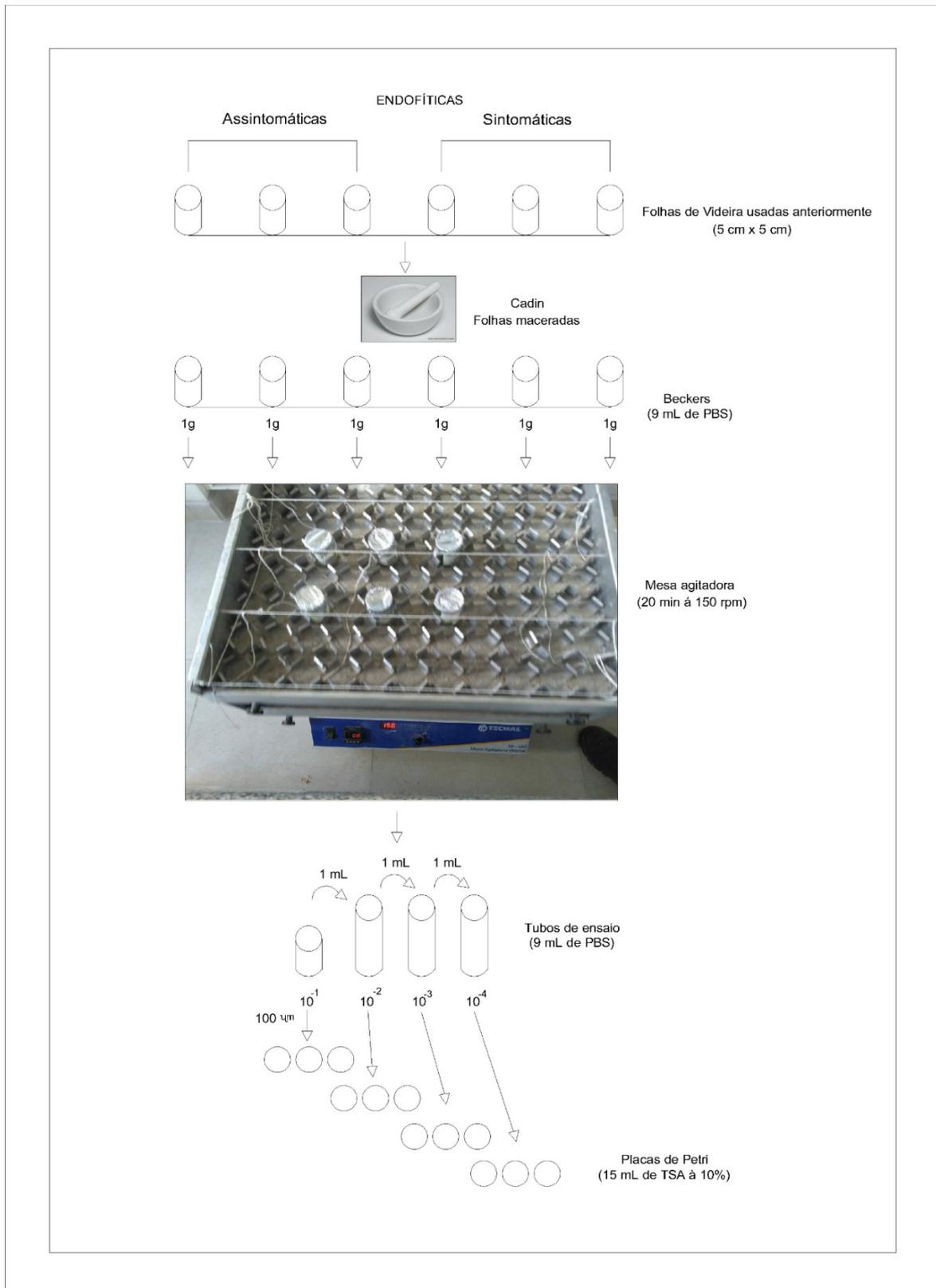
Fonte: Elaborada pelo autor, 2021.

Para as repicagens foi usada uma alça de platina. Esta foi flambada, e após a diminuição da temperatura inoculou-se com apenas uma única UFC da referida estirpe bacteriana que pretendeu-se purificar. Em sequência realizou-se estrias em toda a placa. Repicagens foram necessárias afim de se obter as estirpes bacterianas purificadas. Os isolados bacterianos purificados foram selecionados com base na morfologia e coloração diferentes a fim de obter-se um critério de seleção.

3.1.3.2 Bactérias endofíticas

Após a extração das bactérias designadas epifíticas, o mesmo material vegetal foi utilizado para obtenção das bactérias endofíticas do interior do tecido vegetal. As folhas anteriormente fragmentadas (5 cm x 5 cm) passaram por um novo processo de desinfestação, posteriormente maceradas em almofariz de porcelana e alocadas em PBS (Figura 7). Os demais procedimentos foram os mesmos como descritos no item anterior.

Figura 7 - Diagrama do isolamento de bactérias denominadas “endofíticas” (imagem meramente ilustrativa)

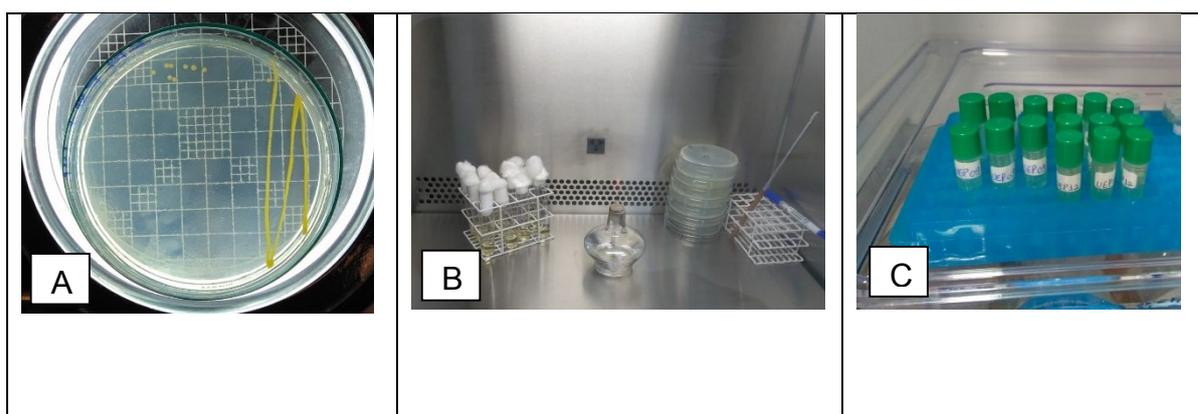


Fonte: Elaborada pelo autor, 2021.

3.1.3.3 Armazenagem dos isolados bacterianos

Após purificação e repicagem em placas de Petri os isolados bacterianos foram novamente repicados em meio Lúria Bertani (LB) líquido. Após 24 horas de crescimento armazenados em tubos criogênicos (2,0 mL) em triplicata. Formando uma solução com $\frac{1}{2}$ do tubo de LB com o material biológico e $\frac{1}{2}$ de solução glicerol (40%) (Figura 8). Os tubos criogênicos armazenados em congelador a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ seguindo metodologia adaptada de Bruisson *et al.*, (2019).

Figura 8 - Procedimento de armazenamento de bactérias. **A.** Isolado bacteriano pronto para ser armazenado. **B.** Repicagem de uma colônia individual para LB líquido em tubos de ensaio. **C.** Tubos criogênicos com a solução de LB líquido e glicerol após crescimento bacteriano.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2021.

3.1.4 Teste de antibiose de bactérias à *Botrytis cinerea*

Discos de 5 mm de meio de cultivo BDA (39 g/L^{-1}) contendo micélio do isolado monospórico de *B. cinerea*, crescido por sete dias nas condições de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h (PEDROTTI *et al.*, 2017) foram retirados e posicionados no centro de novas placas de Petri contendo meio de cultivo BDA (39 g L^{-1}). O fungo após novamente cultivado por 72h a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h de luz que recebeu as estirpes bacterianas para os referidos testes. Os isolados bacterianos foram crescidos no escuro em meio líquido LB (5 mL) por 48 h a $26\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após esse período, cinquenta microlitros de cada suspensão bacteriana foram transferidos para quatro pontos equidistantes da placa contendo crescimento de *B. cinerea*, totalizando quatro

isolados avaliados por placa (Figura 8). Foram realizadas quatro repetições por isolado. Incluindo a testemunha negativa apenas contendo o meio de cultivo LB e o fitopatógeno. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado. As placas foram incubadas a 25 °C à um fotoperíodo de 12 h de luz durante o período de avaliações.

Para avaliar a atividade antagônica dos isolados bacterianos sobre *B. cinerea*, foram realizadas avaliações do crescimento radial micelial (CATELLAN, 1999). As avaliações foram realizadas 24 e 72 h após a inoculação dos isolados bacterianos. Em cada avaliação foi medido o diâmetro do fungo e do halo de inibição, gerando assim um índice de inibição do desenvolvimento do fungo, conforme fórmula a seguir:

$$[[Dtf - Dcf / Dft/Hi]* 100.$$

Em que:

Dtf - diferença entre o desenvolvimento do fungo na placa com a presença do tratamento (cm);

Dcf - diferença entre o desenvolvimento do fungo na placa sem a presença do tratamento (testemunha) (cm);

Hi – Halo de inibição do fitopatógeno (cm);

De modo a complementar as avaliações foram capturadas imagens e analisadas com o software ImageJ e calculado o halo de inibição do fitopatógeno conforme Bruisson *et al.*, (2019). Os períodos de avaliação foram os mesmos conforme descrito anteriormente.

A área de inibição (A_i) foi calculada conforme a seguir: $A_i = A_c - A_b - A_t$, onde A_c é a média da área colonizada pelo fitopatógeno nas placas de controle negativo, A_b é a área colonizada pela bactéria na placa de teste e A_t é a área colonizada pelo fitopatógeno na placa de teste. A porcentagem de inibição do crescimento foi calculada pela fórmula: inibição da porcentagem = $100 \times A_i / (A_c - A_b)$, onde $A_c - A_b$ é a área disponível para o crescimento do fitopatógeno em placas de teste.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia de Microrganismos Promotores de Crescimento de Plantas na Universidade Federal de Santa Catarina/Campus de Curitibanos, Santa Catarina.

3.2 PRODUÇÃO INÓCULO DE *BOTRYTIS CINEREA*

O *B. cinerea* foi multiplicado logo em sequência do teste *in vitro* e acondicionado no centro das placas de Petri em meio BDA (39 g/L). Após sete dias de crescimento foi submetido a condições de oscilações de temperatura, acrescidas e diminuídas em 5° C um dia sim e outro não, pelo período de mais sete dias para indução de estresse e formação de conídios (Figura 10). Totalizando quatorze dias de crescimento.

Figura 6 - Placa de Petri usada para coleta de *Botrytis cinerea*



Fonte: Elaborada pelo autor, 2021.

Posteriormente foi realizado postulado Koch conforme descrito no capítulo anterior (item 3.2.3). Confirmada a patogenicidade de *B. cinerea* deu-se sequência ao teste *in vivo* (Figura 11).

3.2.1 Teste de Antibiose *in vivo*

Inicialmente bagas da cultivar Sauvignon Blanc foram excisadas da ráquis em um conjunto de cinco bagas com o auxílio de uma tesoura. Bagas eventualmente danificadas mecânicamente ou contaminadas foram descartadas. As bagas sadias selecionadas passaram por um processo de desinfestação com hipoclorito de sódio (1,0%) por 1 minuto e lavadas com água estéril 5 vezes. Posteriormente, as bagas foram secadas a temperatura ambiente para a retirada do excesso de água e distribuídas em caixas gerbox totalizando 20 bagas por caixa (figura 10).

As bagas foram perfuradas com uma agulha estéril numa profundidade de 3 mm x 3 mm de largura (Figura 12). Em seguida receberam os tratamentos de forma preventiva: Testemunha negativa sem inóculo do fitopatógeno (T0); Testemunha negativa com inóculo (T1); Testemunha positiva Ecoshot® (T2); Bactéria “UEN 13” (T3); Bactéria “UEN 14” (T4); Bactéria “UEP 38” (T5); Bactéria “UEP 40” (T6); Bactéria “UEP 43” (T7) e Bactéria “UEP 51” (T8). Tais estirpes bacterianas usadas neste experimento foram selecionadas com base no teste *In vitro*. Todas as bactérias tiveram o número de unidades formadoras de colônia (UFC's) padronizadas (1×10^4 UFC's/mL). As bagas após inoculação dos tratamentos permaneceram secando por um período de duas horas.

Figura 10- Bagas de S. Blanc após perfuração para recebimento dos tratamentos



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

O fitopatógeno *B. cinerea* foi inoculado em volume de 15 µL cada baga numa concentração de 1×10^5 conídios/mL sobre o tecido da baga perfurado. Para manutenção de umidade cada caixa gerbox recebeu um volume fixo de 2 mL de água destilada sobre o papel filtro.

O material foi acondicionado em BOD sob fotoperíodo de 12 horas de luz e a uma temperatura de $20 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ por um período de sete dias (tempo de vida útil do cacho em boas condições de sanidade a temperatura ambiente).

O experimento foi avaliado nos dias 1, 3 e 7 dias após a inoculação. Para incidência recebeu a nota 0 (quando não tinha sintoma da doença) e 1 (quando tinha sintoma da doença). Para calcular o percentual (%) da inibição do crescimento do fungo foi usado a seguinte fórmula (Pantelides *et al.*, 2015, adaptado pelo autor):

$100 - [(\text{diâmetro do crescimento da colônia do fitopatógeno sobre a baga tratada com o fitopatógeno e a bactéria/ testemunha negativa sem o fitopatógeno e a bactéria}) \times 100]$.

3.2.2 Testes bioquímicos para caracterização dos isolados bacterianos

Foram efetuados testes de fermentação através do uso de glicose e lactose (separados), lisina, indol, prova de oxidação e fermentação, citrato e uréia (Figura 13).

Para o teste de fermentação através da glicose o meio foi composto de Peptona (4 g); Extrato de Carne (0,4 g); Cloreto de Sódio (2 g); Vermelho de Fenol (0,0072 g); Glicose (2 g) e Água destilada (400 mL). Enquanto para o teste de fermentação de Lactose apenas era substituído a glicose por lactose, permanecendo os demais reagentes.

Para o de Lisina o meio foi composto por Peptona (1g); Extrato de Levedura (0,6g); Dextrose (0,2g); Lisina (0,04); Purpura de bromocresol (0,04 g) e Água Destilada (200 mL).

O de indol foi composto por Peptona (6g); Extrato de Carne (0,6g); Ferro Peptonizado (0,04g); Trissulfato de Sódio (0,005g); Agar (0,6 g) e Água destilada (200mL).

Para a prova de Oxidação e Fermentação o meio foi composto de Peptona (0,4 g); NaCl (1g); Fosfato de potássio (0,06 g); Agar (0,6 g); Azul de bromotimol (0,016 g) e Água Destilada (200 g).

Para o teste de Citrato o meio foi composto de Sulfato de Magnésio (0,2g);

Fosfato di- hidrogenado de amônia (0,2g); Fosfato dipotássico (0,2g); Citrato de sódio (0,4 g); Cloreto de Sódio (1g); Agar (3g); Solução Alcoólica de azul-de-bromotimol a 1% (0,016 g) e Água Destilada - 200 mL

O teste de Uréia foi de Peptona (0,2g); Glicose (0,2g); Cloreto de Sódio (1g); Fosfato dipotássico (0,4g); Vermelho-de-fenol (0,0024g); Agar (2,4g) e Agua Destilada (200 mL).

Para todos os testes bioquímicos foram realizadas cinco repetições para cada isolado bacteriano, contendo cinco mL de cada meio por tubo de ensaio.

Para análise dos testes de fermentação eram observados a presença (positivo) ou ausência da formação de “bolha” de oxigênio. Para os demais testes era observado a alteração (positivo) ou não (negativo) da coloração do meio de cultivo.

Figura 11 - Preparo de meios de cultivo usados para os testes bioquímicos.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

3.2.3 Análise estatística

Os dados foram submetidos à ANOVA e quando significativo ao teste de separação de médias, utilizando-se o teste de *Scott-Knott* a 5% de probabilidade de erro. Os dados obtidos em todas as variáveis (notas da escala) foram transformados pela equação \sqrt{x} para o teste de normalidade. Foram usados para análises estatísticas destes dados os *softwares* SISVAR versão 5.3 (FERREIRA, 2010) e Microsoft Excel 2007 (HAMANN, 2011) adaptado pelo autor.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ISOLAMENTO BACTERIANO E TESTES *IN VITRO* E *IN VIVO*

Foram obtidos 52 isolados bacterianos morfológicamente distintos com relação ao padrão morfológico de coloração e rugosidade, sendo 31 de origem epifíticas (UEP) (Tabela 1) e 21 endofíticas (UEN) (Tabela 2). Destes isolados, nove epifíticas e cinco endofíticas obtiveram significativamente o maior potencial de biocontrole sobre *B. cinerea* no teste *in vitro* com base no período de 24 e 72 horas de avaliação (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1- Primeira análise (“screening”) de antibiose de isolados bacterianos epifíticos à *B. cinérea*.

(continua)

| Tempo | 24h | 72h |
|-----------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Isolados | Diam. Halo de inibição (cm) | Diam. Halo de inibição (cm) |
| UEP13 | 0.21a | 0.00a |
| UEP01 | 0.26a | 0.23a |
| UEP60 | 0.31a | 0.00a |
| UEP02 | 0.37a | 0.26a |
| UEP09 | 0.48a | 0.16a |
| UEP03 | 0.53a | 0.14a |
| UEP20 | 0.66b | 0.14a |
| UEP48 | 0.72b | 0.50a |
| UEP26 | 0.78b | 0.37a |
| UEP45 | 0.83b | 0.62b |
| UEP34 | 0.90c | 0.78b |
| UEP27 | 0.90c | 0.76b |
| UEP33 | 0.96c | 0.78b |
| UEP 28 | 1.01c | 0.88b |

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na coluna pelo método de Scott-Knott em nível de 5%. Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Tabela 1 – Primeira análise (“screening”) de antibiose de isolados bacterianos epífitos à *B. cinerea*.

(Continuação)

| Tempo | 24h | 72h |
|-----------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Isolados | Diam. Halo de inibição (cm) | Diam. Halo de inibição (cm) |
| UEP46 | 1.01a | 0.47 a |
| UEP35 | 1.02 a | 0.80b |
| UEP24 | 1.03 a | 0.36a |
| UEP32 | 1.08 a | 0.69b |
| UEP25 | 1.10 a | 0.89b |
| UEP17 | 1.12 a | 0.67b |
| UEP41 | 1.17 a | 0.33a |
| UEP39 | 1.17 a | 0.94b |
| UEP38 | 1.28b | 1.06b |
| UEP44 | 1.28b | 0.78b |
| UEP51 | 1.32b | 0.80b |
| UEP43 | 1.34b | 1.04b |
| UEP40 | 1.40b | 1.08b |
| UEP37 | 1.42b | 1.32b |
| UEP42 | 1.46b | 1.33b |
| UEP49 | 1.47b | 1.12b |
| UEP50 | 1.54b | 1.12b |
| CV (%) | 27.10 | 36.69 |

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na coluna pelo método de Scott-Knott em nível de 5%. Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Ambas classificações de bactérias tanto epífitas quanto endofíticas demonstram um efeito positivo de biocontrole sobre *B. cinerea*. Bactérias endofíticas denominadas UEN 08, UEN 13, UEN 14, UEN 16 e UEN 20 obtiveram a maior média em relação as demais bactérias do mesmo grupo.

Tabela 2- Primeira análise (“screening”) de antibiose de isolados bacterianos endofíticos à *B. cinerea*.

| Tempo | 24h | 72h |
|-----------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Isolados | Diam. Halo de inibição (cm) | Diam. Halo de inibição (cm) |
| UEN28 | 0.26b | 0.00b |
| UEN01 | 0.68a | 0.00b |
| UEN07 | 0.74a | 0.00b |
| UEN02 | 0.76a | 0.00b |
| UEN15 | 0.81a | 0.00b |
| UEN04 | 0.86a | 0.00b |
| UEN06 | 0.88a | 0.00b |
| UEN05 | 0.89a | 0.00b |
| UEN16 | 0.91a | 0.17a |
| UEN11 | 0.92a | 0.00b |
| UEN09 | 0.93a | 0.00b |
| UEN19 | 0.95a | 0.00b |
| UEN17 | 0.96a | 0.00b |
| UEN13 | 0.96a | 0.24a |
| UEN03 | 0.98a | 0.00b |
| UEN14 | 1.00a | 0.47a |
| UEN20 | 1.02a | 0.22a |
| UEN08 | 1.05a | 0.16a |
| UEN12 | 1.07a | 0.00b |
| UEN10 | 1.07a | 0.00b |
| UEN18 | 1.12a | 0.00b |
| CV (%) | 15.28 | 33.46 |

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na coluna pelo método de Scott-Knott em nível de 5%. Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Bactérias endófitas são consideradas como agentes de biocontrole de interesse devido ao seu alto grau de adaptação endófito, pois são capazes de penetrarem através de estômatos do hospedeiro, ou através de lesões nas folhas e caules. Capazes de sobreviverem mais facilmente em condições de estresses abióticos, como exemplo aplicações repetidas de agroquímicos, o que na maioria das vezes inviabiliza a sobrevivência de agentes de biocontrole (HAIDAR, 2016). Indicando assim no presente trabalho de que as bactérias UEN 08, UEN 13, UEN 14, UEN 16 e UEN 20 caso comprovado sua eficiência no controle biológico em condições à campo podem ter maiores condições de sobrevivência a campo, aumentando sua eficiência no biocontrole de *Botrytis cinerea*.

Porém de certa forma as bactérias de origem epifíticas também não podem ser desprezadas, pois independente da origem, ambas classificações de bactérias podem tornar-se importantes agentes de biocontrole. Pois podem promover ações distintas em seu hospedeiro, desenvolvendo efeitos antagônicos diferentes dependendo do órgão vegetal atingido. *Actinobacter iwoffii* PTA-113 e *Pseudomonas fluorescens* PTA-CT2 por exemplo atuam contra *B. cinerea* em folhas, enquanto *A. iwoffii* PTA-113 ou *Pantoea agglomerans* PTA-AF1 demonstram melhores resultados em bagas (MAGNIN-ROBERT *et al.*, 2007).

Os isolados bacterianos tanto das epifíticas quanto as endofíticas selecionados com base no primeiro *screening* seguiram para um novo experimento *In vitro* com menor número de tratamentos.

4.1.1 Segunda seleção de isolados bacterianos

Com base na seleção dos isolados anteriores obteve-se uma segunda seleção. Onde destacou-se os isolados bacterianos UEN 13, UEN 14, UEP 38, UEP 40, UEP 43, UEP 51 (Tabela 3).

Tais isolados bacterianos ainda não se conhece o efeito antagônico que promovem sobre o fitopatógeno, porém como pode ser observado nos resultados, estes promovem algum efeito positivo de biocontrole sobre o fitopatógeno.

Tabela 3- Segunda análise de antibiose dos isolados bacterianos à *B. cinérea*.

(Continua)

| Tempo | 24h | | 72h | |
|---------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|------------------|
| | Diam. Halo de inibição (cm) | | Diam. Halo de inibição (cm) | |
| | Análise manual | Software Image J | Análise manual | Software Image J |
| UEP 44 | 0.29 a | 0.60 a | 0.44 a | 0.10 a |
| UEP 37 | 0.34 a | 0.26 a | 0.40 a | 0.29 a |
| CV (%) | 27.93 | 34.00 | 27.43 | 34.04 |

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na coluna pelo método deScott-Knott em nível de 5%. Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Tabela 3 – Segunda análise de antibiose dos isolados bacterianos à *B. cinérea*.

(Continuação)

| Tempo | 24h | | 72h | |
|---------------|--------------------------------|---------------------|--------------------------------|---------------------|
| | Diam. Halo de inibição (cm) | | Diam. Halo de inibição (cm) | |
| | Análise manual | Software Image J | Análise manual | Software Image J |
| UEP 49 | 0.81 b | 0.60 b | 0.89 b | 0.76 c |
| UEP 53 | 1.02 b | 0.72 b | 1.01 c | 0.85 c |
| UEP 38 | 1.47 c | 1.07 c | 1.21 c | 1.03 d |
| UEP 43 | 1.58 c | 1.13 c | 1.26 c | 1.06 d |
| UEP 51 | 1.64 c | 1.16 c | 1.28 c | 1.08 d |
| UEP 40 | 1.65 c | 1.13 c | 1.28 c | 1.06 d |
| UEN 13 | 1.75 c | 1.19 c | 1.32 c | 1.08 d |
| UEN 14 | 1.78 c | 1.27 c | 1.33 c | 1.12 d |
| CV (%) | 27.93 | 34.00 | 27.43 | 34.04 |

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo método de Scott-Knott em nível de 5%. Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Acima como podemos observar os métodos de avaliação apresentaram comportamento similar entre si. Ou seja, indica que o método de avaliação através do *Software* “Image J” é eficiente e confirma os dados de avaliação manual. Em que os isolados bacterianos “UEP 38”, “UEP 43”, “UEP 51”, “UEP 40”, “UEN 13” e “UEN 14” apresentaram um maior efeito de biocontrole sobre o fitopatógeno *Botrytis cinerea* em comparação aos demais isolados.

4.1.2 Testes bioquímicos

Os teste bioquímicos foram realizados apenas nos isolados bacterianos que mais se destacaram com base nos resultados de biocontrole positivos, podendo ser observados a seguir na tabela 5.

Tabela 4- Testes bioquímicos efetuados nos isolados bacterianos após 48 hrs de crescimento em meio de cultura específico.

| Isolados | Gram | Morfologia celular | Glicose | Lactose | Citrato | OF | OF c/ óleo | Ureia | Lisina | Indol |
|----------|------|--------------------|---------|---------|---------|----|------------|-------|--------|-------|
| UEP 38 | + | Coco | - | - | - | - | - | - | - | - |
| UEP 40 | + | Coco | - | - | - | - | - | + | - | + |
| UEP 43 | + | Coco | - | - | - | - | - | + | - | + |
| UEP 51 | + | Coco | - | - | - | - | - | - | - | - |
| UEN 13 | + | Coco | - | - | - | - | - | + | - | + |
| UEN 14 | + | Coco | - | - | - | - | - | + | - | + |

(+) - positivo; (-) – Negativo

OF – Testes de Oxidação e fermentação

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Com base nos resultados observou-se que todas bactérias foram Gram positivas, apresentaram morfologia celular estilo “Coco”. Também que não realizam algum tipo de fermentação, não havendo produção de CO₂. E que apenas os isolados “UEP 40”, “UEP 43”, “UEN 13” e “UEN 14” foram positivas para o teste de uréia e que realizam a degradação da mesma através da enzima urease. Enquanto que no teste da Lisina houve a presença da enzima Lisina Descarboxilase para as mesmas bactérias. O que indica que para estes isolados utilizam tanto a uréia quanto o Indol como fontes de carbono. E que os demais isolados bacterianos não utilizam Glicose, Lactose, Citrato, OF, OF com óleo e lisina como fonte de carbono para que ocorresse a respiração.

4.1.3 Teste de Antibiose *In vivo*

Todas as bactérias testadas no teste *in vivo* demonstraram efeito positivo no biocontrole de *B. cinerea*. Os isolados bacterianos “UEN 14”, “UEP 38”, “UEP 40” e “UEP 43” apresentaram em média porcentagem de incidência da doença inferiores a testemunha negativa com inóculo do fitopatígeno. Enquanto que os isolados “UEN 13” e “UEP 51” apresentaram médias de incidência de porcentagem da doença ainda mais inferiores em comparação a testemunha negativa com inóculo do fitopatígeno e

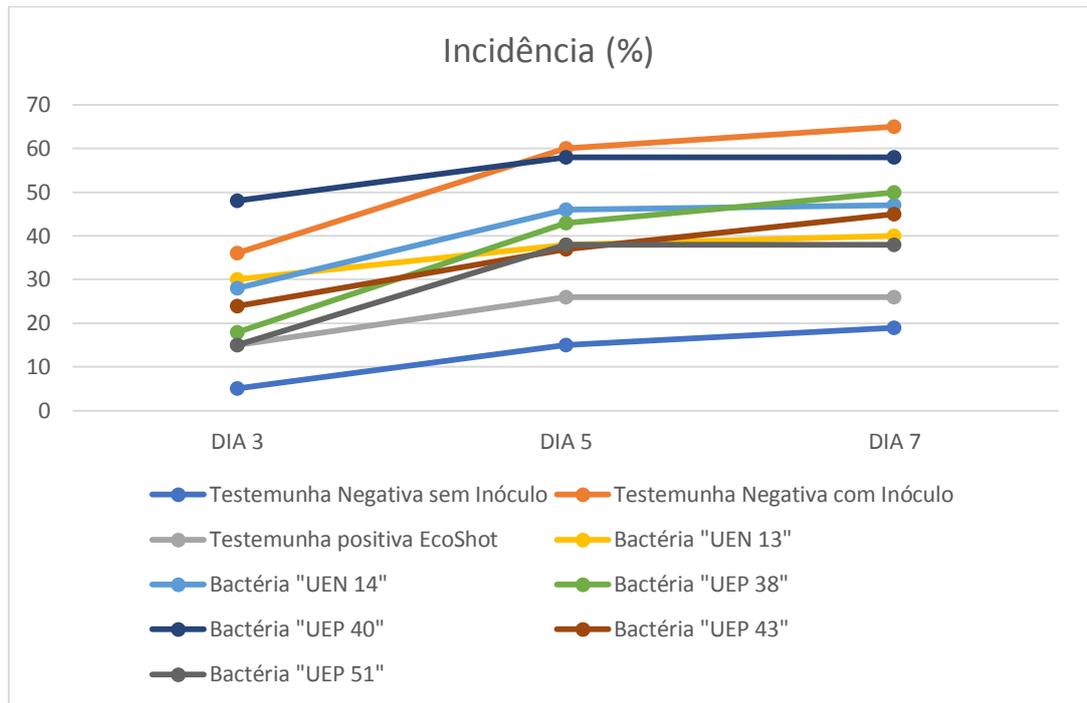
aos isolados citados acima, se aproximando na última avaliação a testemunha positiva (Tabela 5 e Figura 12).

Tabela 5- Valores de incidência (em porcentagem) do teste *In vivo* dos isolados bacterianos sobre o fitopatógeno.

| Tratamentos | DIA 3 | DIA 5 | DIA 7 |
|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | Incidência da doença (%) | Incidência da doença (%) | Incidência da doença (%) |
| Testemunha Negativa sem Inóculo | 5 a | 15 a | 19 a |
| Testemunha Negativa com Inóculo | 36 b | 60 c | 65 c |
| Testemunha positiva EcoShot | 15 a | 26 a | 26 a |
| Bactéria "UEN 13" | 30 b | 38 b | 40 a |
| Bactéria "UEN 14" | 28 b | 46 b | 47 b |
| Bactéria "UEP 38" | 18 a | 43 b | 50 b |
| Bactéria "UEP 40" | 48 c | 58 c | 58 b |
| Bactéria "UEP 43" | 24 a | 37 b | 45 b |
| Bactéria "UEP 51" | 15 a | 38 b | 38 a |
| CV (%) | 37,4 | 29,3 | 36,7 |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Figura 12 - Incidência de *B. cinerea* nos dias 3, 5 e 7 dias após a inoculação de *Botrytis cinerea* em bagas destacadas.



Fonte: Elaborada por autor, 2022.

No gráfico acima confirma-se a informação de que os isolados bacterianos apresentaram efeito de biocontrole sobre o *B. cinerea*. Com destaque aos isolados bacterianos "UEN 13" e "UEP 51" que obtiveram a maior média em relação aos demais.

5 CONCLUSÃO

Ao todo obteve-se 52 isolados bacterianos morfologicamente diferentes, sendo 31 de origem epifítica e 21 de origem endofíticas.

Os isolados bacterianos epifíticos “EUP 38”, “UEP 51”, “UEP 40” e os isolados bacterianos endofíticos “UEN 13”, “UEN 14” inibiram o crescimento micelial em relação aos demais isolados no teste *In vitro*.

Os isolados “UEP 40”, “UEP 43”, “UEN 13” e “UEN 14” utilizam a uréia quanto o indol como fonte de carbono.

Os isolados “UEN 13” e “UEP 51” são os que mais se destacaram em relação aos demais isolados bacterianos, obtendo a menor média de incidência da doença no teste *In vivo*.

Os resultados apresentados neste trabalho indicam o potencial de biocontrole de *Botrytis cinerea* por isolados bacterianos endofíticos e epifíticos obtidos de videira cv. Sauvignon Blanc oriundos da região do Planalto Central de Santa Catarina.

6 REFERÊNCIAS

- ADAM-BLONDON, A. F. *et al.* Mapping 245 SSR markers on the *Vitis vinifera* genome: a tool for grape genetics. **Theoretical And Applied Genetics**, [S.l.], v. 109, n. 5, p.1017-1027, jun. 2004.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5 ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2005.922p.
- ALAGUMANI, T.; ANJUGAM, M. Economic analysis of grape production in Tamil Nadu. **Journal of Innovative Agriculture**, v.5, n.1, p. 13-18, mar 2018.
- ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético**. São Paulo: Edgard Blüchner, 1971. 381p.
- ALFONZO, A. *et al.* Antagonism of *Bacillus subtilis* strain AG1 against vine wood fungal pathogens. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 48, n. 1, p. 155–158, 2009.
- ALMANÇA, M. A. K; LERIN, S; CAVALCANTI, F. R. Doenças da videira. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 36, n. 289, p.7-12, 2015.
- AKKERMANS, R. Historical profile: Robert Heinrich Herman Koch. **Lancet Respir Med**. v.2, n. 4, p. 264-265, 2014.
- AMARANTE, C. V. T. do. *et al.* Fruit quality of Brazilian genotypes of feijoa at harvest and after storage. **Pesq. Agropec. Brs**, Brasília, v.52, n.9, p. 734-742, set. 2017.
- AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da videira. *In*: KIMATI, H. *et al.* **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**, Volume-2. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p.639-651.
- AMORIM, L. *et al.*, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**, Volume-1. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2011. 704p.
- ANDREINI, L. *et al.* Study on the morphological evolution of bud break in *Vitis vinifera* L. **Vitis**, v. 48, n. 4, p.153-158, 2009.
- ANGELOTTI, F. Aspectos agrometeorológicos da cultura da videira. *In*: PEREIRA, F. A. do; PEREIRA, R. M (Ed.). **Sistema de Produção: Cultivo da Videira**. [S.l.]: Embrapa Semiárido, 2010.

ANGELOTTI, F. *et al.* Resistência de genótipos de videira à ferrugem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 9, p.1130-1134, set. 2008.

ANZANELLO, R. Caracterização da fruticultura no Rio Grande do Sul por meio da análise dos dados do cadastro vitícola. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**. Porto Alegre, v.18, n.1, p.67-73, 2012.

ARRUDA, K. M. A. **Piramidação de genes de resistência à antracnose, ferrugeme mancha angular e estudos de alelismos em feijão comum**. 2009. 129 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

ASH, G. Downy mildew of grape. **The Plant Health Instructor**, [S.I.], 2000.

BACK, Á. *et al.* Tendências nos índices climáticos e agroclimáticos aplicados à videira no planalto serrano de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 13, n. 9, p.137-148, jul/dez. 2013.

BANCO REGIONAL DE DESENVOLVIMENTO DO EXTREMO SUL AGÊNCIA DE FLORIANÓPOLIS - SANTA CATARINA (Santa Catarina). **Vitivinicultura em Santa Catarina: situação atual e perspectivas**. Florianópolis: Brde, 2005. 83 p. Disponível em: <[http://www.brde.com.br/media/brde.com.br/doc/estudos_e_pub/Vitivinicultura em Santa Catarina.pdf](http://www.brde.com.br/media/brde.com.br/doc/estudos_e_pub/Vitivinicultura%20em%20Santa%20Catarina.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2017.

BARNI, E. J. *et al.* **Potencial de mercado para uva de mesa em Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2007. 47 p.

BRACERO, M. M. **Aerobiological and phenological study of vineyards in the denomination of origin Montilla-Moriles**. 2019. 158 f. Tese (Doutorado) - Programa de doctorado Recursos Naturales y Gestión Sostenible. Cordoba, Spain.

BELLIN, D *et al.* Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. **Theoretical And Applied Genetics**, v. 120, n. 1, p.163-176, set. 2009.

BEVILAQUA, G. A. P. Avaliações físico-químicas durante a maturação de videiras cultivadas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 1, n. 3, p.151-156, set. 1995.

BISSON, L. F *et al.* The present and future of the international wine industry.

Nature, v. 418, n. 689, p.696-699, ago. 2002.

BLASI, P. *et al.* Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of *Rpv8*, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. **Theoretical And Applied Genetics**, [S.l.], v. 123, n. 1, p.43-53, mar. 2011.

BLOUIN, J.; GUIMBERTEAU, G. **Maturation et maturité des raisins**. Bordeaux: Éditions Féret, 2000. 151p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de plantas**. 5.ed. Viçosa: UFV, 2009.529p.

BORGHEZAN, M. *et al.* Comportamento vegetativo e produtivo da videira e composição da uva em São Joaquim, Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.4, p.398-405, abr. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Complementação de padrões de identidade e qualidade de vinho**. Portaria n.º229, de 25 de outubro de 1988, República Federativa do Brasil, Brasília (DF) out. 1988.

BRASIL. Instituto Brasileiro de geografia e estatística - IBGE. (Org.). **Levantamentosistemático da produção agrícola: Pesquisa Mensal de Previsão e Acompanhamento das Safras Agrícolas no Ano Civil**. Rio de Janeiro: IBGE, v. 29, n.12, 2016. 82 p. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/2016/lspa_201612_20170222_133000.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/2016/lspa_201612_20170222_133000.pdf)>. Acesso em: 18 dez. 2017.

BRASIL. Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Produção de Uvas em Pequenas propriedades**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/pesquisa/pupp/pupp.html>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

BRASIL. Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Produção de Uvas em Pequenas propriedades**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2013. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/pesquisa/pupp/pupp.html>>. Acesso em: 13 jan

2018.

BRAVETTI, B. *et al.* Canopy Density Modification and Crop Control Strategies on 'Montepulciano' (*Vitis vinifera* L.). **Acta Horticulturae**, v. 931, p. 331-337, 2012.

BRUISSON, S. *et al.* Endophytes and Epiphytes From the Grapevine Leaf Microbiome as Potential Biocontrol Agents Against Phytopathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1–17, nov. 2019.

BRIGHENTI, E; TONIETTO, J. **O clima de São Joaquim para a viticultura de vinhos finos: classificação pelo sistema CCM Geovítcola**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2004. 4 p.

BRIGHENTI, A. F *et al.* Desempenho vitivinícola da Cabernet Sauvignon sobre diferentes porta-enxertos em região de altitude de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 1, n. 33, p.96-102, mar. 2011.

BRIGHENTI, A. F. *et al.* Caracterização fenológica e exigência térmica de diferentes variedades de uvas viníferas em São Joaquim, Santa Catarina — Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 7, n. 43, p.1162-1167, jul. 2013.

BRIGHENTI, A. F. **Avaliação de variedades de videira (*Vitis vinifera* L.) autóctones italianas no terroir de São Joaquim - SC**. 2014. 174 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

BRIGHENTI, A.F. *et al.* Vitivinicultura de altitude: realidade e perspectivas. **Agropecuária Catarinense**, v.29, p.140-146, 2016.

BRIXNER, G. F *et al.* Caracterização fenológica e exigência térmica de videiras *Vitis vinifera*, cultivadas no município de Uruguaiana, na região da fronteira Oeste – RS. **Fzva**, Uruguaiana, v. 17, n. 2, p.221-233, 2010.

BRUISSON, S. *et al.* Endophytes and Epiphytes From the Grapevine Biocontrol Agents Against Phytopathogens. **Frontiers in Microbiology**, Fribourg, v. 10, n.2726, p. 1-7, 2019.

BUFFARA, C.R.C. *et al.* Elaboration and validation of a diagrammatic scale to

assess downymildew severity in grapevine. **Ciência Rural**, v. 44, n. 8, p. 1384-1391, ago. 2014.

BUSIN, I. **A importância do cultivo e da produção da uva bordô para a agricultura familiar de Monte Alegre dos Campos**. UFRRJ, Seropédica, RJ, 2002. Disponível em: <http://www.emater.tche.br/site/arquivos_pdf/teses/Mono_Ivan_Busin.pdf>. Acesso em: 28 dez 2017.

CALIARI, V. Uva e vinho. **Síntese Anual da Agricultura de Santa Catarina**. Florianópolis, SC: Epagri. ed. 37, p. 1-191, 2016.

CALONNEC, A. *et al.* The reliability of leaf bioassays for predicting disease resistance on fruit: a case study on grapevine resistance to downy and powdery mildew. **Plant Pathology**, v. 62, n. 3, p.533-544, 4 ago. 2012.

CAMARGO, U.A., RITSCHER, P.S. New table and wine grape cultivars: world scenario with emphasis on Brazil. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.785, p.89-95,2008.

CAMARGO, U. A. *et al.* **Novas cultivares brasileiras de uva**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2010. 64 p.

CARGNIN, A. P. *et al.* **Atlas Sócioeconômico do Rio Grande do Sul: Uva e Maçã**. 15. ed. Porto Alegre: Departamento de Planejamento Governamental - Deplan, 2017. Disponível em: <<http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/uva-e-maca>>. Acesso em: 29 dez. 2017.

CARVALHO JUNIOR, L. C.; SOARES, M.M. A cadeia produtiva de uvas e vinhos de Santa Catarina: uma análise das transformações entre os seus segmentos. **Textos de Economia**, Florianópolis, v. 14, n. 1, p.103-117, abr. 2011.

CAVALCANTI, F. R. *et al.* **Aspectos da Indução de Resistência em Plantas de Videira**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2015. 20 p.

CHAVARRIA, G; SANTOS, H. P dos. Manejo de videiras sob cultivo protegido. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 6. p.1917-1924, dez. 2009.

COLLARD, B. C. Y. *et al.* An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica**, v. 142, n. 1-2, p.169-196, jan. 2005.

COMPANT, S. *et al.* Use of beneficial and their secondary metabolites to control grapevine pathogen diseases. **Bio Control**, v. 58, n. 4, p. 1-21, 2013.

CONDE, C. *et al.* Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality. **Food**, v.1, p.1-22, 2007.

CONSTANTINESCU, G. Méthodes et principes de détermination des aptitudes viticoles d'une région et du choix des cépages appropriés. **Bulletin de l'OIV**, Paris, v. 40, p.179-205, 1967.

CONSORTIUM, R. Combining Selective Pressures to Enhance the Durability of Disease Resistance Genes. **Frontiers In Plant Science**, [S.I.], v. 7, p.1-8, dez. 2016.

COSTESCU, A. The grapevine culture in vineyard Stefanesti-Arges, over time. **Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology**, v. 17, n. 1, p.95-98, jan. 2013.

CZERMAINSKI, A. B. C.; SÔNEGO, O. R. Influência das condições climáticas sobre a eficácia de fungicidas empregados para o controle do míldio em *Vitis vinifera*. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p.5-11, fev. 2004.

DELMAS, C. E. L. *et al.* Adaptation of a plant pathogen to partial host resistance: selection for greater aggressiveness in grapevine downy mildew. **Evolutionary Applications**, v. 9, n. 5, p.709-725, fev. 2016.

DUARTE, V. N. Estudo da cadeia produtiva do vinho em Santa Catarina: Características e estágio atual. **Evidência**, Joaçaba, v. 13, n. 1, p.41-56, jan/jun. 2013.

ELLIS, M. A. **Downy Mildew of Grape**. Ohio State University Extension: Agriculture and Natural Resources, 2008. 3 p.

EIBACH, R.; TÖPFER, R. Traditional grapevine breeding techniques. *In*: REYNOLDS, A. (Ed.). **Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry**. Canadá: Woodhead Publishing, 2015. Cap. 1. p. 1-466.

EIBACH, R. *et al.* The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. **Vitis**, v.46, p.120-124,2007.

EICHHORN, K. W.; LORENZ, H. Phaenologische entwicklungsstadien der rebe. **Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes**. Braunschweig, v. 29,p. 119- 120, 1977.

EPAGRI/ CEPA – Centro de Socioeconomia e Planejamento Agrícola.
“Produção por microrregião – Uva vinífera”, ano safra 2015/16 e 2016/17, InfoAgro/SC. Disponível em:
 <file:///C:/Users/Claudemar/Desktop/organizar/CAV-
 UDESC/Refer%C3%A2ncias%20Amauri%20Bogo-Botrytis%20cinerea/Bem-
 2017-Botrytis-bunch-rot-on-sauvignon-bla_traduzido.pdf. >. Acesso em: 29 dez. 2018.

FALCÃO, L.D. *et al.* Vineyard altitude and mesoclimate influences on the phenology and maturation of cabernet-sauvignon grapes from Santa Catarina State. **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v.44, n. 3, p.135-150, 2010.

FAO. **FAOSTAT: Countries by commodity: Rankings Top 20 Countries Production of Grapes** Disponível: <
http://www.fao.org/faostat/es/#rankings/countries_by_commodity >. Acesso em: 18 dez. 2017.

FEDELE, G. *et al.* The colonization of grape Bunch Trash by Microorganisms for the biocontrol of botrytis cinerea as influenced by temperature and humidity. **Agronomy based**, v. 10, n. 11, nov. 2020.

FERREIRA, J. H. S. *et al.* Biological Control of Eutypa lata on Grapevine by an Antagonistic Strain of Bacillus subtilis. **Phytopatology**, v. 81, p. 283–287, 1991.

FERREIRA, E. T. D. *et al.* Processo de produção do vinho fino tinto. In: IV Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial, 2010, Campo Mourão. **Anais...** Campo Mourão: FECILCAM, 2010.

FILHO, G. I. **Brasil expande produção de vinho, mas mapeamento ainda é deficiente.** 2014. Disponível em:

<<http://revistagloborural.globo.com/Noticias/noticia/2014/07/brasil-expande-producao-de-vinho-mas-mapeamento-ainda-e-deficiente2.html>>. Acesso em: 16 dez.2017.

FLORES, C.A. **Influência do solo na tipicidade do vinho.** 2011. Artigo

emHypertexto. Disponível em:
<http://www.infobibos.com/Artigos/2011_4/vinho/index.htm>. Acesso em:
26/12/201

FAO. **FAOSTAT**: Countries by commodity, 2017. Disponível em: <
https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity>. Acesso
em 20 Mai. 2022.

FRAGA, H. *et al.* An overview of climate change impacts on European
viticulture. **Food And Energy Security**, Vila Real, v. 1, n. 2, p.94-110, nov. 2012.

FREGONI, M. **Viticultura di qualità**. Verona: Edizione l'Informatore
Agrário, 1998. 707p.

GARRIDO, L. R. da; SÔNEGO, O. R. Míldio da videira. **Cultivar Hortaliças e
Frutas**, Pelotas, v. 2 n. 11, p. 22-23, jan. 2002.

GARRIDO, L. R. da; SÔNEGO, O. R. Doenças Fúngicas e Medidas de Controle.
In: PROTA, J. F. S. et al. **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de
Clima Temperado**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003.

GALET, P. **Précis de viticulture**. 4.ed. Montpellier: Déhan, 1983. 584p.

GALET, P. **A practical ampelography: grapevine identification**. Ithaca:
CornellUniversity Press, 1979. 248 p.

GALLOTTI, G. J. M. *et al.* **Doenças da videira e seu controle em Santa Catarina**.
Florianópolis: EPAGRI, 2004. 90p. (EPAGRI, Boletim técnico 51).

GAVIOLI, O. **Comportamento vitícola da variedade Cabernet sauvignon
(*Vitis vinifera* L.) em dois municípios do Planalto Sul Catarinense**. 2011.67
f. Dissertação(Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Recursos Genéticos
Vegetais, Departamento de Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal
de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

GENTA, W. *et al.* Manejo de míldio no cultivo protegido de videira de mesa 'BRS
Clara'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 12, p.1388-1395,
dez. 2010.

GESSLER, C. *et al.* *Plasmopara viticola*: A review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 50, n. 1, p.3-44, abr. 2011.

GISMONDI, A. *et al.* Grapevine carpological remains revealed the existence of a Neolithic domesticated *Vitis vinifera* L. specimen containing ancient DNA partially preserved in modern ecotypes. **Journal of Archaeological Science**, Roma, v. 69. p. 75-84. 2016.

GINDRO, K. *et al.* Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 1, n. 9, p. 846-853, set. 2003.

GONZALEZ-FERNANDEZ, E. *et al.* Identification and evaluation of the main risk periods of *Botrytis cinerea* infection on grapevine based on phenology, weather conditions and airborne conidia. **Journal of Agricultural Science**, v. 158, n. 1–2, p. 88–98, 2020a.

GONZALEZ-FERNANDEZ, E. *et al.* Identification and evaluation of the main risk periods of *Botrytis cinerea* infection on grapevine based on phenology, weather conditions and airborne conidia. **Journal of Agricultural Science**, v. 158, n. 1–2, p. 88–98, mar. 2020b.

GONZÁLEZ-NEVES, G. *et al.* Varietal differentiation of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and wines according to their anthocyanic composition. **European Food Research and Technology**, v. 225, n.1, p. 111-117, 2007.

GOULART JUNIOR, R. *et al.* **Relatório sobre a Fruticultura Catarinense: Fruticultura em números - Safra 2014/15**. Florianópolis: Epagri, 2017. (Epagri. Documentos, 271).

GOULART JUNIOR, R. *et al.* Caracterização socioeconômica da produção de uvas e vinhos de altitude de Santa Catarina. *In*: CONGRESSO DA APDEA, 9., 2019. **Anais....**Florianópolis: Epagri, 2019. 1-20p.

GRIS, E. F. *et al.* Phenology and ripening of *Vitis vinifera* L. grape varieties in São Joaquim, southern Brazil: a new South American wine growing region. **Investigación Agraria**, v.37, n.2,p.61-75, 2010.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SÔNEGO, O. R. **Principais doenças fúngicas da videira no Brasil**. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA-CNPUV, 1993. 36 p. (EMBRAPA-CNPUV.Comunicado Técnico, 17).

GUERRA, C. C. Maturação da uva e condução da vinificação para a elaboração de vinhos finos. *In*: SIMPÓSIO MINEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 1., 2002, Andradas. **Anais...** Andradas: Embrapa Uva e Vinho, 2002. p. 179 - 192.

GUERRA, C. C. *et al.* **Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2009. 69 p. (EMBRAPA, Documento nº49).

GUERRA, C. C; ZANUS, M. C. Maturação e Colheita. *In*: KUHN, G. B. *et al.* **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003.

Haidar, R. *et al.* Modes of action for biological control of *Botrytis cinerea* by antagonistic bacteria. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 55, n. 3, p. 301-322, 2016.

HALL, A.; JONES, G.V. Spatial analysis of climate in winegrapegrowing regions in Australia. **Australian Society of Viticulture and Oenology**, v. 16, p. 389-404, 2010.

HAMANN, F. A. **Aspecto do controle Biológico de Botrytis cinérea Pers. Ex. Fr. em madeira**. 2011. 83 f. Dissertação (Mestrado)- Curso no Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento Produção vegetal. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 2011.

HAO, Z. *et al.* Biocontrol of grapevine aerial and root pathogens by *Paenibacillus* sp. strain B2 and paenimyxin *in vitro* and *in planta*. **Biological Control**, Beijing, v. 109. p. 42-50. 2017.

HUNTER, J.J.; BONNARDOT, V. Suitability of Some Climatic Parameters for Grapevine Cultivation in South Africa, with Focus on Key Physiological Processes. **South African Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 32, n. 1, p.137-154, 2011.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **Produção agrícola de lavoura permanente**, 2016. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/tangara/pesquisa/15/11863?tipo=ranking&indicador=12067>. Acesso em 12 jan. 2018.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **Produção Agropecuária - Uva**, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/uva/br>. Acesso em 20 nov. 2022.

IBRAVIN - INSTITUTO BRASILEIRO DO VINHO. **A diversidade e complexidade da vitivinicultura brasileira**. Bento Gonçalves, RS: Ibravin, 2016.

JACKSON, D. I.; LOMBARD, P. B. Environmental and management practices affecting grape composition and wine quality – A review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 44, n. 4, p. 409-430, 1993.

JONES, G.V. A synoptic climatological assessment of viticultural phenology. 1997.394 f. Dissertation (Ph.D.), University of Virginia, Department of Environmental Sciences. 1997.

JONES, G.V. Climate and terroir: impacts of climate variability and change on wine. *In*: R.W. MACQUEEN, R. W.; MEINERT, L. D. **Fine wine and terroir: the geoscience perspective**. Geological Association of Canada, St. John's, 2006. 203–216p.

KASFI, K. *et al.* Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by *Botrytis cinerea*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, Mashhad, v. 16, p. 1-16. 2018.

KELLER, M. **The science of grapevines: anatomy and physiology**. Londres. 2010. 400 p.

KELLY, J. *et al.* Uso de marcadores moleculares en el mejoramiento del frijol. **Agronomía Mesoamericana**, v. 5, p. 1-7, 1994.

LALANCETTE, N. *et al.* Development of an infection efficiency model for *Plasmopara viticola* on american grape based on temperature and duration of leaf wetness. **Phytopathology**, v. 78, p. 794-800, 1988

LEÃO, P. C. de S; SILVA, E. E. G. da. Brotação e fertilidade de gemas em uvas

semsementes no vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 3, n. 25, p.375-378, dez. 2003.

LEÃO, P. C. de S. **Uva de Mesa**: Planta. Petrolina, PE: Embrapa Informação Tecnológica, 2013a.

LEÃO, P. C. de S. **Uva de Mesa**: Uvas finas de mesa sem sementes. Petrolina, PE: Embrapa Informação Tecnológica, 2013b.

LEÃO, P. C. de S; BORGES, R. M. E. **Melhoramento Genético da Videira**. Petrolina, PE: Embrapa Semi-árido, 2009. 69 p. (EMBRAPA, Documentos 224).

LEÃO, P. C. de S; SILVA, E. E. G da. **Fenologia e fertilidade de gemas de variedades de uvas sem sementes no Vale do São Francisco**. [S.l.]: Embrapa Semi-Árido, 2004. 12 p. Documentos 185.

LEBRIHI A, ERRAKHI R, B. M. New Streptomyces beta-vulgaris strain, culture filtrate, derived active compounds and use thereof in the treatment of plants. **Patent WO/2009/156688**, p. 1–25, 2009.

LIMA, P. C. P. *et al.* Avaliação de qualidade de uvas Syrah para vinificação em função de doses de nitrogênio e potássio aplicadas via fertirrigação. *In*: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 10., 2015, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Embrapa Semi-árido, 2015. p. 271 - 277.

LIMA, M. A. C de. Fisiologia, Tecnologia e Manejo Pós-Colheita. *In*: SOARES, J. M.; LEÃO, P. C. de S. (Ed.). **A vitivinicultura no Semiárido brasileiro**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica. Petrolina, PE, 2009, p. 597-656.

MAGNIN-ROBERT, M. *et al.* Biological control of Botrytis cinerea by selected grapevine-associated bacteria and stimulation of chitinase and β -1,3 glucanase activities under field conditions. **European Journal of Plant Pathology**, v. 118, n. 1, p. 43–57, 2007.

MANDELLI, F. **Comportamento fenológico das principais cultivares de *Vitis vinifera* L. para a região de Bento Gonçalves, RS**. 1984. 125f. Dissertação (Mestrado em Agrometeorologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1984.

MANDELLI, F. **Relações entre variáveis meteorológicas, fenológicas e qualidade da uva na "Serra Gaúcha"**. 2002. 217 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

MANDELLI, F. **Comportamento Meteorológico e sua Influência na Vindima de 2005 na Serra Gaúcha**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005 (EMBRAPA, Comunicado Técnico 58).

MANDELLI, F. *et al.* Fenologia da videira na Serra Gaúcha. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v. 9, n.1-2, p. 129-144, 2003.

MANFROI, L *et al.* Evolução da maturação da uva Cabernet franc conduzida no sistema lira aberta. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, p.306-313, abr.2004.

MELLO, L. M. R. **Panorama da produção de uvas e vinhos no Brasil**. Bento Gonçalves: Campo & Negócios, 2017. 3 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/159111/1/Mello-CampoNegocio-V22-N142-P54-56-2017.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2017.

MELLO, L. M. R. **Desempenho da vitivinicultura brasileira em 2015**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/159111/1/Mello-CampoNegocio-V22-N142-P54-56-2017.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2018.

MELLO, L. M. R.; MACHADO, C. A. E. Viticultura brasileira: panorama 2020. Bento Gonçalves, RS: EMBRAPA, p.1-18, 2021. (EMBRAPA, Comunicado Técnico, 223).

MERDINOGLU, D. *et al.* Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia Rotundifolia*. **Acta Horticulturae**, [S.l.], v. 1, n. 1, p.451-456, 2003.

MIELE, A.; MIOLO, A. **O Sabor do Vinho**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003. 133 p.

MONTEIRO, J. E. B. de A. *et al.* Interações Ambiente tem papel decisivo na ocorrência de doenças. **Visão Agrícola**, v. 6,p.85-87, jul-dez. 2006.

MOTA, R. V. *et al.* Fatores que afetam a maturação e a qualidade da uva para vinificação. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 234, p. 56-64, set/out.2006.

MULLINS, M. G. *et al.* **Biology of the grapevine**. NewYork: University of Cambridge, 2007. 239p.

MURAKAMI, K. R. N. *et al.* Caracterização fenológica da videira cv. Itália (*Vitis vinifera* L.) sob diferentes épocas de poda na região norte do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p.615-617, dez. 2002.

NAGATA, R.K. *et al.* Temperatura-base e soma térmica (graus-dia) para videiras 'Brasil' e 'Benitaka'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22. n. 3, p.329-333, 2000.

NASCIMENTO-GAVIOLI, M. C. A. *et al.* Proteome of *Plasmopara viticola* infected *Vitis vinifera* provides insights into grapevine *Rpv1/Rpv3* pyramided resistance to downy mildew. **Journal of Proteomics**, v. 151, p.264-274, jan. 2017.

NILSON, T. S. **Influência do clima sobre os estádios fenológicos da videira e sobre a qualidade e quantidade da produção**. 2010. 53 f. TCC (Graduação) - Curso de Curso Superior de Tecnologia em Viticultura e Enologia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul — Campus Bento Gonçalves, Bento Gonçalves, 2010.

NOVAK, E. I. **Caracterização fenológica, exigência térmica e evolução da maturação das cultivares 'Cabernet Sauvignon' e 'Merlot' (*Vitis vinifera* L.) conduzidas em manjedoura sob cobertura plástica no planalto central catarinense**. 2017. 28 f. TCC (Graduação) - Curso de Agronomia, Campus Curitibanos, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, 2017.

OIV. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts. Paris: **Office International de la Vigne et du Vin**, 2009.

OLIEN, W. C.; HEGWOOD, C. P. Muscadine: A Classic Southeastern Fruit. **Hortscience**, v. 27, n. 7, p.726-831, jul. 1990.

ORGANIZATION INTERNATIONALE DE LA VIGNE ET DU VIN. **Compendium of international methods of wine and must analysis**. Paris: OIV, 2009. v.1, 419p.

PANTELIDES, I. S. *et al.* Isolation, identification and in vitro screening of grapevine yeasts for the control of black aspergilli on grapes. **Biol Control**, v. 88, p. 46-53, set. 2015.

PARLEVLIE, J. E. Partial resistance of barley to leafrust, *Puccinia hordei*. I. Effect of cultivar and development stage on latent period. **Euphytica**, v. 24, n. 1, p.21- 27, fev. 1975.

PAUL, B. *et al.* Suppression of *Botrytis cinerea* causing grey mould disease of grape vine (*Vitis vinifera*) and its pectinolytic activities by a soil bacterium.

Microbiological Research, v. 152, n. 4, p. 413–420, 1997.

PEDRO, M. J. JÚNIOR; SENTELHAS, P. C. Clima e produção. *In*: POMMER, C. V. **Uva**: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 63-107.

PETGEN, M. Pilzfeste Sorten: Das Ende des Nischendaseins. **Der Deutsche Weinbau**, n. 11, p.12-15, maio 2016

PORRO, D; STEFANINI, M. **Tecnologias para o desenvolvimento da vitivinicultura de Santa Catarina**: relatório das atividades desenvolvidas. Trento: Provincia Autonoma di Trento, 2016. 143 p.

PRATT, C. Reproductive Anatomy in Cultivated Grapes: A Review. **American Journal Of Enology and Viticulture**, New York, v. 22, n. 2, p.92-109, jan. 1971.

PROTAS, J. F. da S.; CAMARGO, U. A. **Vitivinicultura brasileira**: panorama setorial em 2010. Brasília, DF: SEBRAE; Bento Gonçalves, RS: IBRAVIN: Embrapa Uva e Vinho, 2011. 108 p.

RADMANN, E.B; BIANCHI, V. J. Uva. *In*: BARBIERI, R.L.; STEEMPT, E.R.T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília, DF: Embrapa. 2008. 909 p.

RAMAN, T.; MUTHUKATHAN, G. Field suppression of Fusarium wilt disease in banana by the combined application of native endophytic and rhizospheric bacterial isolates possessing multiple functions. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 54, n. 2, p. 241–252, 2015.

RIZZON, L.A.; MIELE, A. Avaliação da cv. Cabernet Sauvignon para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 192-198, 2002.

RIZZON, L. A; MIELE, A. Avaliação da cv. Merlot para elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 2, n. 1, p.156-161, dez. 2003.

ROSIER, J. P. Novas regiões: vinhos de altitude no sul do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia, 10.; Seminário cyted: Influência da tecnologia vitícola e vinícola na cor dos vinhos, 2003, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p. 137-140, 2003. Documentos 40.

SÁNCHEZ-MORA, F. D. **Seleção assistida por marcadores moleculares na piramidação de genes de resistência ao míldio (*Plasmopara viticola*) e oídio (*Erysiphe necator*) em videira**. 2014. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Departamento de Recursos Genéticos Vegetais - PRGV, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

SÁNCHEZ-MORA, F. D. et al. Behavior of grape breeding lines with distinct resistance alleles to downy mildew (*Plasmopara viticola*). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 2, p.141-149, jun. 2017.

SANTA CATARINA. Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul. Gerência de Planejamento. **Vitivinicultura em Santa Catarina: Situação atual e perspectivas**. Florianópolis: Brde, 2005. 83 p.

SANTOS, C. E. dos. *et al.* Caracterização da fenologia e da demanda térmica das videiras 'Cabernet Sauvignon', e 'Tannat' para a região norte do Paraná. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 29, n. 3, p.361-366, jan. 2007.

SCHOONBEEK, H. J. *et al.* Oxalate-degrading bacteria can protect *Arabidopsis thaliana* and crop plants against *Botrytis cinerea*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 20, n. 12, p. 1535–1544, 2007.

SCHWANDER, F. *et al.* *Rpv10*: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. **Theoretical And Applied Genetics**, v. 124, n. 1, p.163-176, set. 2012.

SENTELHAS, P. C. Aspectos climáticos para a viticultura tropical. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 19, n. 194. p. 9-14, 1998.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effects of nitrogen fertilization on the expression of slowmildwing in knox wheat. **Phytopathology**, v.67, p.1051-1055,1977.

SHARIFFAH-MUZAIMAH, S. A. *et al.* Characterization of *Streptomyces* spp. isolated from the rhizosphere of oil palm and evaluation of their ability to suppress basal stem rot disease in oil palm seedlings when applied as powder formulations in a glasshouse trial. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, n. 1, p. 1–14, 2018.

SÔNEGO, O. R. *et al.* **Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa, 2005. (EMBRAPA, CircularTécnica 56).

SOUSA, J. S. I. de. **Uvas para o Brasil**. Piracicaba: FEALQ, 1996. 791p.

STRECK, N. A. *et al.* Estimativa do plastocrono em meloeiro (*Cucumis melo* L.) cultivado em estufa plástica em diferentes épocas do ano. **Ciência Rural**, v.35, p.1275-1280, 2005.

SUJARIT, K. *et al.* New antimicrobial phenyl alkenoic acids isolated from an oil palm rhizosphere-associated actinomycete, *Streptomyces palmae* CMU-AB204T. **Microorganisms**, v. 8, n. 3, 1 mar. 2020.

TEIXEIRA, A. H. C. *et al.* Clima. *In*: KUHN, G. B. *et al.* **Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, 2003a.

TING, A. S. Y. *et al.* Indigenous actinomycetes from empty fruit bunch compost of oil palm: Evaluation on enzymatic and antagonistic properties. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 310–315, 2014.

TONIETTO, J.; MANDELLI, F. **Uvas Americanas e Híbridas para Processamentoem Clima Temperado**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa, 2003b.

TÖPFER, R. *et al.* New horizons for grapevine breeding. *In*: Flachowsky, H.; HANKE, M.V. **Fruit, vegetable and 63 cereal science and biotechnology, Methods in temperate fruit breeding**. Global Science Books, Isleworth, v.5. p.79-100. 2011.

TROTEL-AZIZ, P. *et al.* Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 21–32, 2008.

UBALDE, J. M. *et al.* Influence of edapho-climatic factors on grape quality in Conca de Barberà Vineyards (Catalonia, Spain). **Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin**, v. 41, n. 1, p. 33-41,

VAN DER PLANK, J. E. **Plant Diseases: epidemics and control**. New York NY. Academic Press. 1963.

VAN DER PLANK, J.E. **Principles of plant infection**. New York: Academic, 1975.216 p.

VAN LEEUWEN C. Terroir: the effect of the physical environment on vine growth, grape ripening and wine sensory attributes. *In*: REYNOLDS, A. G. **Managing wine quality: Viticulture and wine quality**. Volume1. CRC Press: Boca Raton. p.273-315.

VARNIER, A. L. *et al.* Bacterial rhamnolipids are novel MAMPs conferring resistance to *Botrytis cinerea* in grapevine. **Plant, Cell and Environment**, v. 32, n. 2, p. 178–193, 2009.

VENUTI, S. *et al.* Historical Introgression of the Downy Mildew Resistance Gene *Rpv12* from the Asian Species *Vitis amurensis* into Grapevine Varieties. **Plos One**, v. 8, n. 4, abr. 2013.

VERHAGEN, B. *et al.* Improved resistance against *Botrytis cinerea* by grapevine-associated bacteria that induce a prime oxidative burst and phytoalexin production. **Phytopathology**, v. 101, n. 7, p. 768–777, 2011.

VEZZULLI, S. *et al.* Downy mildew resistance evaluation in 28 grapevine hybrids promising for breeding programs in Trentino region (Italy). **European Journal Of Plant Pathology**, v. 150, n. 2, p.485-495, jul. 2017.

VIANNA, L. F. *et al.* Caracterização agronômica e edafoclimática dos vinhedos de elevada altitude. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 15, n. 3, p.215-226, nov. 2016.

VIANA, L. H. **Fenologia e quebra de dormência da videira Niágara Rosada cultivada na região norte fluminense em diferentes épocas de poda.** 2009. 74 f. Tese (Doutorado) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2009.

WELTER, L. J. *et al.* Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera*L). **Molecular Breeding**, v. 20, n. 4, p.359-374, mai. 2007.

WELTER, L. J. *et al.* **Melhoramento genético de videira com ênfase na resistência a doenças.** 2012. 12 f. (Projeto de Pesquisa) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba, 2012.

WONG, F. P. *et al.* Heterothallism in *Plasmopara viticola*. **Plant Pathology**, v. 50, n. 4, p. 427–432, 2001.

WURZ, D. A. *et al.* New wine-growing regions of Brazil and their importance in the evolution of Brazilian wine. **Bio Web of Conferences**, v. 9, p.1-4, 2017.

YASUDA, N. *et al.* Effects of Pyramiding Quantitative Resistance Genes pi 21, Pi 34, and Pi 35 on Rice Leaf Blast Disease. **Plant Disease**, v. 99, n. 7, p.904-909, jul. 2015.

YUSTE, D. J. Factores de desequilibrio de la vid: alternativas para el manejo eficaz del potencial vegetativo hacia el equilibrio del viñedo. *In*: control del vigor y del rendimiento en el marco de una viticultura de calidad. 1., 2005, La Rioja. **Anais....** La Rioja: APROVI, 2005.

ZANUS, M. C. Panorama da vitivinicultura brasileira. *In*: Congresso Latino-Americano de Viticultura e Enologia, 15., Congresso Brasileiro de Viticultura e Enología, 13., 2015, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho: Associação Brasileira de Enologia, 2015. p. 1 - 3.

ZELEDÓN, J. J. G. ***Plasmopara viticola*, the downy mildew of grapevine: phenotypic and molecular characterization of single sporangium strains infecting hosts with different resistance levels.** 2015. 123 f. Dissertação

(Mestrado) -Curso de Institute of Botany, University of Hohenheim, Born In San José, 2015.

ZIEDAN, E. H. E.; EL-MOHAMEDY, R. S. R. Application of *Pseudomonas fluorescens* for Controlling Root-rot Disease of Grapevine. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 4, n. 5, p. 346–353, 2008.

ZIEDAN, E. S. H. *et al.* *Streptomyces alni* as a biocontrol agent to root-rot of grapevine and increasing their efficiency by biofertilisers inocula. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 43, n. 7, p. 634–646, 2010.