

# **Avaliação de compostos bioativos no controle de míldio e oídio da videira**

**Mateus Henrique Devens**

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Agroecologia no âmbito da dupla diplomação com a Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos*

Orientado por

**Albino António Bento**

**António Castro Ribeiro**

**Fabiani das Dores Abati Miranda**

**Bragança**

**2024**

Dedico este trabalho à minha querida família, em especial  
aos meus pais, e sobretudo ao meu filho, pelos momentos  
de ausência.

## Financiamento

FEDER através do NORTE 2020 - Programa Operacional Regional do Norte ao Projeto de I &D “PreVineGrape: Desenvolvimento de um biofungicida para combate a doenças da videira” (POCI-01- 0247-FEDER-049695) (NORTE-01-0247-FEDER- 113508).



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu  
de Desenvolvimento Regional

## **AGRADECIMENTOS**

Antes de tudo, quero expressar minha gratidão a Deus por conceder-me compreensão ao longo deste ciclo que vivenciei. Agradeço a força nos momentos mais desafiadores, que me impediu de desistir, e por nunca me abandonar.

Ao Instituto Politécnico de Bragança e a Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Dois Vizinhos, pela oportunidade de realizar este mestrado no âmbito de Dupla diplomação.

Ao meu orientador Professor Doutor Albino António Bento e meu coorientador Professor Doutor António Castro Ribeiro, pela orientação e dedicação de vocês durante este projeto.

Ao projeto PrevineGrape, minha gratidão por possibilitar o desenvolvimento da minha tese de mestrado, agradeço o apoio, recursos e a oportunidade de contribuir para este importante ciclo acadêmico.

A Professora Doutora Fabiani A. Miranda, expresso minha profunda gratidão por sua orientação e apoio constante ao longo de toda a minha jornada acadêmica, desde a graduação até o mestrado. Sua dedicação não apenas enriqueceu meu conhecimento, mas também transformou nossa relação em uma conexão familiar. Agradeço por sua influência inspiradora e por ser mais do que uma professora, tornando-se uma figura fundamental na minha trajetória educacional e pessoal.

Aos meus pais Jailson Devens e Roseila Bergamo Devens, pelos seus sacrifícios, dedicações e crença em meu potencial para a realização deste sonho, vocês são a base deste sucesso. Sou eternamente grato por tudo que fizeram e fazem por mim.

Ao meu filho Pedro Henrique Devens, sua alegria e compreensão durante as longas horas de estudo foram minha motivação. Este diploma é dedicado a você, com amor e gratidão.

Aos meus irmãos Jonathan V. Devens e Tainá Devens, suas amizades e encorajamento foram fundamentais. Junto, superamos obstáculos e celebramos conquistas, obrigado por todo esse apoio e companhia durante todo esse tempo mesmo a distância.

Agradeço do fundo do meu coração ao Samuel Leal, por sua presença constante, por compartilhar alegrias e desafios, e por ser a minha âncora emocional durante este período longe da família. Sua dedicação e sacrifício não passarão despercebidos.

A Portugal, onde pude explorar uma cultura diferente, descobrir novos lugares e criar amizades preciosas que carregarei para a vida toda. Um agradecimento especialmente a Marjorie, Tatiane e Maria Gabriela, que se tornaram minha segunda família durante esse período.

De maneira geral, quero agradecer todos os familiares e amigos que, de forma direta ou indireta, tornaram possível a realização deste ciclo, sempre incentivando e acreditando que eu era capaz. O apoio de cada um foi fundamental para alcançar este efeito.

## RESUMO

A videira, *Vitis vinifera* L. é uma das culturas agrícolas mais importantes em Portugal, que em algumas regiões enfrenta ataques significativas de doenças e pragas, especialmente o míldio e oídio, originários da América do Norte. O controlo convencional envolve algumas práticas culturais e o uso de fungicidas químicos, realizando várias aplicações dependendo da intensidade da infeção da doença, apresentando desafios ambientais e de resistência. O objetivo desse trabalho visou avaliar o potencial de extratos de plantas no controlo de oídio e míldio da videira, buscando práticas sustentáveis e redução do uso de produtos químicos para um manejo mais sustentável na viticultura. Este experimento foi conduzido em estufa no Instituto Politécnico de Bragança utilizando as castas Touriga Nacional e Aragonez e em campo, na Quinta do Monte Xisto, na região Demarcada do Douro, utilizando a casta Touriga Nacional. Para isto, foram aplicados cinco diferentes tratamentos: Modalidade 1 (testemunha); Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja + esteva); Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto + convencional); Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro + convencional); Modalidade 5 (convencional). O delineamento experimental foi por Blocos Casualizados. A preparação dos extratos envolveu escolha de matrizes, secagem, trituração e extração por ultrassom. A aplicação dos tratamentos ocorreu ao longo do ciclo vegetativo, monitorando a incidência de doenças nas folhas, varas e cachos. No estudo realizado em estufas, durante os meses de março/abril a agosto de 2023, foram avaliadas as condições meteorológicas e a incidência de oídio em videiras das castas Touriga Nacional e Aragonez. Os tratamentos com substâncias testadas demonstraram eficácia na redução da incidência da doença, não havendo diferença significativa entre si, mas todos se diferenciaram da testemunha. Na Quinta do Monte Xisto, durante o mesmo período, foram analisadas as condições meteorológicas e a incidência de oídio e míldio nas videiras. A videiras da testemunha mostraram-se mais suscetíveis ao oídio, comparadas as dos vários tratamentos mesmo não havendo diferença estatisticamente significativas entre si. A incidência de míldio foi observada apenas na segunda avaliação, relacionada a precipitação. Os tratamentos com substâncias testadas foram eficazes na redução do oídio nas castas Touriga Nacional e Aragonez. A Touriga Nacional mostrou-se mais suscetível ao oídio do que a Aragonez, evidenciando diferenças significativas na incidência da doença. Já a predominância de míldio foi menor. Embora tenham ocorrido diferenças nas incidências entre as modalidades, não foram observadas diferenças

estatisticamente significativas. Com isso sugere perspectivas promissoras para o controle de oídio, sujeitas a mais estudos em condições climáticas favoráveis e vinhas com maior vigor.

**Palavras-chave:** Controle biológico; Extratos de plantas; *Vitis vinifera*; Doenças em videiras.

## ABSTRACT

The grapevine, *Vitis vinifera* L., is one of the most important agricultural crops in Portugal, facing significant attacks from diseases and pests in some regions, especially mildew and powdery mildew, originating from North America. Conventional control involves cultural practices and the use of chemical fungicides, with multiple applications depending on the intensity of disease infection, posing environmental and resistance challenges. The aim of this work was to evaluate the potential of plant extracts in controlling powdery mildew and downy mildew in grapevines, seeking sustainable practices and reducing the use of chemical products for more sustainable viticulture management. This experiment was conducted in a greenhouse at the Polytechnic Institute of Bragança using the Touriga Nacional and Aragonez grape varieties and in the field at Quinta do Monte Xisto in the Douro Demarcated Region using the Touriga Nacional variety. For this, five different treatments were applied: Treatment 1 (control); Treatment 2 (chestnut flower extract + orange peel + cistus); Treatment 3 (chestnut flower extract + eucalyptus leaf + conventional); Treatment 4 (chestnut flower extract + conventional); Treatment 5 (conventional). The experimental design was a randomized blocks design. Extract preparation involved matrix selection, drying, grinding, and ultrasound extraction. Treatment application took place throughout the vegetative cycle, monitoring disease incidence on leaves, shoots, and clusters. In the greenhouse study from March/April to August 2023, meteorological conditions and powdery mildew incidence on Touriga Nacional and Aragonez grapevines were evaluated. Treatments with tested substances demonstrated efficacy in reducing disease incidence, with no significant difference between them, but all differed from the control. At Quinta do Monte Xisto during the same period, meteorological conditions and powdery mildew and downy mildew incidence on grapevines were analyzed. Control vines were more susceptible to powdery mildew compared to vines under various treatments, although statistically significant differences were not observed between treatments. Downy mildew incidence was observed only in the second assessment, related to precipitation. Treatments with tested substances were effective in reducing powdery mildew on Touriga Nacional and Aragonez varieties. Touriga Nacional proved more susceptible to powdery mildew than Aragonez, showing significant differences in disease incidence. The prevalence of mildew was lower. Although differences in incidences between modalities occurred, no statistically significant differences were observed. This suggests promising prospects for

powdery mildew control, subject to further studies under favorable climatic conditions and in vineyards with greater vigor.

**Keywords:** Biological control; Plant extracts; *Vitis vinifera*; Grapevine diseases.

## SUMÁRIO

Resumo .....	VI
Abstract .....	VIII
Sumário.....	X
Lista de figuras .....	XII
Lista de tabelas .....	XIII
1. Introdução.....	1
2. Objetivos .....	5
2.1. Objetivo geral .....	6
2.2. Objetivos específicos.....	6
3. Revisão bibliográfica.....	7
3.1. Videira .....	8
3.2. Principais doenças da videira .....	10
3.2.1. Míldio da videira .....	11
3.2.2. Oídio da videira .....	15
3.3. Controle de doenças nas videiras.....	18
3.3.1. Controles convencionais.....	18
3.3.2. Potencial de produtos oriundos de plantas como indutores de resistência e bioestimulantes .....	20
3.3.2.1. Compostos bioativos .....	22
3.3.2.1.1. Compostos fenólicos.....	23
4. Materiais e métodos.....	27
4.1. Descrições dos locais de implantação dos experimentos .....	28
4.1.1. Experimento em estufa .....	28
4.1.1.1. Castas utilizadas e delineamento experimental .....	29
4.1.1.2. Dados climáticos .....	30
4.1.2. Experimento a campo (quinta monte xisto).....	31
4.1.2.1. Delineamento experimental .....	32
4.1.2.2. Dados climáticos .....	33
4.2. Preparação das amostras .....	34
4.2.1. Seleção da matéria prima.....	34
4.2.2. Secagem e trituração das amostras .....	35
4.3. Preparação dos extratos .....	37
4.3.1. Metodologia de ultrassom .....	37

4.4. Atividades antioxidantes e fenóis totais .....	39
4.5. Marcação das plantas a serem observadas.....	40
4.5.1. Marcação das plantas da estufa .....	40
4.5.2. Marcação das plantas em campo .....	41
4.6. Inoculação do oídio no experimento nas estufas .....	42
4.7. Aplicação dos extratos.....	43
4.7.1. Aplicação dos extratos em experimento nas estufas .....	43
4.7.2. Aplicação dos extratos no experimento a campo (vinha monte xisto).....	44
4.8. Coleta dos dados.....	46
4.8.1. Coleta de dados no experimento na estufa .....	46
4.8.2. Coleta de dados no experimento a campo (vinha monte xisto).....	47
4.9. Análises estatísticas .....	48
5. Resultados e discussões .....	49
5.1. Estufas .....	50
5.1.1. Dados meteorológicos .....	50
5.1.2. Incidência e severidade de oídio nas diferentes castas de videiras.....	51
5.2. Quinta do monte xisto.....	56
5.2.1. Dados meteorológicos .....	56
5.2.2. Incidência e severidade de oídio em folhas e cachos .....	57
5.2.3. Incidência de míldio em folhas a cachos .....	62
6. Conclusão .....	65
Referências .....	68

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de doença do míldio em videira causado por <i>Plasmopara vitícola</i> .....	12
Figura 2 - Sintomatologia do míldio na videira.....	14
Figura 3 - Ciclo de vida do patógeno <i>Uncinula necator</i> na videira .....	16
Figura 4 - Sintomatologia do oídio em videira.....	17
Figura 5 - Representação gráfica das principais classes de compostos fenólicos. ....	24
Figura 6 - Descrição da área das estufas experimentais (IPB) (Google Earth, 2023). ....	28
Figura 7 - Sistema de irrigação por gotejamento.....	29
Figura 8 - Delineamento experimental aplicado nas estufas. ....	30
Figura 9 - Dados climáticos da estufa ano hidrológico 2022/23. ....	31
Figura 10 - Descrição da área de estudo na Quinta do Monte Xisto.....	32
Figura 11 - Delineamento experimental aplicado a campo (Quinta do Monte Xisto). ....	33
Figura 12 - Dados climáticos da região de Vila Nova de Foz Côa do ano hidrológico 2022/23. .....	34
Figura 13 - Amostras secas.....	35
Figura 14 - Amostra de <i>Citrus sinensis</i> . ....	36
Figura 15 - Trituração das amostras .....	36
Figura 16 - Equipamento de extração ultrasson .....	37
Figura 17 - Filtração das amostras após a extração e evaporação do etanol .....	38
Figura 18 - Imagem das amostras antes da leitura.....	39
Figura 19 - Imagem das amostras após a leitura .....	39
Figura 20 - Marcação das plantas da estufa.....	41
Figura 21 - Marcação de plantas a campo .....	42
Figura 22 - Inoculação de oídio.....	43
Figura 23 - Aplicação dos tratamentos em estufa.....	44
Figura 24 - Aplicação dos tratamentos a campo.....	46
Figura 25 - Temperaturas e umidade relativa médias mensais no período de março a agosto de 2023 nas estufas onde foi instalado o experimento. ....	50
Figura 26 - Folhas e varas de videiras com sintomas e sinais de oídio .....	51
Figura 27 - Incidência de oídio em folhas .....	54
Figura 28 - Incidência de oídio em varas .....	55
Figura 29 – Temperaturas e umidade relativa médias mensais no período de março a agosto de 2023 na região de Vila Nova de Foz Côa.....	57
Figura 30 - Folhas e cachos de videira com sintomas de oídio .....	58
Figura 31 - Incidência de oídio em folhas .....	60
Figura 32 - Incidência de oídio em cachos .....	61
Figura 33 - Folhas e cachos de videira com sintomas de mildio.....	62
Figura 34 - Incidência de míldio em folhas e cachos .....	63
Figura 35 – Temperaturas e precipitação diárias da região de Vila Nova de Foz Côa, onde foi instalado o experimento.....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Famílias químicas dos fungicidas contra oídio da videira. ....	19
Tabela 2 - Famílias químicas dos fungicidas contra míldio da videira. ....	19
Tabela 3 - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com a cadeia carbônica principal.. .....	23
Tabela 4 - Condições ótimas de extração. ....	37
Tabela 5 - Concentrações das amostras para realização da extração .....	38
Tabela 6 - Atividade antioxidante das amostras através do método de DPPH .....	40
Tabela 7 - Fenóis Totais .....	40
Tabela 8 - Datas e substâncias ativas aplicadas nos tratamentos da estufa .....	44
Tabela 9 - Datas e substâncias ativas aplicadas nos tratamentos da Quinta do Monte Xisto...45	
Tabela 10 - Porcentagem de plantas que apresentaram sintomas de oídio.....	52
Tabela 11 - Interação da incidência de oídio entre as castas .....	56
Tabela 12 - Porcentagem de plantas que apresentaram sintomas de oídio e mildio .....	59

# **1. Introdução**

---

A videira, *Vitis vinífera L.* destaca-se como um exemplo emblemático de uma cultura que enfrenta ataques com elevada importância económica provenientes de doenças e pragas invasoras. Com um papel central na história da civilização europeia, a domesticação dessa cultura remonta a cerca de 8.000 anos, originando-se das populações de *Vitis vinífera subsp. Sylvestris* nas proximidades do mar Cáspio (Terral et al. 2010). Posteriormente, variedades cultivadas foram introduzidas na região do Mediterrâneo, assinalando um ponto crucial em sua evolução. Desde o século XVII, observa-se uma expansão contínua do cultivo da videira, abrangendo outros continentes (Grassi; Arroyo-Garcia, 2020).

A videira se destaca como uma das plantas perenes mais amplamente cultivadas em todo o mundo, desempenhando um papel crucial na produção de uvas para vinho e consumo direto, abrangendo mais de sete milhões de hectares e alcançando todos os continentes, com exceção a Antártica. Contudo, nos últimos anos, a videira tem enfrentado sérias ameaças devido a diversas doenças devastadoras causadas por patógenos invasores originado da América do Norte (Cunha et al. 2016).

Segundo Gessler et al. (2011), entre essas enfermidades, destacam-se o míldio, causado pelo oomiceto *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.), e o oídio, provocado pelo fungo *Uncinula necator* (Schw). Ambos são patógenos notáveis que desempenham papéis significativos na sanidade das vinhas. Esses organismos, embora distintos em natureza, compartilham a característica de representarem prejuízos consideráveis na viticultura, influenciando diretamente a qualidade e a quantidade da produção de uvas.

Enquanto o míldio, *P. viticola*, um oomiceto parasita obrigatório (depende completamente de um hospedeiro para sobreviver e completar seu ciclo de vida), invade ativamente as estruturas verdes da planta, incluindo folhas, varas e frutos (Toffolatti et al. 2018), o oídio, *U. necator*, um fungo ascomiceto, se estabelece como um parasita facultativo (pode viver tanto de forma parasita em um hospedeiro quanto de forma independente), afetando negativamente o mesmo espectro de órgãos da planta (Garrido; Gava, 2014).

Esses patógenos, originários da América do Norte, foram identificados pela primeira vez na primeira metade do século XIX. Mais tarde, na segunda metade desse século, foram introduzidos na Europa, sendo identificados na Alemanha, na década de 1880. Acredita-se que essa introdução possa ter ocorrido por meio de estacas de videiras americanas usadas para replantar os vinhedos franceses devastados pela filoxera. No século seguinte, em 1915, a produção de uvas na França sofreu uma devastação de até 70% devido ao míldio. Essas doenças

continuaram a se disseminar pela Europa toda, atingindo posteriormente o Oeste chegando na Espanha e Portugal (Dry et al. 2010; Fontaine et al. 2021).

De acordo com Bozdogan (2014), o controle desses patógenos muitas vezes envolve o uso de fungicidas químicos, mas apesar de sua eficácia, ação rápida e facilidade de aplicação, esses produtos apresentam impactos negativos no meio ambiente, na segurança alimentar e na saúde humana. Além disso, a aplicação frequente desses produtos pode levar ao desenvolvimento de resistência nos patógenos aos fitofarmacêuticos.

Um ponto crucial nesse aumento do uso de defensivos químicos foi a “revolução verde” do século XX, pois até a década de 50, o enxofre era o único meio de combate, e somente da década de 80 em diante que foi introduzido novas estratégias no controle dessas doenças (Alves; Almeida, 2003). Essas iniciativas visavam sustentar a produção agrícola diante do rápido crescimento populacional, envolvendo o uso intensivo de agroquímicos, monoculturas e variedades geneticamente melhoradas. Isso resultou em aumento na produção agrícola, mas também trouxe ameaças a saúde pública e ao meio ambiente devido ao uso excessivo de pesticidas químicos (Galindo; Portilho, 2015).

Assim como outras culturas, a videira está vulnerável a diversas doenças e pragas, demandando um cronograma rigoroso de fitofarmacêuticos para alcançar os padrões de produção. As aplicações desses fungicidas nos vinhedos na Região do Douro, requer um conhecimento das características químicas, observando as fases do ciclo vegetativo e as diretrizes de proteção integrada, considerando a limitação de 3 a 4 aplicações anuais, comuns na maioria dos grupos de fungicidas homologados contra míldio e oídio (ADIVID, 2012). No entanto, a frequência dessas aplicações pode variar anualmente, principalmente devido as condições climáticas (Pertot et al. 2017).

Embora os produtos fitofarmacêuticos desempenhem um papel crucial no controle de doenças e pragas na agricultura, surge uma preocupação crescente devido aos impactos potenciais na saúde humana e no meio ambiente. O uso intensivo de pesticidas está vinculado a resíduos em alimentos, toxicidade para organismos não-alvos e redução da biodiversidade. Nesse contexto, é interessante observar que, nas décadas de 1960 e 1970, os defensores do controle biológico emergiram como protagonistas, resultando em uma significativa realocação de financiamento para pesquisas nesse campo (Pino-Otín et al. 2019).

Com o tempo, a União Europeia passou a exigir que todos os estados membros adotassem planos de ação nacionais sobre pesticidas, visando reduzir riscos e impactos na saúde e no meio ambiente (Parlamento Europeu, 2009). Esses planos incentivavam a adoção de

manejo integrado de pragas e doenças, bem como de abordagens alternativas para diminuir a dependência de pesticidas (Fernandes et al. 2022).

Atualmente, o controle de míldio e oídio continua a depender principalmente das frequentes aplicações de fungicidas químicos na agricultura convencional ou de cobre e enxofre na produção orgânica e algumas práticas culturais que promovam maior arejamento ao nível dos cachos. No entanto, as crescentes preocupações sobre o impacto negativo do cobre nos solos agrícolas têm impulsionado a busca por novos ingredientes ativos naturais contra esses patógenos. Nesse contexto, microrganismos naturalmente presentes, com perfis toxicológicos favoráveis, surgem como uma potencial solução (Komárek et al. 2010).

Diante desse cenário, os produtos naturais, principalmente provenientes de plantas, despontam como uma valiosa fonte de potenciais fármacos, utilizados em diversas áreas. E uma atenção crescente tem sido voltada para o desenvolvimento de biopesticidas ambientalmente amigáveis, baseados em extratos de plantas tradicionais e agentes de controle biológico microbiano. Nos últimos anos, alguns compostos naturais, como óleos essenciais e extratos de plantas, tem sido aplicados no controle biológico de patógenos (Dinesh et al. 2014).

Neste contexto, a utilização de extratos de plantas emerge como uma abordagem promissora e sustentável para o controle eficaz de doenças como oídio e míldio em videiras. A crescente necessidade de práticas agrícolas mais amigáveis ao meio ambiente e a busca por alternativa aos agroquímicos tradicionais destacam a relevância dessa pesquisa. Ao explorar os potenciais efeitos antifúngicos dos extratos vegetais, este estudo tem como objetivo contribuir com estratégias inovadoras no manejo de doenças vinícolas.

## **2. Objetivos**

---

## **2.1. Objetivo geral**

Avaliar o impacto de diferentes extratos de plantas no controlo de oídio, *U. necator* e míldio, *P. viticola* na videira, buscando promover práticas mais sustentáveis na viticultura.

## **2.2. Objetivos específicos**

Selecionar plantas e bio resíduos ricos em compostos fenólicos, e avaliar suas capacidades antifúngicas para o controle eficaz de oídio e míldio;

Minimizar o impacto ambiental e contribuir para a preservação da biodiversidade por meio de implantação de práticas mais sustentáveis;

Avaliar a capacidade de soluções naturais para reduzir as doses de produtos químicos no tratamento do oídio da videira, com o objetivo de promover uma abordagem mais sustentável na viticultura.

# **3. Revisão Bibliográfica**

---

### 3.1. Videira

Muitas variedades de videira, *V. vinifera* são cultivadas atualmente no continente europeu e em várias outras partes do mundo, resultando de um processo de circulação de variedades iniciada em meados séculos VII-VI, por meio dos colonizadores fenícios coincidindo com a domesticação de videiras selvagens. Essa rota de comunicação foi muito importante e comum nos vinhedos europeus possibilitando assim a chegada de diversas variedades de lugares distantes, como também as trocas de técnicas e práticas ao cultivo da uva e da produção dos vinhos (de Toda Fernández, 2018).

Durante a Idade Média, o cultivo de videiras e a produção de vinhos foram objeto de aprimoramentos contínuos na Europa, com destaque para países como França, Itália, Espanha e Portugal. A videira continua sendo amplamente cultivada em vinhas em todo o mundo, representando a espécie predominante na produção de uma vasta gama de vinhos apreciados globalmente. Essa espécie possui uma história rica e diversificada, tornando-se uma das espécies mais importantes e simbólicas para a humanidade, continuando a ser apreciada até os dias atuais (Robinson; Harding; Vouillamoz, 2013).

A videira é a frutífera que ocupa o segundo maior espaço de cultivo em todo o mundo, perdendo apenas para a bananeira. A viticultura abrange uma área de aproximadamente 7,5 milhões de hectares espalhados em todos os continentes, sendo o ramo de elaboração de vinhos finos, que utiliza variedades europeias (*V. vinifera*), o mais destacado (Caliari; Rosier; Luiz, 2013).

A produção desses vinhos está concentrada principalmente no velho mundo, com ênfase especial na Espanha, França e Itália (Banks; Overton, 2010). Em Portugal, também há uma notável produção de vinhos, especialmente aqueles que se enquadram na tradição do velho mundo. Atualmente, Portugal possui quatorze Regiões Vitivinícolas Demarcadas, também conhecidas como Indicações Geográficas Protegidas (IGP). Cada região apresenta condições climáticas e geográficas únicas, resultando em castas exclusivas, que conferem singularidade aos vinhos (Gil, 2021; Ribeiro, 2021).

Dentre as regiões vinícolas portuguesas, destaca-se o Douro, a mais antiga região vinícola regulamentada do mundo e importante para Portugal, sendo Patrimônio Mundial da UNESCO, com uma extensa área vitivinícola de cerca de 53.167 hectares. O Minho, no noroeste, notabiliza pelo Vinho Verde fresco e ácido, abrangendo uma área vitivinícola de aproximadamente 24.371 hectares, e o Alentejo, ao Sul mais quente e seco, e é conhecido por vinhos robustos, sendo responsável pela maior cora de produção de vinhos não fortificados, e

ocupa uma área vitivinícola de cerca de 25.924 hectares. Essas regiões contribuem significativamente para a diversidade e qualidade dos vinhos produzidos no país (Gil, 2021; IVV, 2022).

De acordo com Mullins, Bouquet e Willians (1994) dentro da família Vitaceae, o gênero mais proeminente é o gênero *Vitis*, que abriga a maioria das espécies cultivadas com relevância econômica. O gênero *Vitis* compreende aproximadamente 60 espécies, sendo que apenas uma espécie, *V. vinifera*, foi amplamente distribuída no mundo por meio de ação humana.

O desenvolvimento da videira segue uma sequência de ciclos alternados, intercalados por períodos de repouso. Esses ciclos compreendem o ciclo de crescimento, que vai da brotação até a conclusão do crescimento das plantas; o ciclo reprodutivo, que abrange o período de florescimento até a maturação dos cachos; o ciclo de amadurecimento dos tecidos, que ocorre desde a paralisação do crescimento até a maturação das varas; o ciclo vegetativo, iniciando no estágio conhecido como "choro" e encerrando com a queda natural das folhas; e, por fim, o ciclo de repouso, que corresponde ao intervalo de tempo entre dois ciclos vegetativos consecutivos (Galet, 1983).

De acordo com o Instituto da Vinha e do Vinho (IVV) (IVV, 2022), atualmente são cultivadas em Portugal cerca de 250 castas, dentre essa grande variedade as castas tintas mais cultivadas são: Touriga Nacional, Tinta Roriz/Aragonez, Castelão, Trincadeira, Touriga Franca, Baga e Alfrocheiro. Já as castas brancas mais cultivadas são: Alvarinho, Arinto, Encruzado, Fernão Pires, Loureiro, Bical, Malvasia Fina e Moscatel Galego.

A Touriga Nacional é uma variedade específica de uva tinta que faz parte da espécie *V. vinifera*, que engloba a maioria das uvas cultivadas para a produção de vinho em todo o mundo, sendo uma variedade amplamente cultivada em Portugal, especificamente no Vale do Douro e região do Dão. Ela é conhecida por seu perfil aromático complexo, que inclui notas florais e frutadas, e pela sua estrutura tânina firme, tornando-a uma variedade ideal para a produção de vinhos tintos encorpados e de alta qualidade (Robinson; Harding; Vouillamoz, 2012).

A casta Aragonês, conhecida também como Tinta Roriz em solo português, também faz parte da espécie *V. vinifera*, e destaca-se como uma casta proeminente na viticultura da região. Sua presença significativa na produção de vinhos tintos, especialmente notável nos vinhos do Alentejo, destaca-se pela riqueza de características sensoriais que oferece. A casta Aragonês confere aos vinhos uma paleta marcante de frutas vermelhas, matizada com nota sutis

de especiarias, enquanto os taninos robustos proporcionam uma estrutura sólida e duradoura. A popularidade desta casta na região reforça não apenas sua versatilidade na vinificação, mas também sua capacidade única de expressar a terroir local, estabelecendo-se como uma casta fundamental no cenário vinícola português (Afonso, 2023).

Com o passar do tempo, a Touriga Nacional apresentou notável produtividade e atualmente, essa variedade de uva é amplamente cultivada em todas as regiões de Portugal e está ganhando reconhecimento em âmbito internacional (Castro et al. 2007). No entanto, assim como outras variedades de uva, a Aragonês e a Touriga Nacional pode ser suscetível a doenças fúngicas, como míldio e oídio, que podem comprometer a saúde das vinhas e a produção de uvas, gerando assim, desafios para os produtores (Gaspar, 2020).

### **3.2. Principais doenças da videira**

Com o processo de domesticação da videira e sua disseminação pela Europa durante o século XIX, ocorreu um aumento significativo de vários patógenos, tais como o oídio e o míldio. Esse fenômeno resultou no declínio das variedades antigas da videira e marcou o fim de uma fase na viticultura. Consequentemente, ocorreu uma perda na variabilidade genética das videiras e um aumento no uso de agroquímicos como forma de proteção contra doenças de plantas (Muganu; Paolocci, 2013).

Na viticultura, as doenças que afetam as videiras desempenham um papel crucial, podendo exercer um impacto significativo na sanidade das videiras e na produção das uvas. Essas doenças podem ser originadas por diversos patógenos, tais como fungos, bactérias e vírus, além de serem influenciadas por fatores abióticos, incluindo condições climáticas desfavoráveis e práticas de manejo inadequadas (Agrios, 2005).

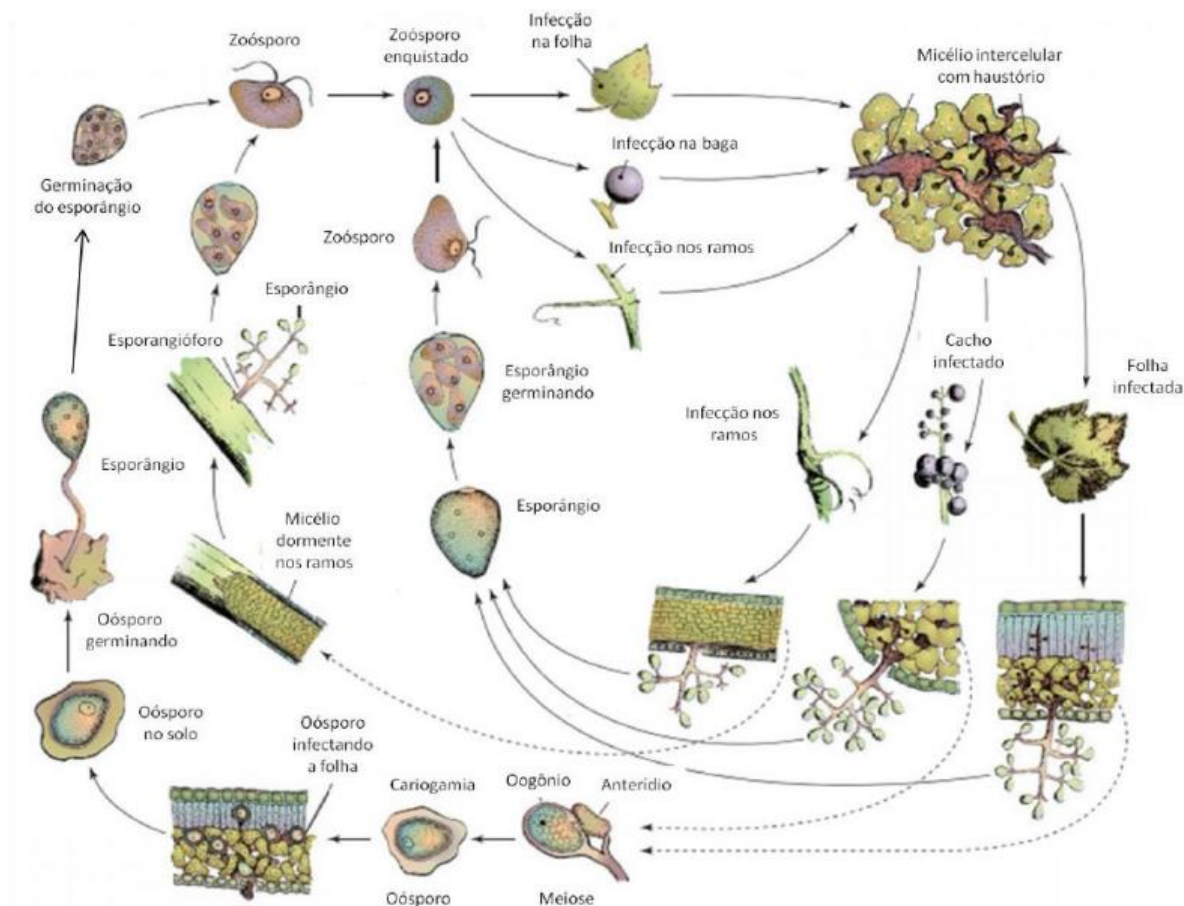
De acordo com Bettiga (2013), as doenças fúngicas estão entre as mais frequentes e representam uma preocupação relevante para os produtores de uva. Algumas delas, consideradas as mais significativas afetando as vinhas, incluem o míldio, *P. viticola*, o oídio, *U. necator* a podridão cinzenta, *Botrytis cinerea* (Pers.) e a antracnose, *Elsinoe ampelina* (Shear.). Tais enfermidades podem ocasionar estragos nos cachos, folhas e varas, resultando assim em perdas de rendimento e qualidade dos frutos.

### 3.2.1. Míldio da videira

O primeiro relato do míldio da videira ocorreu na América do Norte, mais especificamente nos Estados Unidos, em meados do século XIX, por volta de 1850 (Keller, 2020). A partir de lá, a doença foi inadvertidamente disseminada para outras regiões por meio do transporte de material de propagação, como mudas e sementes, chegando a Europa no final do século XIX. Essa introdução teve consequências devastadoras para a espécie *V. vinifera*, à prolífica capacidade de reprodução dessas doenças e ao clima propício na Europa, impactando significativamente a viticultura continental, que como já citado é amplamente cultivada para a produção de vinhos de qualidade (Fontaine et al. 2021) (Wilcox; Gubler; Uyemoto. 2015).

O míldio é considerado uma das doenças de maior relevância para a viticultura, sendo causado pelo oomiceto *P. viticola*, representando um desafio significativo para os viticultores, pois pode resultar em significativas perdas de rendimento quantitativo e qualitativo. Embora seja uma doença amplamente disseminada nas principais regiões vitícolas ao redor do mundo, exceto em áreas com verões menos chuvosos, sua incidência é mais acentuada em regiões de clima subtropical e temperado (Keller, 2020).

De acordo com Agrios (2005), o *P. viticola* é um fungo estritamente biotrófico, o que implica que ele somente pode se desenvolver em associação com células vivas do seu hospedeiro. Seus oósporos têm a capacidade de se depositar em folhas no solo, permanecendo inativos até ocorrer a maturação que necessita de condições. Durante Outonos e Invernos caracterizados por elevada precipitação, verifica-se uma aceleração no processo de maturação dos oósporos, sendo a umidade e a temperatura fatores preponderantes nesse fenômeno. Após a fase de maturação, os oósporos germinam na primavera, sendo essa etapa diretamente influenciada pelas condições meteorológicas, assim, por sua vez são projetados para novas folhas. O ciclo de vida do patógeno (Figura 1) pode levar de 5 a 18 dias, dependendo das condições ambientais, onde as mesmas para o seu desenvolvimento é temperatura na faixa de 18 a 25°C, e umidade relativa acima de 70% e alta incidência de chuvas.



**Figura 1** - Ciclo de doença do míldio em videira causado por *Plasmopara viticola*. Extraído de: Anjos, (2015).

Para que novas infecções ocorram, é essencial que haja condensação de água sobre o tecido foliar por pelo menos duas horas. Com isso, durante o inverno sua sobrevivência se dá principalmente por meio de oósporos que emergem durante a etapa final do ciclo vegetativo da videira, em folhas com manchas em forma de mosaico que caem com a chegada do inverno. Com a chegada da primavera, quando a temperatura do solo se eleva acima de 10°C, os oósporos germinam e formam os macrosporângios, que são disseminados pelo vento e respingos de chuva, iniciando assim o ciclo de infecção da planta (Gindro; Pezet; Viret, 2003).

Quando próximos aos estômatos das folhas, os zoósporos liberam os flagelos e originam uma hifa especializada, conhecida como haustório. Essa estrutura penetra no estoma, facilitando a entrada no zoósporo na câmara estomática (Rossi et al. 2013). Os zoósporos presentes na câmara estomática desenvolvem hifas que se expandem para o espaço intercelular, colonizando assim o tecido do hospedeiro. Após o período de incubação, manifestam-se os sintomas primários da doença que se manifestam através de lesões verdes opacas ou amareladas

na superfície das folhas, também conhecidas como “manchas de óleo” (Figura 2<sup>a</sup>) (Wilcox et al. 2015).

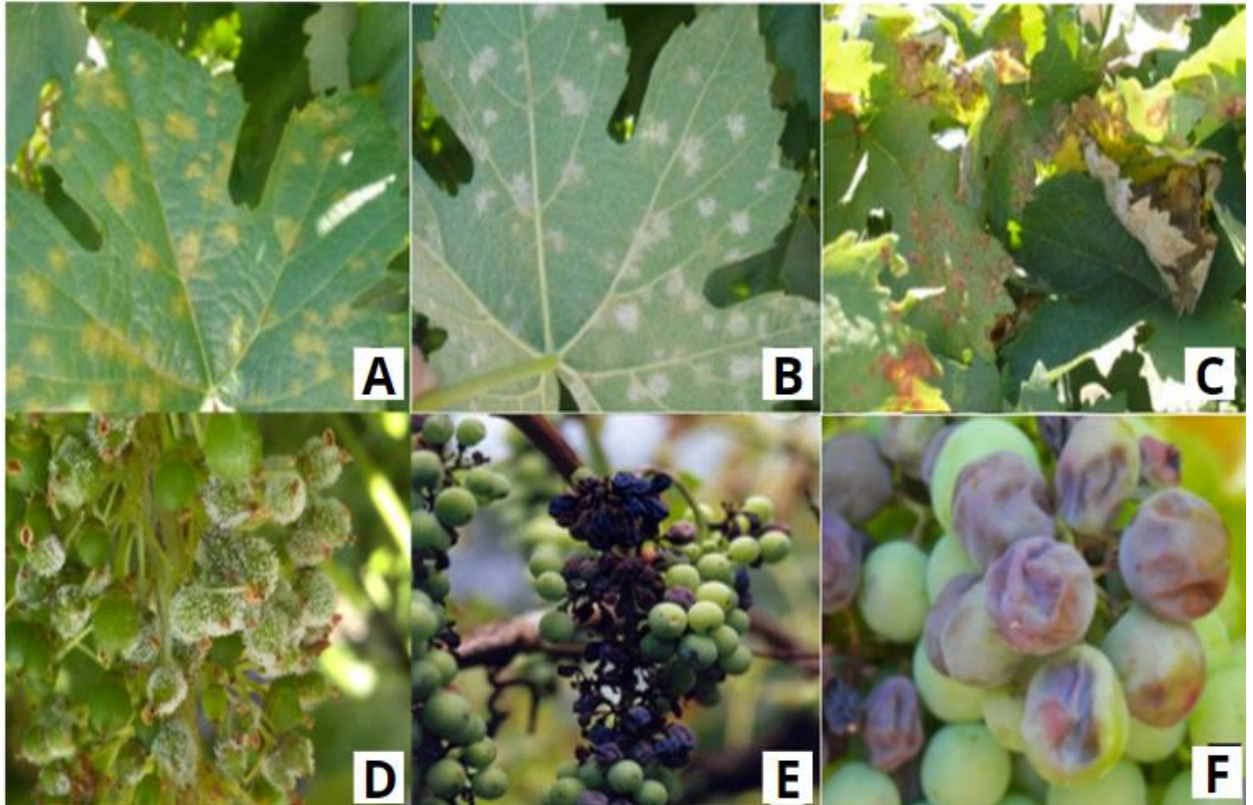
Durante a fase assexuada do míldio, as infecções secundárias surgem devido aos esporângios gerados nas áreas afetadas pelas manchas de óleo. Após o aparecimento dos sintomas iniciais, o micélio de *P. viticola* continua a se desenvolver, colonizando os tecidos das folhas. Em condições propícias, *P. viticola* emerge dos estômatos das folhas, resultando na formação de esporangióforos (2n) nas lesões primárias do patógeno, cujas extremidades contêm esporângios (2n). Esse processo é conhecido como esporulação, evidenciando-se na forma de manchas brancas na face inferior da folha (Figura 2B), nas áreas coincidentes com as manchas de óleo, conforme descrito por Rossi et al. (2013).

À medida que os esporângios de *P. viticola* amadurecem, eles se desprendem dos esporangióforos e dispersam-se para novas folhas e cachos, impulsionados por precipitação e vento. Após o depósito no novo hospedeiro, os esporângios germinam, liberando zoósporos (2n) que dão início às infecções secundárias (Brischetto et al. 2020; Caffi et al. 2013). Os ciclos secundários de infecção podem ocorrer ao longo do ciclo vegetativo, quando as condições edafoclimáticas favorecem a esporulação. Contudo, a produção de esporângios diminui a cada ciclo assexuado de *P. viticola*, devido ao aumento da área necrosada nas zonas infectadas das folhas. Essa restrição progressiva na produção de esporângios assexuais ocorre principalmente na periferia das áreas danificadas, limitando as propagações da infecção (Kennelly et al. 2007).

Conforme a doença avança, as manchas nas folhas evoluem para necroses de coloração castanho-avermelhada, assumindo uma forma irregular (Figura 2C). Quando as folhas atingem 75% de sua área necrosada, é comum que caiam, resultando em uma desfolha precoce. Essa desfolha reduz a área fotossintética ativa da planta e, por conseguinte, compromete a produção de fotoassimilados que normalmente seriam transportados para os bagos. Essa interação complexa entre a reprodução do patógeno, os ciclos de infecção e os danos foliares destaca a importância de estratégias de manejo eficazes para preservar a saúde das videiras e otimizar a produção ao longo do tempo (Wilcox et al. 2015)

Antes mesmo da floração, as inflorescências contaminadas por *P. viticola* secam e caem. Os cachos e os bagos são suscetíveis ao ataque do fungo desde o início da floração até a maturação. Na fase inicial do desenvolvimento, chamada de estágio chumbinho, a inflorescência e o cacho podem ser cobertos por uma massa branca composta por estruturas fúngicas (Figura 2D), levando ao desprendimento do pecíolo, a seca e a queda das flores. Quando os bagos ainda estão em fase de imaturidade e são infectados, seu crescimento é interrompido,

tornando-se endurecidas, secas e adquirindo uma coloração mais escura (Figura 2E). Por outro lado, nos bagos que estão na fase final de maturação, a infecção ocorre pelo pedúnculo, e o crescimento do fruto dentro delas resulta na formação de áreas deprimidas e de coloração mais escura (Figura 2F) (Gessler; Pertot; Perazzolli, 2011).



**Figura 2** - Sintomatologia do míldio na videira. Adaptado de: Lopes, (2017).

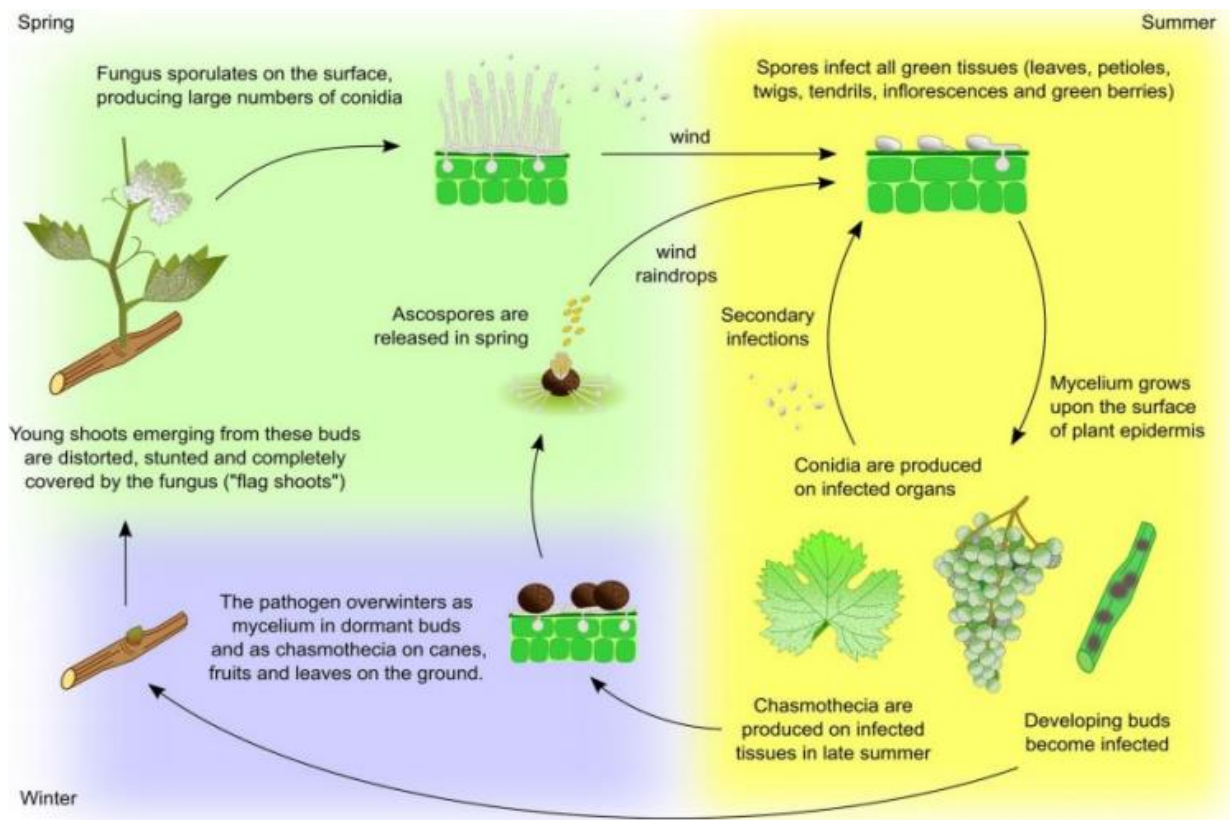
Os danos nas folhas das videiras têm implicações significativas na saúde geral da planta e, conseqüentemente, no rendimento da colheita. Ao sofrer os danos, as folhas são prejudicadas em sua capacidade de realizar a fotossíntese eficientemente, um processo vital para a produção de carboidratos. Esses carboidratos, por sua vez, desempenham um papel crucial no desenvolvimento e na maturação das uvas. Assim, os danos nas folhas não apenas reduzem a quantidade de carboidratos disponíveis para o desenvolvimento das uvas, mas também enfraquecem a capacidade da videira de se recuperar e prosperar em safras subsequentes (Goidanich et al. 1983).

### 3.2.2. Oídio da videira

Já o oídio, *U. necator*, forma perfeita de *Oidium tuckeri* (Berck) é reconhecido com a doença fúngica de maior relevância econômica no contexto da viticultura. Isso se deve ao fato de que a sua propagação não depende de condições específicas de umidade e temperatura, ao contrário do míldio, os conídeos não dependem da ocorrência de cuva para se desenvolverem, pelo contrário, a presença de chuva pode na verdade prejudicar, lavando e impedindo a germinação desses esporos. Além disso, a exposição direta a luz é prejudicial ao desenvolvimento dos conídeos, enquanto áreas sombreadas e com ventilação deficiente se mostram mais propícias para o seu crescimento. Originária da costa leste dos Estados Unidos no século XIX, a doença expandiu-se para Inglaterra uma década depois, propagando-se assim posteriormente em todo o continente europeu entre os anos de 1847 e 1851 (Dry et al. 2010).

Segundo Garrido e Gava (2014), o fungo *U. necator* responsável por causar o oídio, é um parasita obrigatório e pode invadir todas as partes verdes da planta. As estruturas finas e transparentes do fungo, chamadas de hifas, possuem projeções distintas chamadas apressórios, que marcam o início da infecção. Depois de conseguir atravessar a camada protetora externa da planta, composta pela cutícula e parede celular, o fungo cria estruturas globosas chamadas de haustórios, que servem para sugar nutrientes das células da planta hospedeiras. Desta forma, o fungo acaba dando perdas tanto quantitativas como qualitativas para a cultura (Garrido; Gava, 2014).

O oídio se espalha principalmente através do vento, durante o inverno, o fungo permanece dormente na forma de micélio dentro dos gomos (forma assexuada), ou como estruturas conhecidas por ascósporos (que são os órgãos reprodutivos da forma sexuada), na superfície das plantas de videiras (Figura 3). As condições perfeitas para a germinação dos conídeos são de 25°C e uma faixa de 40-60% de umidade, já temperatura inferior a 6°C ou superior a 35°C inibe a germinação, porém condições de clima seco e frescos, com temperaturas entre 20°C e 27°C, favorecem o desenvolvimento da doença. Chuvas intensas tem capacidades de erradicar o fungo através de lavagem foliar (Fathi; Khiavi. 2012).

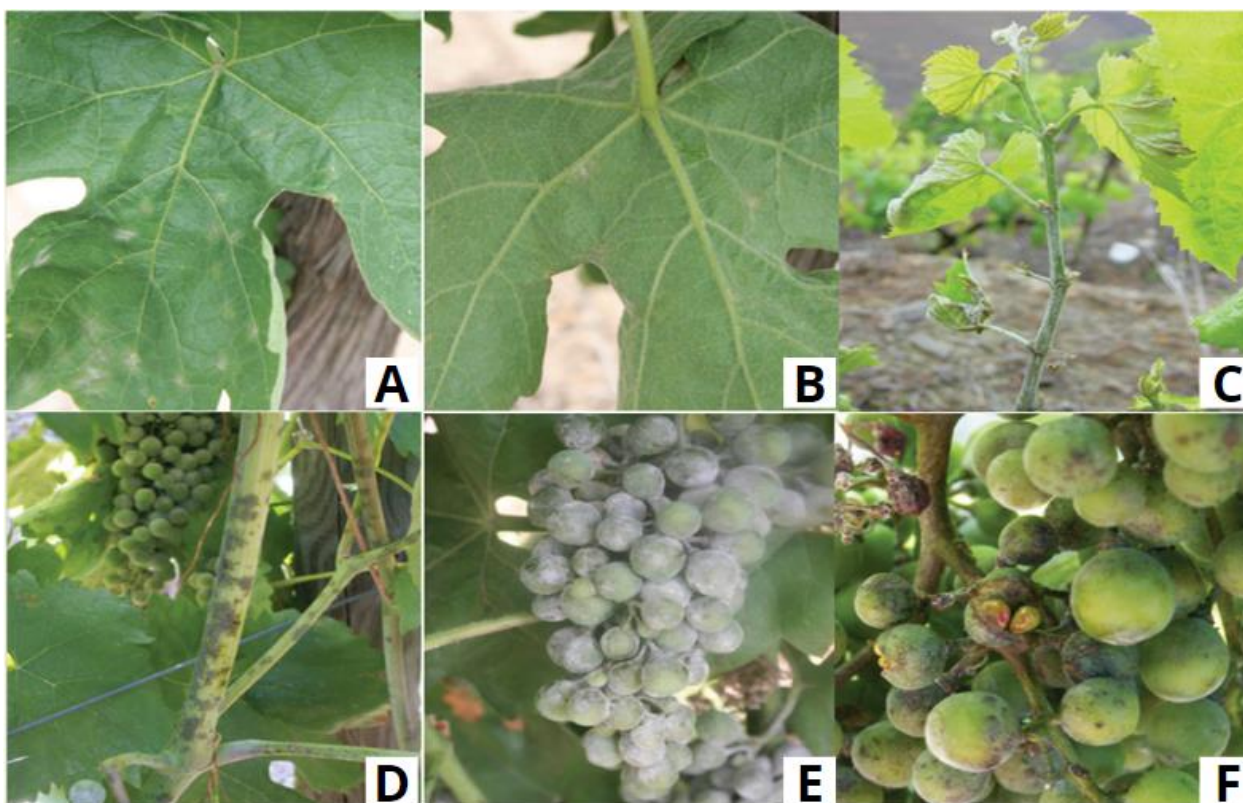


**Figura 3** - Ciclo de vida do patógeno *Uncinula necator* (Schw.) na videira. Extraído de: Pirrello et al. (2019).

Conforme previamente mencionado, o fungo *U. necator* exerce impacto sobre todas as estruturas verdes da planta, englobando folhas, pecíolos, varas, gavinhas, inflorescências e bagos verdes, e a gravidade do ataque depende do momento e que acontece a infecção. Nas folhas forma-se uma camada cinza-claro meio esbranquiçado na face superior (Figura 4A), levando ao aparecimento de manchas castanho-claras nas nervuras da superfície inferior (Figura 4B). Caso o ataque ocorra muito cedo, as folhas se enrugam e ficam pouco desenvolvidas. Quando os pampas são alvos da infecção, estes exibem uma tonalidade esbranquiçadas, induzindo a um padrão de crescimento curvado nos lançamentos, conhecidos como “bandeiras” (Figura 4C) (Gadoury et al. 2012).

Nos sarmentos, os sintomas caracterizam-se inicialmente por manchas irregulares de tonalidades verde-escuro, as quais, ao longo do tempo, gradualmente transitam para matrizes acastanhadas que subsistem durante todo o ciclo do inverno. Quando as infestações atingem níveis mais severos, esses segmentos de varas podem assumir uma coloração intensamente escura, quase negra (Figura 4D), o que acaba por ter implicações significativas na sua capacidade de realizar o processo de lignificação de maneira adequada (ADVID, 2012).

As inflorescências e os bagos exibem uma camada pulverulenta branca-acinzentada (Figura 4E), resultando na subsequente dessecação dos botões florais. Durante as fases iniciais do desenvolvimento dos cachos, é notável e distintivo o começo do ataque a partir dos pedicelos, que posteriormente se espalha para os bagos, como o fungo se desenvolvendo nos pedicelos e nos ráquis também. Em situações de infestações acentuadas, os bagos podem não atingir seu desenvolvimento completo, resultando em sua murcha. À medida que os cachos se desenvolvem mais e os bagos aumentam uma camada pulverulenta densa que interrompe o crescimento da epiderme na região afetada, o que pode levar a rachadura dos bagos (Figura 4F) (Gadoury et al. 2012).



**Figura 4** - Sintomatologia do oídio em videira. Adaptado de: ADVID, (2012).

De acordo com Tomaz et al. (2022), quando os bagos já atingirem a maturação após a fase do pintor, mesmo sob condições propícias, não se observa manifestação de infecção por *U. nicator*. Isso é frequentemente justificado pela alta concentração de açúcares. Entretanto, o mesmo neste estágio, podem ocorrer danos, visto que é possível ocorrer um ataque nos ráquis e no pedúnculo, levando a murcha do cacho.

A intensificação dos ataques de oídio nas vinhas não só gera prejuízo locais, mas também implicações abrangentes na saúde e produção das plantas. Por um lado, esses ataques

localizados aumentam não apenas o risco de podridão cinzenta, causado pelo fungo *B. cinera*, mas também afetam significativamente tanto o potencial produtivo, quanto a qualidade dos vinhos, pois influência negativa se manifesta na acumulação de açúcares, acidez e intensidade da cor nas uvas afetadas. Esses danos se traduzem em uma redução expressiva no rendimento, com perda de peso e diminuição na quantidade de bagos por cacho (Calonnec et al. 2004; Gadoury et al. 2007).

Além disso, em casos de ataques intensos do oídio, os danos causados podem resultar em necrose e morte de folhas, cachos, cabos e até de varas jovens. A severidade da infecção está relacionada ao estágio de desenvolvimento da infecção, e ataques mais graves podem levar à perda de até 80 a 100% da produção. Entretanto, nos casos em que os ataques estão concentrados em áreas específicas, isso pode abrir caminho para a introdução de podridão cinzenta. Com isso, a persistência da doença ao longo de diversos anos pode provocar uma redução na vitalidade e capacidade produtiva das plantas, o que culmina em uma diminuição da produção no decorrer do período (ADVID, 2012).

### **3.3. Controle de doenças nas videiras**

#### **3.3.1. Controles convencionais**

A viticultura enfrenta desafios constantes devido a suscetibilidade das videiras a uma ampla gama de doenças, incluindo o míldio e oídio, já descritos anteriormente. A estratégia de controle convencional envolve o uso de produtos químicos, como fungicidas e bactericidas, para suprimir a proliferação e disseminação desses agentes patogênicos (Agrios, 2005).

No entanto, o controle convencional se baseia na aplicação, quando necessária, de produtos químicos de maneira preventiva ou curativa, dependendo das condições climáticas e do estágio de desenvolvimento das doenças e das videiras. Esses produtos químicos são formulados para inibir o crescimento dos patógenos ou eliminar a sua presença, minimizando assim os danos nas plantas e os prejuízos na produção. Em regiões propícias à multiplicação de fungos fitopatogênicos, a complexidade dos problemas fitossanitários exige um aumento nas aplicações de fungicidas, resultando em custos de produção significativos (Félix; Cavaco, 2009).

A decisão de implementar um tratamento exige uma cuidadosa seleção dos fungicidas, sendo essencial compreender as características de cada substância para assegurar um uso racional e seguro. As substâncias químicas, classificadas em diferentes famílias (Tabelas 1 e 2),

devem ser aplicadas em fases específicas do ciclo vegetativo, considerando as restrições estabelecidas pelas normas de proteção integrada (ADVID, 2012).

**Tabela 1** - Famílias químicas dos fungicidas contra oídio da videira. Adaptado de: ADVID (2012).

<b>FAMILIA QUÍMICA</b>	<b>SUBSTÂNCIA ACTIVA</b>
<b>contacto</b>	enxofre
<b>triazol</b>	fenobuconazol, micobutanil, penconazol, tetraconazol, difenoconazol
<b>espiroquetalaminas</b>	espiroxamina
<b>estrobilurinas</b>	azoxistrobina, cresoxime-metilo, piraclostrobina
<b>fenoxiquinoleinas</b>	quinoxifena, proquinazida
<b>carboximidas</b>	boscalide, fluxapiraxade
<b>benzofenonas</b>	metrafenona
<b>pirimidina</b>	bupirimato
<b>inorgânicos</b>	folpet, hidróxido de cobre, oxicloreto de cobre

**Tabela 2** - Famílias químicas dos fungicidas contra míldio da videira. Adaptado de: Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) (2023).

<b>FAMILIA QUÍMICA</b>	<b>SUBSTÂNCIA ACTIVA</b>
<b>estrobilurinas</b>	azoxystrobin, boscalid, pyraclostrobin
<b>imidazolinona</b>	triflumizole
<b>amidas do ácido carboxílico</b>	difenoconazole, fludioxonil
<b>acetamidas</b>	metalaxil-m
<b>fosfato</b>	fosetyl-al
<b>ditiocarbamatos</b>	mancozeb, propineb, metiram
<b>morfolina</b>	dimetomorfe
<b>piramida</b>	fluopirame
<b>triazolinas</b>	fluazinam
<b>inorgânicos</b>	folpet, oxicloreto de cobre

Os fungicidas a base de fosfitos tem ganhado interesse crescente no controle dessas doenças na videira. Os fosfitos não atuam como fungicidas convencionais, mas sim como indutores de resistência, fortalecendo as defesas naturais das plantas contra patógenos, além de atuar diretamente sobre o patógeno (Burgess; Colquhoun; Hardy, 2000).

Os produtos à base de enxofre funcionam como fungicidas de contato, inibindo o crescimento e a disseminação dos fungos. Eles estabelecem uma camada protetora na superfície das folhas e dos cachos. Por outro lado, os fungicidas sistêmicos IBS (Inibidores da Síntese de Ergosterol), incluindo o propiconazol e outros triazóis, também são indicados para aplicação preventiva ou após a detecção dos primeiros sintomas do oídio na cultura da videira, sempre seguindo as recomendações corretas garantindo a eficácia dos produtos e evitando a ocorrência de fitotoxicidade (Winkler et al. 1974).

O mancozeb é classificado como um fungicida de contato, atuando de maneira preventiva, enquanto o cymoxanil é de ação sistêmica e atua interferindo a germinação dos esporos. No entanto, a produção agrícola está enfrentando demandas da sociedade para garantir uma produção mais sustentável e livre de resíduos (Talamini; Stadnik, 2004).

### **3.3.2. Potencial de produtos oriundos de plantas como indutores de resistência e bioestimulantes**

A crescente inquietação com a contaminação do solo destaca uma série de preocupações relacionadas às funções e biodiversidade desse ecossistema vital, evidenciando implicações diretas para a segurança alimentar. Paralelamente, emergem apreensões a respeito do transporte de contaminantes para além do local de origem, um fenômeno impulsionado pela erosão provocada tanto pelo vento quanto pela água. Esse deslocamento iminente pode comprometer significativamente o equilíbrio de ecossistemas absorventes, estabelecendo rotas adicionais de exposição a contaminantes do solo tanto para seres humanos quanto para outras formas de vida não intencionadas (Pérez; Eugênio, 2018).

Frente a esse panorama preocupante, a necessidade de desenvolver métodos alternativos de controle de doenças de plantas torna-se premente, visando minimizar os riscos inerentes a tais processos (Tomaz et al. 2022). Nesse contexto, os óleos essenciais extraídos de plantas emergem como uma alternativa promissora aos fungicidas químicos. Suas propriedades antifúngicas, estudadas ao longo de vários anos, são reconhecidas por sua eficácia no combate a patógenos em plantas e frutas. Além de suas características antifúngicas e antibacterianas, esses óleos possuem a capacidade de desencadear respostas de defesa no hospedeiro, proporcionando uma ação antimicrobiana indireta (Haidar et al. 2016) (Servili; Feliziani; Romanazzi, 2017).

De acordo com Gachkar et al. (2007), o alecrim, *Rosmarinus officinalis* L. é considerado um potencial alternativo aos produtos químicos, uma vez que apresenta uma gama diversificada

de componentes ativos. Dentre esses componentes, merecem destaque o 1,8 cineol,  $\alpha$ -pineno, borneol e cânfora, notório por suas propriedades antimicrobianas.

O estudo conduzido por Dagostin et al. (2010) evidencia a viabilidade do extrato etanólico de plantas medicinais, como a sálvia, *Salvia officinalis* L. pertencente a mesma família do alecrim, Lamiaceae, como um potencial alternativo para o controle de enfermidades em videiras. A aplicação desse extrato demonstrou uma redução significativa de 63% na Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) do míldio em folhas de videira, bem como uma notável diminuição de 94% na incidência dessa enfermidade nos cachos de uva.

Em um estudo realizado por Herger et al. (1989), investigou-se o impacto dos extratos foliares de *Reynoutria sachalinensis* F. no controle de oídio em diferentes variedades de uvas. Os resultados mostraram uma redução significativa da incidência da doença, com a eficácia do extrato variando de acordo os níveis iniciais da doença e a suscetibilidade as variedades. Além do controle da doença, o extrato contribuiu para prolongar a retenção foliar e fortalecer as canas das videiras, conferindo resistência contra futuras doenças. No entanto, vale ressaltar que o extrato mostrou ser menos eficaz em comparação com tratamento utilizando fungicidas a base de triazóis.

Os extratos provenientes das plantas de urtiga, *Urtica dioica* L. e erva-de-japonês, *Leonurus Japonicus* L. tiveram um efeito estimulante nos antioxidantes presentes nas folhas e bagos, resultando na redução da severidade do míldio. Esses extratos são compostos por uma combinação de componentes ativos, os quais contêm diversos metabólicos secundários que apresentam uma variedade de modos de ação. Esses componentes podem agir de forma tóxica direta contra os patógenos ou estimular o sistema de defesa da videira para combater a doença (Monteiro et al. 2023).

Carneiro (2003), verificou que o uso do óleo de nim, *Azadirachta indica* A. foi eficaz no controle do oídio em plantas de tomates cultivadas em ambientes de estufas. O extrato aquoso de sementes de nim também mostrou excelente eficácia na inibição de esporângios do míldio em folhas de videira previamente destacadas (Steinhauer, 1999). Diante dessas evidências, é possível constatar que nos últimos anos, diversos estudos têm documentado a capacidade de compostos extraídos de plantas em inibir o crescimento e desenvolvimento desses microrganismos em diversas culturas agrícolas.

### **3.3.2.1. Compostos bioativos**

O emprego de extratos vegetais na agricultura representa uma abordagem cada vez mais adotada devido aos resultados promissores que tem apresentado no controle de pragas e doenças em culturas agrícolas. Essa tendência se fundamenta, em grande parte, na eficácia demonstrada pelos princípios ativos presentes nos extratos vegetais, que podem ser obtidos a partir de diferentes partes das plantas, como folhas, caules, raízes, flores e sementes. Esses compostos bioativos têm a capacidade de combater patógenos e pragas de forma eficaz, desempenhando um papel fundamental no contexto do uso biológico, minimizando os impactos negativos no meio ambiente (Leal et al. 2016).

Esses compostos são produzidos naturalmente pela natureza e tem a capacidade de interagir com organismos vivos de maneira benéfica. No contexto da agricultura, esses compostos têm sido amplamente explorados para o controle de pragas e doenças em culturas agrícolas. Muitas plantas produzem metabólitos secundários que tem propriedades inseticidas, fungicidas ou repelentes naturais, contribuindo assim para a proteção das culturas de forma mais sustentável (Caleja et al. 2017).

As plantas possuem uma notável capacidade de fabricar uma ampla variedade de substâncias de baixo peso molecular conhecidas como metabolitos secundários. Esses compostos podem ou não desempenhar um papel crucial no funcionamento interno das plantas. O que distingue os metabolitos secundários é que sua produção é exclusiva de certas espécies vegetais e a quantidade varia de uma planta para a outras. Isso é diferente dos metabolitos primários, como carboidratos, proteínas e clorofila, que são encontrados universalmente em todas as plantas e desempenham funções metabólicas fundamentais (Mendes, 2007).

A maioria dos compostos bioativos são metabólitos secundários, predominantemente envolvidos nos mecanismos de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta, ataques de insetos ou patógenos. Dada a sua diversidade, esses compostos podem ser categorizados em grupos que abrangem milhares de substâncias distintas. Alguns desses compostos são exclusivos de determinadas espécies ou gêneros de plantas, enquanto outros seguem critérios complexos de classificação (Manach et al. 2004).

Sendo assim, esses compostos ativos são ricos por abrangerem uma ampla variedade de substâncias, e podem ser categorizados em três grupos principais: terpenoides, fenóis e alcaloides. Pesquisas evidenciam que muitos desses compostos exibem atividades biológicas notáveis, como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antibacteriana, antivirais dentre outras, e cada grupo apresenta suas próprias propriedades e aplicações distintas. Por exemplo,

os terpenoides, que são encontrados nos óleos essenciais de plantas aromáticas, tem aplicações na aromaterapia e na criação de fragrâncias, enquanto os alcaloides exibem efeitos estimulantes e propriedades medicinais. Já os flavonoides uma das classes encontradas dentro dos compostos fenólicos são reconhecidos por suas ações antioxidantes e anti-inflamatórias (Gracelin; Britto; Kumar, 2013).

### 3.3.2.1.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias bioativas amplamente encontradas no reino vegetal. Constituídos por um ou mais anéis aromáticos hidroxilados, esses compostos desempenham um papel crucial na atividade antioxidante de vegetais. Sua função de oxido-redução envolve a absorção e neutralização de radicais livres, uma vez que possuem elétrons  $\pi$  em sua estrutura, estabilizando assim os radicais formados durante a oxidação do fenol (Horst, 2012).

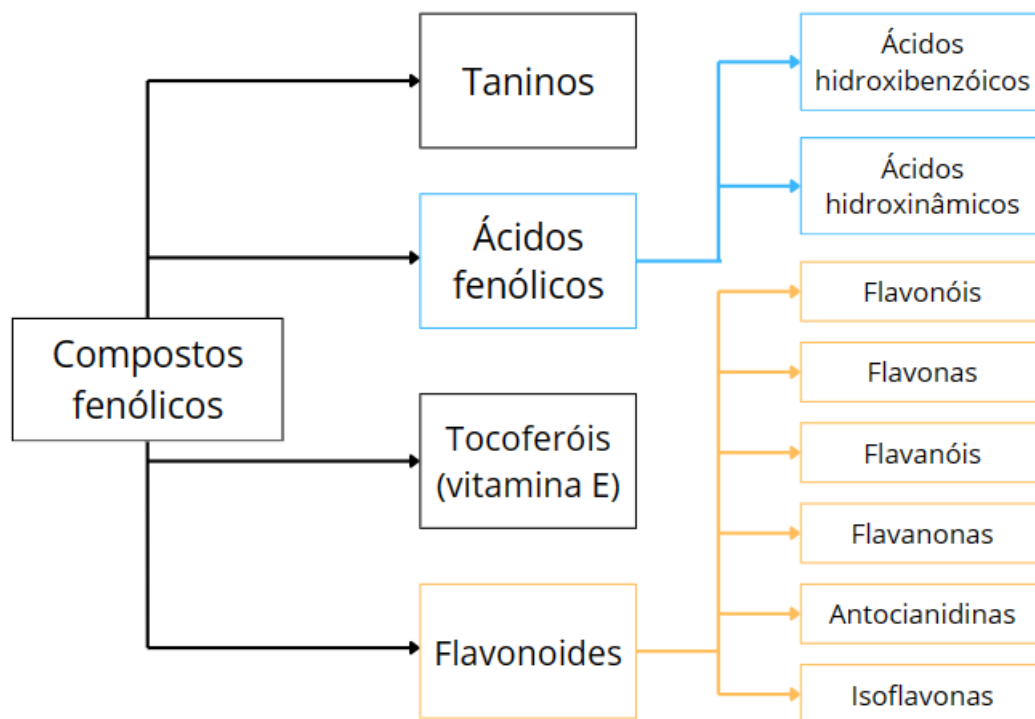
Devido a vasta diversidade estrutural dos compostos fenólicos, sua classificação ocorre de acordo com a cadeia carbônica principal que compõe o polifenol. Esses compostos representam um grupo de substâncias químicas com estruturas extremamente variadas. A classificação dos compostos fenólicos é realizada com base na cadeia principal de carbono do composto fenólico (Tabela 3), que são caracterizados por apresentarem um ou mais anéis aromáticos hidroxilados, conferindo propriedades antioxidantes e outras atividades biológicas (Dias et al. 2019).

**Tabela 3** - Classificação dos compostos fenólicos de acordo com a cadeia carbônica principal. Adaptado de Lemos (2008).

<b>ESTRUTURAS</b>	<b>CLASSE POLIFENÓLICA</b>
<b>C<sub>6</sub></b>	fenóis
<b>C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub></b>	ácidos hidroxibenzoicos
<b>C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub></b>	acetofenonas e ácidos fenilacéticos
<b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub></b>	ácidos hidroxicinâmicos, cumarinas e cromonas
<b>C<sub>6</sub>-C<sub>4</sub></b>	naftoquinonas
<b>C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub></b>	benzofenonas e xantonas
<b>C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub></b>	estilbenos e antranquinonas
<b>C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub></b>	flavonoides

$(C_6-C_3-C_6)_2$	biflavonoides
$C_6-C_1)_N$	taninos hidrolisáveis
$(C_6-C_3-C_6)_N$	taninos condensados ou proantocianidinas

Seguindo essa classificação dos compostos fenólicos baseado na estrutura da cadeia carbônica principal, resultando assim em diversas classes, destacando como antioxidantes fenólicos naturais mais comuns os flavonoides, ácidos fenólicos, taninos e tocoferóis (Figura 5). Uma das classes proeminentes são os flavonoides, que por sua vez se dividem em subclasses, incluindo flavononas, flavonóis, flavonas, antocianidinas, chalconas, flavanóis e isoflavonas. Cada classe e subclassificação possui propriedades únicas, contribuindo para a complexidade e versatilidade desses compostos no contexto da química vegetal (Sousa et al. 2007).



**Figura 5** - Representação gráfica das principais classes de compostos fenólicos. Adaptado de: Leichtweis et al. (2021).

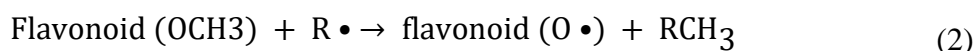
Os flavonoides desempenham um papel crucial na resposta de defesa das plantas contra ataques microbianos, sendo fundamentais na produção de fitoalexinas. Essas substâncias desempenham um papel vital no sistema de defesa das plantas, agindo como uma resposta rápida e eficaz contra patógenos invasores. No âmbito dessa complexa rede de interações,

destacam-se os isoflavonoides, flavonas e flavanonas, que demonstram propriedades notáveis. (Martínez-Flórez et al. 2002).

Segundo Cushnie e Lamb (2005), esses compostos inibem o crescimento dos esporos através de diversos mecanismos. Em geral, esses compostos interferem nas vias metabólicas e processos fisiológicos essenciais para o desenvolvimento dos esporos. Alguns flavonoides podem afetar a permeabilidade da membrana celular dos esporos, comprometendo sua integridade e função. Outros podem inibir enzimas cruciais para o metabolismo dos esporos, impedindo assim seu crescimento e reprodução. Em geral, a capacidade dos flavonoides de inibir o crescimento dos esporos está associada a combinação destes efeitos, em que esses mecanismos contribuem para a eficácia desses compostos na alteração das plantas contra-ataques microbianos.

A ação antioxidante é a característica mais amplamente reconhecida dos flavonoides, sendo notável por desempenhar um papel essencial ao doar elétrons ou átomos de hidrogênio para radicais livres. Essa ação desempenha um papel significativo na transformação desses radicais em moléculas inofensivas. Além disso, os flavonoides oo agir como doadores de elétrons, esses compostos apresentam estruturas químicas conjugadas, enriquecidas com grupos hidroxilas, conferindo-lhes um potencial significativo para interagir de maneira eficaz com agentes oxidantes. (Martínez-Flórez et al. 2002).

Um antioxidante é uma molécula estável capaz de doar um elétron a um radical livre, neutralizando-o e reduzindo sua capacidade de causar danos celulares. Dessa forma, os antioxidantes têm a capacidade de retardar ou inibir danos celulares, principalmente através de suas propriedades de eliminação de radicais livres. Esses compostos possuem a capacidade de neutralizar ânions superóxido, oxigênio singlete, radicais peróxidos de lipídios e estabilizar radicais livres envolvidos nos processos oxidativos, seja por hidrogenação (1) ou complexação com espécies oxidantes (2), conforme demonstrado nas equações 1 e 2 (Machado et al. 2008).



Os taninos, classificados como compostos fenólicos, despertam interesse tanto pelo viés econômico quanto ecológico como metabólitos secundários. Desempenham um papel fundamental no conferir do sabor adstringente a determinadas frutas e produtos vegetais, ocasionando a precipitação de glicoproteínas salivares e resultando na perda de sua propriedade lubrificante. Além disso, apresentam reatividade química, formando ligações de hidrogênio

tanto intra quanto intermoleculares. Sua presença em extratos vegetais pode ser detectada por meio da precipitação de proteínas e da oxidação, especialmente quando influenciada por metais como o cloreto férrico, que provoca o escurecimento da solução. Os taninos ajudam na defesa das plantas contra fungos, bactérias, vírus, insetos e herbívoros. Em resposta a ataques de fitófagos, as plantas liberam substâncias com sabor amargo ou adstringente, afetando o paladar dos predadores. Essa defesa é atribuída à capacidade dos taninos de se ligarem às glicoproteínas salivares. Além disso, os taninos prolongam a durabilidade das plantas no solo, aumentando o reservatório de nutrientes para o próximo ciclo de crescimento e oferecendo proteção contra a infertilidade do solo e a seca (Campos, 2018; Konno, 2011).

Eles exibem várias atividades biológicas relacionadas as plantas, como efeito antimicrobiano, antifúngico e antibacteriano. A utilização dos taninos no controle biológico para o tratamento de doenças está ligada a três elementos: interação com íons metálicos (como ferro, manganês, cobre, alumínio, cálcio, entre outros), propriedades antioxidantes contra radicais livres e suas habilidades de interação com macromoléculas, como proteínas e polissacarídeos, interferindo nas estruturas celulares de microrganismos (Campos, 2018).

Certamente os compostos fenólicos no contexto do controle biológico revelam uma notável versatilidade e impacto positivo em diversas frentes. Ao explorar suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e outros atributos biológicos, evidencia-se claramente o papel crucial desempenhado por esses compostos na promoção da saúde e resistência das plantas. A compreensão aprofundada de suas atividades biológicas não apenas impulsiona o avanço do conhecimento científico, mas também orienta práticas agrícolas sustentáveis e eficazes. Nesse cenário, os compostos fenólicos surgem como valiosos aliados, fortalecendo a interação entre as plantas e seu ambiente e proporcionando estratégias inovadoras no manejo de doenças, contribuindo para o equilíbrio biológico nas culturas (Tsimogiannis; Oreopoulou, 2019).

# **4. Materiais e Métodos**

---

#### 4.1. Descrições dos locais de implantação dos experimentos

Dentro do âmbito deste estudo, foram realizados dois experimentos: um nas instalações das estufas do Instituto Politécnico de Bragança (IPB), e o outro em ambiente externo, na Quinta do Monte Xisto.

##### 4.1.1. Experimento em estufa

Um dos experimentos foi conduzido nas instalações das estufas experimentais da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança, localizada no Nordeste de Portugal. A altitude média do local atinge 682 m, com coordenadas geográficas de  $41^{\circ}47'48''\text{N}$  de latitude, e  $6^{\circ}45'42''\text{W}$  de longitude (conforme ilustrado na Figura 6). Estas estufas, caracterizadas como do tipo Túnel, apresentam cobertura em polietileno, um material robusto que permite a entrada de luz solar, ao mesmo tempo em que cria um ambiente protegido.



**Figura 6** - Descrição da área das estufas experimentais (IPB) (Google Earth, 2023).

A irrigação adotada foi por meio de sistema de gotejamento (Figura 7), que envolve um fornecimento preciso de água as plantas por meio de mangueiras que liberam a água

diretamente na base das plantas. A irrigação foi executada três vezes por semana, com duração de 40 minutos em cada sessão, mantendo uma vazão média de 1,3 L/hora.



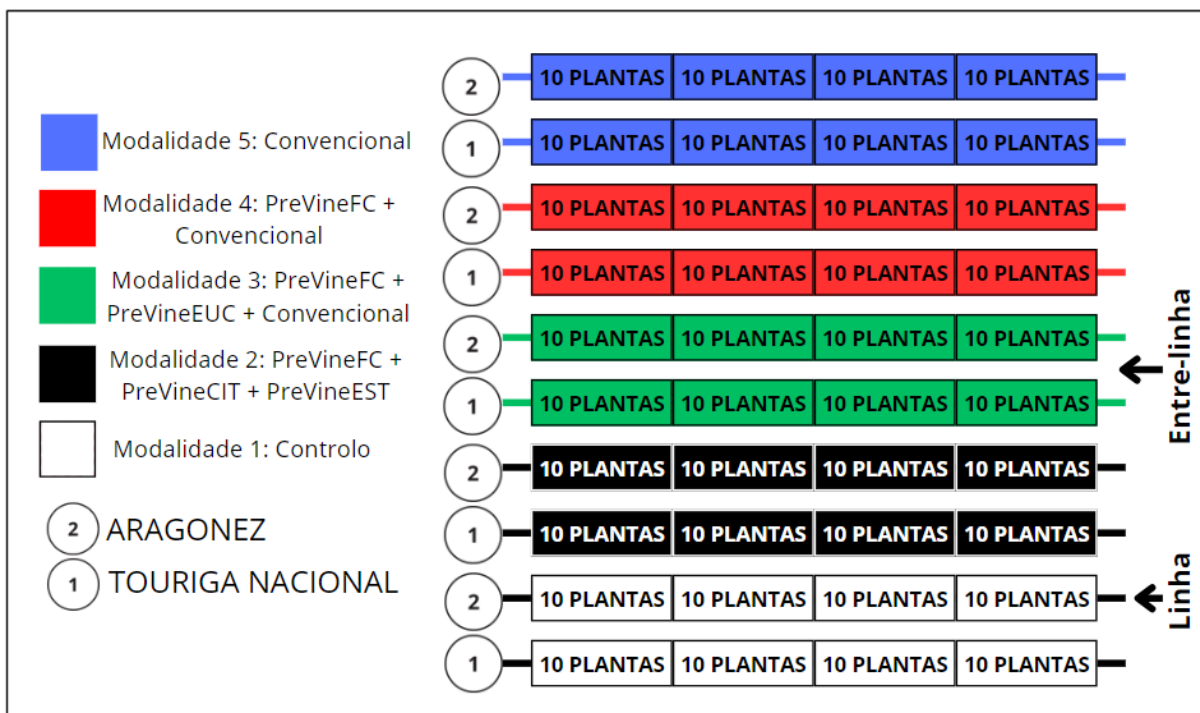
**Figura 7** - Sistema de irrigação por gotejamento.

#### **4.1.1.1. Castas utilizadas e Delineamento experimental**

Neste experimento foram utilizadas duas castas sensíveis ao míldio e oídio, sendo elas a Touriga Nacional, PRTT52206 e a Aragonez/Tinta Roriz, PRT52603. O ensaio foi dividido em cinco modalidades onde cada modalidade representa um tratamento:

1. Modalidade 1: Controlo (Testemunha);
2. Modalidade 2: PreVineFC (flor de castanheiro) + PreVineCIT (casca de laranja) 10 mg/mL + PreVineEST (esteva) 10 mg/mL;
3. Modalidade 3: PreVineFC (flor de castanheiro) + PreVineEUC (folha de eucalipto) 10 mg/mL + Convencional (80%) 140 mL/ha (penconazol);
4. Modalidade 4: PreVineFC (flor de castanheiro) 10 mg/mL + Convencional (80%) 140 mL/ha (penconazol);
5. Modalidade 5: Convencional (100%) 140 mL/ha (penconazol).

O delineamento experimental utilizado foi o Delineamento de Blocos Casualizados (DBC), ao todo eram 10 linhas (5 linhas de cada casta intercaladas), com 40 plantas em cada uma, divididas em 10 plantas por blocos, resultando em 4 repetições de cada tratamento (Figura 8).

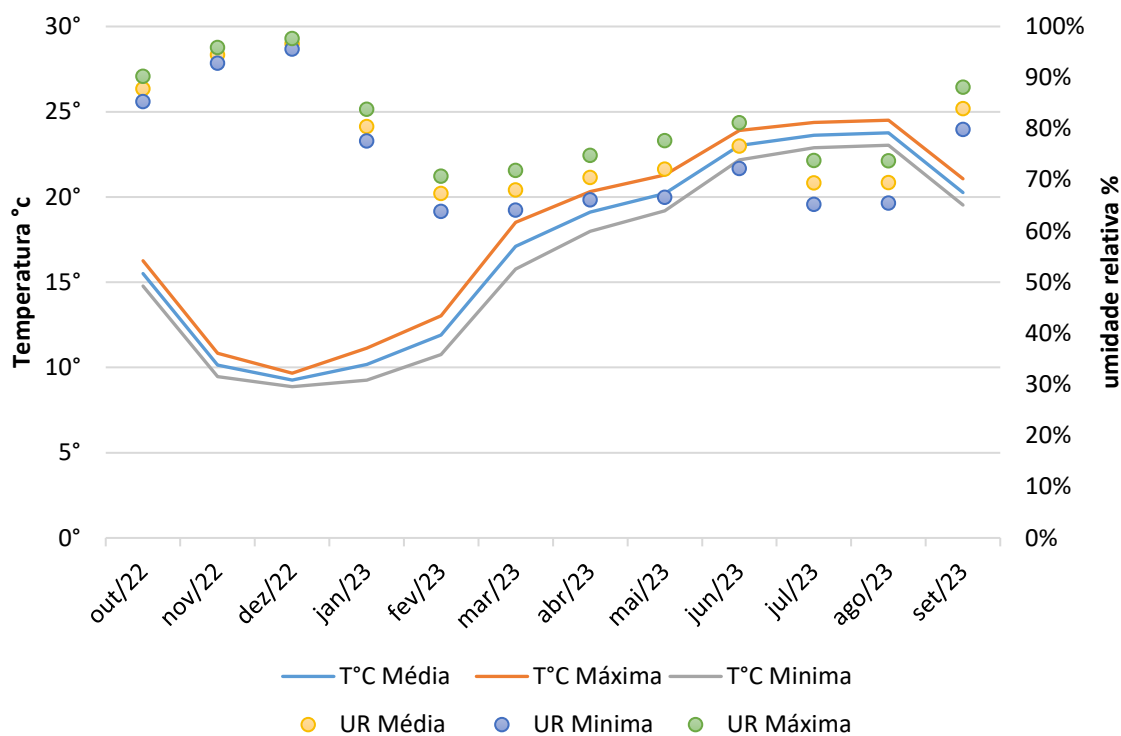


**Figura 8** - Delineamento experimental aplicado nas estufas.

#### 4.1.1.2. Dados climáticos

Nas estufas, a temperatura do ar e a umidade relativa foram monitorizadas durante o período do experimento (Figura 9). Durante os meses de outubro e inverno, observou-se uma redução nas temperaturas, atingindo a máxima de 17°C em outubro e a mínima registrada de 8°C em dezembro. Nestas estações, a umidade relativa permaneceu mais elevada, variando entre 75-90%.

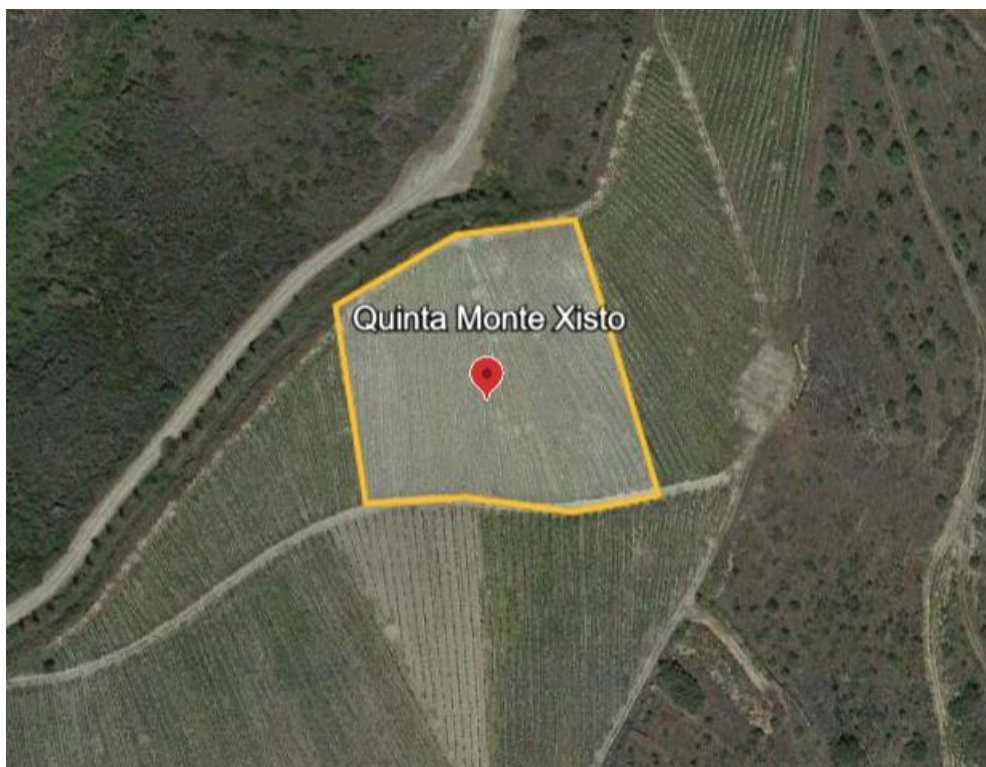
Por outro lado, nas estações de primavera e verão, houve uma tendência para um menor teor de umidade relativa, situando-se entre 65-75%. As temperaturas médias nestas estações mantiveram-se mais elevadas, com máxima em torno de 24°C e mínimas medias de 18°C.



**Figura 9** - Dados climáticos da estufa ano hidrológico 2022/23.

#### 4.1.2. Experimento a campo (Quinta Monte Xisto)

O segundo ensaio foi realizado a campo, na Quinta Monte Xisto de Nicola de Almeida, situada em Vila Nova de Foz Côa, na sub-região do Douro, que faz parte da região norte e está sob a jurisdição do distrito da Guarda. Este experimento foi implantado em uma vinha comercial, ocupando uma área total de aproximadamente 1 hectare. A altitude média do local é de 292 m, e suas coordenadas geográficas são 41°06'02"N de latitude e 7°06'33"W de longitude (Figura 10).



**Figura 10** - Descrição da área de estudo na Quinta do Monte Xisto (Google Earth, 2023).

A vinha foi estabelecida no ano de 2005, atualmente está em plena maturidade em seu ciclo de vida. Ela segue um padrão de sistematização conhecido como “vinha ao alto”, enquanto o seu sistema de condução adotado é o cordão unilateral. A disposição da vinha segue um espaçamento de 2,20 metros entre linhas e de 1 metro entre as plantas. A altura do tronco das plantas é de 0,50 metros, enquanto a altura da parede de vegetação atinge 1 metro.

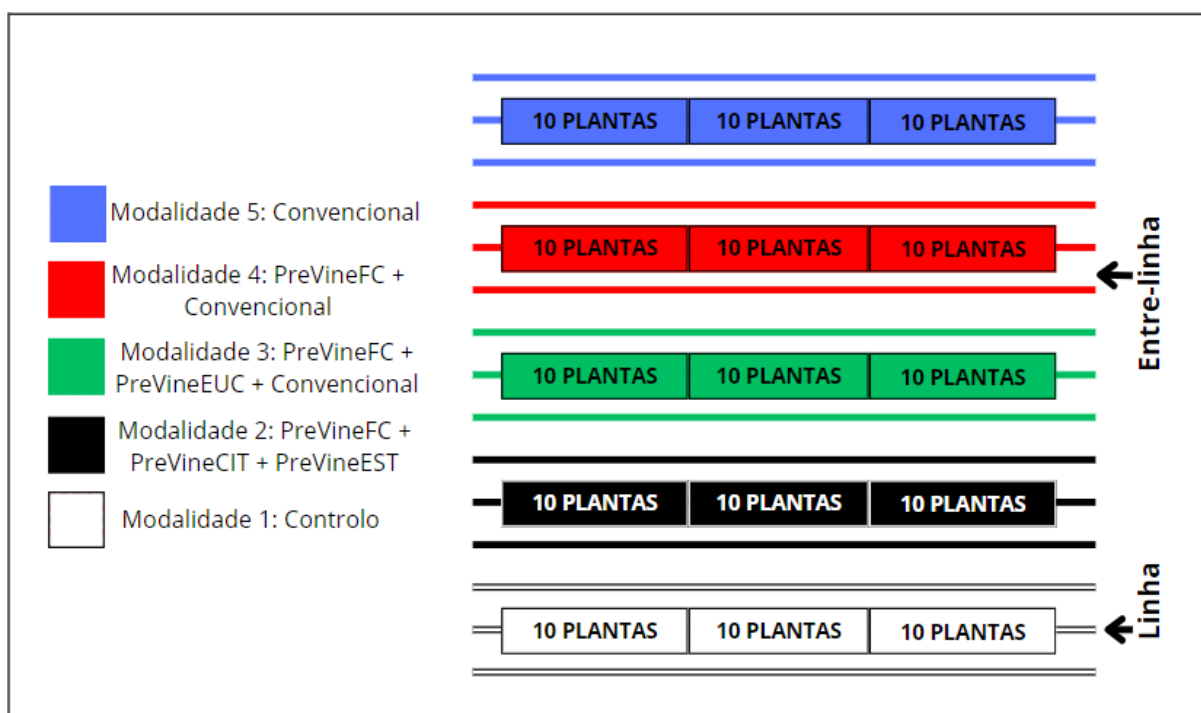
#### **4.1.2.1. Delineamento experimental**

A casta utilizada no experimento na Quinta do Monte Xisto, foi a Touriga Nacional. O ensaio foi dividido em cinco modalidades, onde cada modalidade representa um tratamento:

1. Modalidade 1: Controlo (Testemunha);
2. Modalidade 2: PreVineFC (flor de castanheiro) + PreVineCIT (casca de laranja) 10 mg/mL + PreVineEST (esteva) 10 mg/mL;
3. Modalidade 3: PreVineFC (flor de castanheiro) + PreVineEUC (folha de eucalipto) 10 mg/mL + Convencional (80%) (enxofre molhável + hidróxido de cobre);
4. Modalidade 4: PreVineFC (flor de castanheiro) 10 mg/mL + Convencional (80%) 140 mL/ha (enxofre molhável + hidróxido de cobre);

5. Modalidade 5: Convencional (100%) 140 mL/ha (enxofre molhável + hidróxido de cobre).

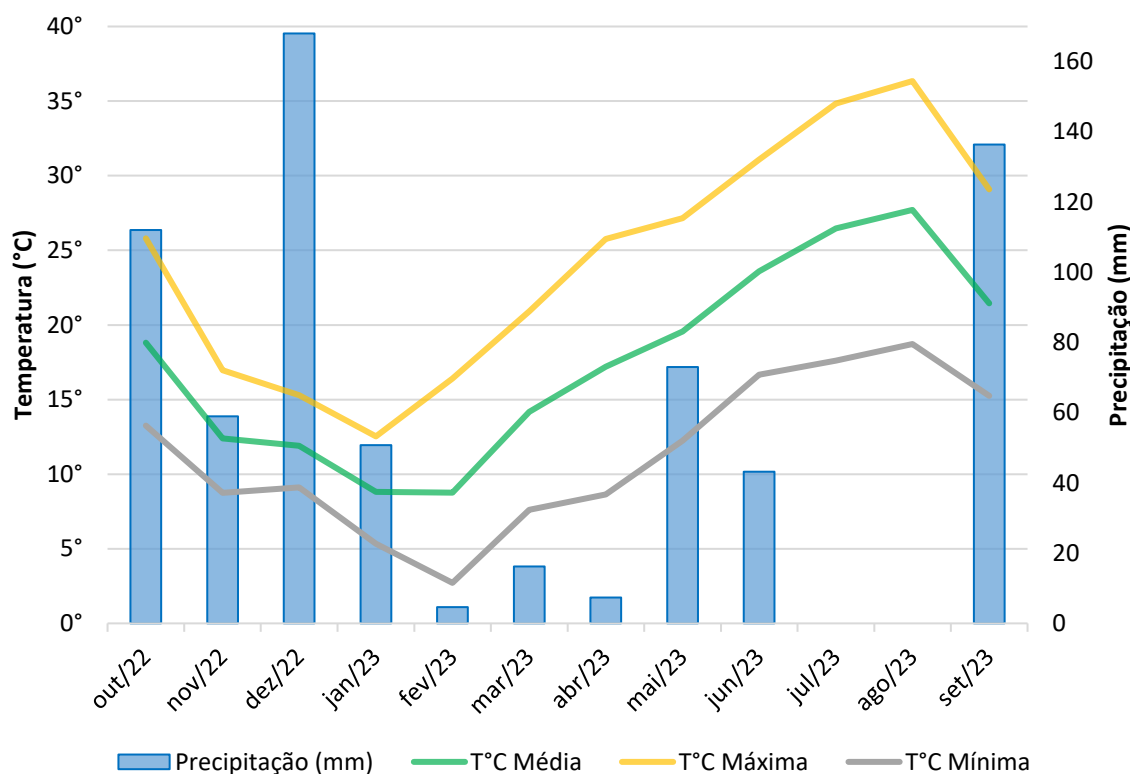
Foi adotado o Delineamento por Blocos Casualizados (DBC) no experimento, no qual cada tratamento possui três repetições (linhas), com 30 plantas em cada repetição. Essas foram subdivididas em blocos de 10 plantas, resultando em três repetições na linha central (Figura 11), onde as observações foram conduzidas.



**Figura 11** - Delineamento experimental aplicado a campo (Quinta do Monte Xisto).

#### 4.1.2.2. Dados climáticos

O clima do local é classificado como Csa (Clima Mediterrâneo de Verões Quentes) de acordo com a classificação de Köppen-Geiger. Este tipo de clima é notável por seus verões quentes e secos, onde as temperaturas médias superam os 20°C, como exemplificado na Figura 12, evidenciando a completa ausência de precipitação, que foi o caso dos meses de julho e agosto. Nos invernos, o clima é ameno, com temperaturas médias um pouco abaixo de 10°C e características chuvosas. Este padrão foi evidente no mês de dezembro, registrando aproximadamente 170 mm de precipitação.



**Figura 12** - Dados climáticos da região de Vila Nova de Foz Côa do ano hidrológico 2022/23.

## 4.2. Preparação das amostras

### 4.2.1. Seleção da matéria prima

Com base em estudos prévios realizados pelo consórcio do projeto PreVineGrape, especialmente pelo Instituto Politécnico de Bragança (IPB), foram escolhidas as matrizes mais promissoras encontradas na literatura. Sendo elas: folhas de *Eucalyptus globulus* L. (Eucalipto), plantas de *Cistus ladanifer* L. (Esteva), flor masculina de *Castanea sativa* M. (Castanheiro) e casca de *Citrus sinensis* L. (Laranja). Essa seleção considerou a presença de atividades bioativas especialmente com potencial antimicrobiano, antifúngico, bem como a composição bioativa, nomeadamente compostos fenólicos e ácidos orgânicos, presentes em plantas e bio-resíduos abundantes na região.

Dessa forma, foram utilizadas essas matrizes naturais a fim de investigar profundamente suas propriedades químicas e bioativas, com a finalidade de obter agentes antifúngicos naturais. A avaliação do potencial antifúngico dessas matrizes foi conduzida por meio de ensaios *in vitro*.

A espécie *E. globulus* (folhas de eucalipto) foi fornecida pela empresa Deifil, que liderou o projeto. As flores masculinas da espécie *C. sativa* (flor de castanheiro) foram fornecidas pela empresa Tree Flowers Solutions. Já as cascas de *C. sinensis* (casca de laranja) foram adquiridas em grandes superfícies de mercado local (LIDL) produtores de sumo de laranja. Quanto as plantas de *C. ladanifer* (esteva), foram colhidas em seu habitat natural na região nordeste transmontana, especificamente nas coordenadas 41°47'43"N de latitude e 6°44'50"W de longitude, em Bragança.

#### 4.2.2. Secagem e trituração das amostras

Ao chegarem ao laboratório, todas as folhas das varas das amostras da espécie *E. globulus* foram destacadas. Posteriormente, as amostras das espécies *E. globulus*, *C. sativa* e *C. ladanifer* eram submetidas a um processo de secagem em estufas (Figura 13), mantidas a uma temperatura de 60°C por um período de dois a três dias, até que toda a umidade fosse evaporada.



**Figura 13** - Amostras secas.

Já as amostras das espécies de *C. sinensis*, primeiramente tinham a parte do albedo removida, permanecendo apenas a parte mais exterior da casca. Diferente das demais amostras, as cascas de *C. sinensis* tinham um período de secagem de dois a três dias, porém em temperaturas entre 30-45°C para preservar as propriedades dos compostos presentes na casca (Figura 14), pois se fossem submetidas a temperaturas mais elevadas podem resultar a degradação dos compostos bioativos sensíveis ao calor (Gastaldi et al. 2018).



**Figura 14** - Amostra de *Citrus sinensis*.

Após esse processo, todas as amostras foram trituradas em um processador de alimentos, formando assim uma espécie de “farinha” (Figura 15) e armazenadas em ambiente ao abrigo de luz e humidade.



**Figura 15** - Trituração das amostras.

### 4.3. Preparação dos extratos

#### 4.3.1. Metodologia de Ultrassom

As extrações foram realizadas utilizando o equipamento de extração ultrassom (Figura 16), de acordo com as metodologias de Alaya et al. (2021), Fernandes et al. (2022) e Lima (2021), bem como as condições ótimas de extrações de cada amostra, detalhadas na Tabela 4. É importante notar que, no caso da esteva, foram adotadas as mesmas condições estabelecidas para o eucalipto.



Figura 16 - Equipamento de extração ultrassom.

Tabela 4 - Condições ótimas de extração.

Amostra	Potência Ultrassônica (W)	Tempo (Min)	Amplitude (%)	Concentração	Solvente
<i>C. sinensis</i>	119.2	35.5	23,84	1 g / 50 ml	Água
<i>C. ladanifer</i>	500	33	100	1,5 g / 50 ml	Etanol / água (80:20, v/v)
<i>E. globulus</i>	500	33	100	1,5 g / 50 ml	Etanol / água (80:20, v/v)
<i>C. sativa</i>	258.78	23,47	50,51	1,5 g / 50 ml	Etanol / água (50:50, v/v)

Seguindo essas abordagens metodológicas, boas práticas e as condições ideais estabelecidas para cada amostras, as extrações foram conduzidas em concentrações específicas (Tabela 5).

**Tabela 5** - Concentrações das amostras para realização da extração

<b>Amostra</b>	<b>Concentração</b>
<i>C. sinensis</i>	2,07 g/100mL
<i>C. ladanifer</i>	3,02 g/100mL
<i>E. globulus</i>	3,08 g/100mL
<i>C. sativa</i>	3,05 g/100mL

Após as extrações, as amostras foram submetidas a filtração (Figura 17 A), e em seguida, procedeu-se a evaporação de todos os extratos utilizando um evaporador rotativo, até que não houvesse mais a presença de etanol (Figura 17 B).

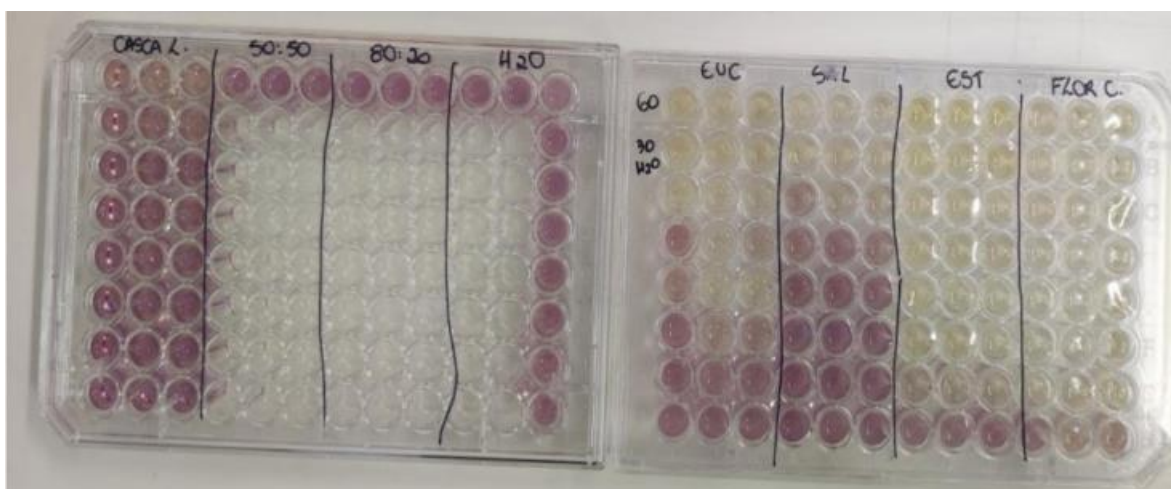


**Figura 17** - Filtração das amostras após a extração e evaporação do etanol.

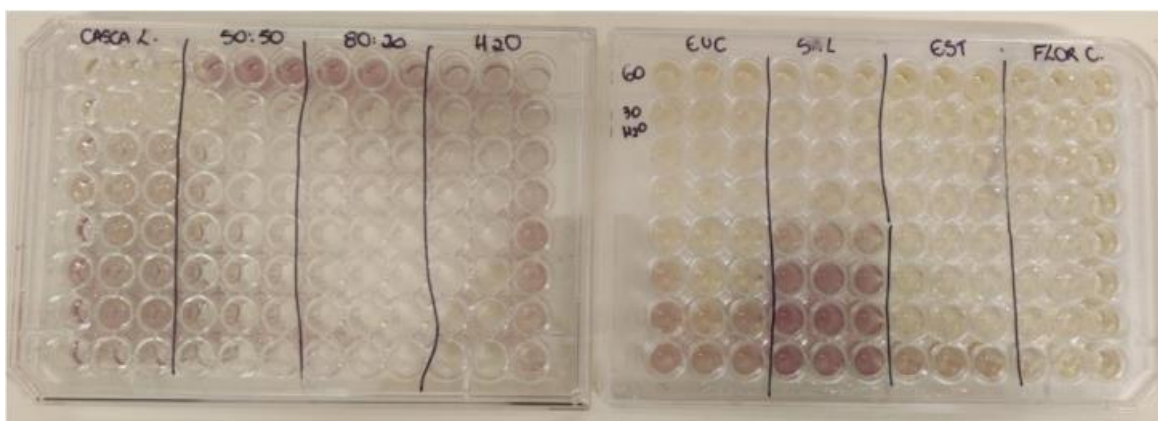
#### 4.4. Atividades antioxidantes e fenóis totais

Após a realização de todos os extratos, foram realizadas as análises antioxidantes, primeiramente, a análise de DPPH (Efeito captador de radicais livres).

Nesta análise, 30  $\mu$ L de cada solução de extrato foram adicionados a uma placa de 96 poços, juntamente com 270  $\mu$ L de uma solução metanólica de DPPH  $6 \times 10^{-5}$ . Posteriormente, foi preparado o branco substituindo a solução de extrato pelo solvente de extração (Figura 18). Após uma hora, a absorbância foi medida a 515 nm (Figura 19), e os resultados foram registrados na Tabela 6.



**Figura 18** - Imagem das amostras antes da leitura



**Figura 19** - Imagem das amostras após a leitura

**Tabela 6** - Atividade antioxidante das amostras através do método de DPPH

<b>Amostra</b>	<b>EC<sub>50</sub> (mg/mL)</b>
<i>C. sinensis</i>	2,548 ± 0,088
<i>C. ladanifer</i>	0,033 ± 0,001
<i>E. globulus</i>	0,065 ± 0,002
<i>C. sativa</i>	2,235 ± 0,087

EC<sub>50</sub>: Concentração Efetiva 50%, indicando a concentração que desencadeia 50% do efeito máximo em um sistema biológico. Essa medida de potência em farmacologia e toxicologia revela: quanto menor o EC<sub>50</sub>, mais poderosa a substância em ativar efeitos fisiológicos.

Para obter o perfil de fenóis totais das amostras, realizou-se a análise de fenóis totais. Esse procedimento envolveu a adição de 500 µL de uma das soluções de extrato (5 mg/mL) a 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v em água) e 2 mL de carbonato de sódio (75 g/L). Foi preparado um branco utilizando o solvente de extração em vez da solução de extrato. Após agitação no vórtex, as amostras foram mantidas em banho a 40°C por 30 minutos, e a absorbância foi medida a 765 nm. Os resultados obtidos estão representados na Tabela 7.

**Tabela 7** - Fenóis Totais

<b>Amostra</b>	<b>Fenóis totais (mg/g)</b>
<i>C. sinensis</i>	24,94 ± 0,41
<i>C. ladanifer</i>	244,28 ± 3,61
<i>E. globulus</i>	76,32 ± 1,58
<i>C. sativa</i>	146,21 ± 2,43

#### **4.5. Marcação das plantas a serem observadas**

##### **4.5.1. Marcação das plantas da estufa**

Um pânpano de cada planta foi selecionado e identificado com uma fita vermelha (Figura 20), sendo este escolhido como ponto de observação para incidências de doenças. Como no experimento nas estufas nem todas as plantas apresentavam cachos, o critério inicial para a seleção do pânpano a ser marcado consistiu na preferência por varas que apresentassem cachos. No caso de ausência de cacho na planta, a escolha recaia sobre a vara mais vigoroso para receber a marcação.



**Figura 20** - Marcação das plantas da estufa

#### **4.5.2. Marcação das plantas em campo**

No experimento a campo, optou-se por marcar exclusivamente as plantas localizadas na linha central de cada tratamento. Das 50 plantas presentes em cada linha, foi realizada uma seleção aleatória de 30, as quais foram identificadas com uma fita vermelha (Figura 21). Em cada uma dessas plantas, dois pâmpanos foram escolhidos e marcados para as observações subsequentes da infecção das doenças. A seleção das varas foi inicialmente baseada na presença mínima de um ou dois cachos.

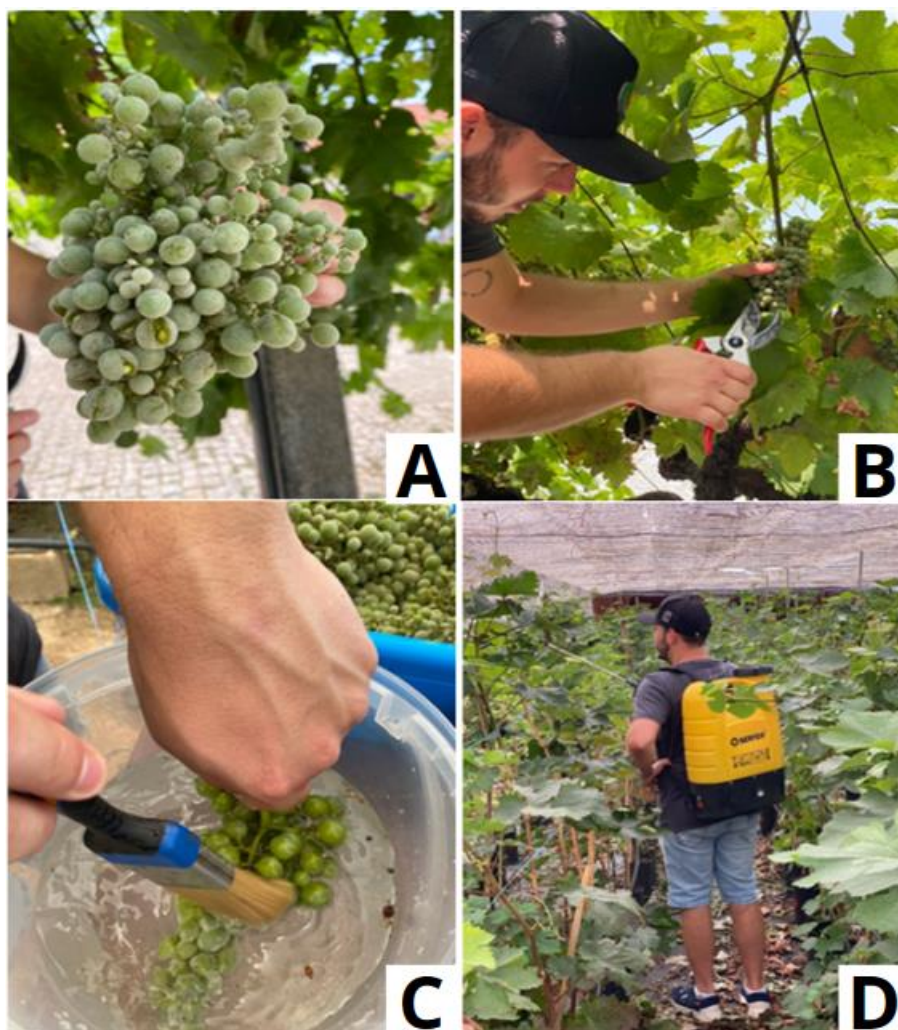


**Figura 21** - Marcação de plantas a campo

#### **4.6. Inoculação do oídio no experimento nas estufas**

Devido à ausência de ocorrência de doenças no experimento realizado nas estufas, optou-se por realizar a inoculação de oídio nas videiras. O inóculo de oídio foi coletado de videiras previamente infectadas pela doença, localizadas na Escola Superior de Agraria (ESA), mais especificamente nas coordenadas geográficas 41°47'50"N de latitude e 6°45'53"W de longitude.

Os cachos afetados (Figura 22 A) foram cuidadosamente apanhados utilizando uma tesoura de poda (Figura 22 B). Em seguida, foram submetidos a uma lavagem com água limpa com um pincel (Figura 22 C), sendo que essa água, contendo o inóculo, foi utilizada para a aplicação por meio de um pulverizador costal elétrico (Figura 22 D).



**Figura 22** - Inoculação de oídio

## **4.7. Aplicação dos extratos**

### **4.7.1. Aplicação dos extratos em experimento nas estufas**

No experimento em estufas, a aplicação dos tratamentos teve início em 27 de abril (Tabela 8), com um total de três aplicações ao longo do ciclo vegetativo das videiras. O intervalo entre as duas primeiras aplicações foi de aproximadamente 30 dias, enquanto o intervalo para a terceira aplicação foi estendido para quase 60 dias. Isso se deveu a espera do surgimento de incidências de doenças para decidir se seria necessário realizar a inoculação, a fim de testar o potencial de cada tratamento.

**Tabela 8** - Datas e substâncias ativas aplicadas nos tratamentos da estufa

<b>Data</b>	<b>Inimigo</b>	<b>Estado Fenológico</b>	<b>Controlo</b>	<b>Modalidades Dos Extratos</b>	<b>Convencional</b>
27/04/2023	Oídio	Cachos visíveis	Sem tratamento	Aplicação realizada	(triazol) penconazol
30/05/2023	Oídio	Cachos fechados	Sem tratamento	Aplicação realizada	(triazol) penconazol
25/07/2023	Oídio	Pintor	Sem tratamento	Aplicação realizada	(triazol) penconazol

A solução foi preparada dissolvendo um litro de extrato em três litros e água. A aplicação foi conduzida usando um pulverizador costal elétrico (Figura 23 A). Para evitar contaminação cruzada ou qualquer efeito de deriva de um tratamento para outro, uma barreira de contenção de polietileno (Figura 23 B) foi empregada, impedindo a passagem da solução de um tratamento para outro.



**Figura 23** - Aplicação dos tratamentos em estufa

#### **4.7.2. Aplicação dos extratos no experimento a campo (Vinha Monte Xisto)**

Na Quinta do Monte Xisto, a aplicação dos tratamentos, tanto nas modalidades biológicas (utilizando extratos) quando nas modalidades convencionais, foram iniciadas em 23

de março (Tabela 9), com a aplicação de um fungicida para prevenção do controle da escoriose. Para o míldio, *P. viticola* e o oídio, *U. necator* os tratamentos começaram em 8 de abril. Na modalidade de controle (sem tratamentos), nenhum fungicida foi aplicado.

**Tabela 9** - Datas e substâncias ativas aplicadas nos tratamentos da Quinta do Monte Xisto

Data	Inimigo	Estado Fenológico	Controle	Modalidades	
				Dos Extratos	Convencional
08/04/2023	Míldio + Oídio	Cachos visíveis	Sem tratamento	Aplicação realizada	enxofre molhável + hidróxido de cobre
20/04/2023	Míldio + Oídio	Cachos separados	Sem tratamento	Aplicação realizada	enxofre molhável + hidróxido de cobre
04/05/2023	Míldio + Oídio	Botões florais separados	Sem tratamento	Aplicação realizada	enxofre molhável + hidróxido de cobre
19/05/2023	Míldio + Oídio	Floração	Sem tratamento	Aplicação realizada	enxofre molhável + hidróxido de cobre
09/06/2023	Míldio + Oídio	Bago de chumbo	Sem tratamento	Aplicação realizada	enxofre molhável + calda bordalesa
29/06/2023	Míldio + Oídio	Cacho fechado	Sem tratamento	Aplicação realizada	enxofre molhável + calda bordalesa

Os tratamentos (convencional e biológicos) foram realizados a cada 14-15 dias, totalizando sete tratamentos ao longo de todo ciclo vegetativo em ambas as modalidades. O último tratamento em ambas as modalidades, foi conduzido em 29 de junho já quando a vinha se encontrava no estágio caracterizado como cacho fechado.

A solução foi preparada sendo dissolvida 1 litro de extrato em três litros de água, e foram aplicadas usando um pulverizador costal elétrico (Figura 24), onde foi garantido através do desenho experimental um espaçamento adequado entre as fileiras para evitar qualquer possibilidade de contaminação cruzada entre esses tratamentos específicos.



**Figura 24** - Aplicação dos tratamentos a campo

## **4.8. Coleta dos dados**

### **4.8.1. Coleta de dados no experimento na estufa**

Nas estufas, monitorou-se o impacto dos tratamentos nas videiras e a incidência das doenças ao longo de todo o ciclo vegetativo. As avaliações, incluindo a coleta de informações sobre a incidência e severidade das doenças para os dados estatísticos sobre o potencial de cada tratamento, foram realizadas em duas etapas. A primeira ocorreu aproximadamente duas semanas após a última aplicação, enquanto a segunda foi conduzida cerca de três semanas após a última aplicação.

Ao realizar as avaliações para a análise estatística em cada tratamento, foram observadas um total de 10 videiras por repetição (totalizando 40 videiras para cada tratamento, distribuídas em 4 repetições), conforme indicado no esquema do desenho experimental apresentado na Figura 8.

Para avaliar a presença e intensidade de míldio e oídio nas folhas e varas das videiras, foram tomadas as seguintes observações para cada fungo: em cada videira, foi observado a vara previamente selecionado e marcado, conforme mencionado anteriormente. Nessa vara, foram registrados o número de folhas com manchas de míldio/oídio e o total de manchas presentes nas varas.

A incidência foi então avaliada utilizando a seguinte escala adaptada de Rao (1997), tanto para as folhas quanto para as varas: (0 – ausência de sintomas; 1 – 1 a 4 manchas por videira (por varas); 2 – 5 a 8 manchas por videira (por varas); 3 – 9 a 12 manchas por videira (por varas); 4 - > 12 manchas por videira (por varas).

#### **4.8.2. Coleta de dados no experimento a campo (Vinha Monte Xisto)**

Na Quinta do Monte Xisto, as avaliações foram realizadas ao longo do ciclo vegetativo, aproximadamente duas semanas após cada tratamento realizado. Foram conduzidas três avaliações para analisar a eficácia dos tratamentos em diferentes modalidades, coletando os dados para as análises estatísticas.

Durante as avaliações para análise estatística em cada modalidade, observou-se um total de 10 videiras por repetição (30 videiras no total de cada tratamento, distribuídas em 3 repetições), seguindo o esquema do delineamento da Figura 9. As observações foram sempre realizadas na linha central de cada modalidade, para evitar possíveis erros causados por deriva ou contaminação das outras modalidades nas linhas próximas das diferentes modalidades.

A avaliação da ocorrência e intensidade de míldio e oídio nas folhas e cachos das videiras foi realizado o seguinte procedimento para cada fungo: em cada videira havia dois varas já identificados como já mencionado anteriormente, e em cada um dessas varas foi registrado o número de folhas com manchas de míldio/oídio e o total de manchas presentes. A incidência foi avaliada também usando a seguinte escala de severidade adaptada de Rao (1991): (0 – ausência de sintomas; 1 – 1 a 4 manchas por videira (2 varas); 2 – 5 a 8 manchas por videira (2 varas); 3 – 9 a 12 manchas por videira (2 varas); 4 - > 12 manchas por videira (2 varas).

E em cada videira, foram contados todos os cachos presentes nas varas que estavam já identificados, seguindo a seguinte escala de severidade adaptada de Cabral et al. (2014), em % de ocorrência da incidência e severidade das diferentes doenças: (0 – ausência de sintomas/sinal; 1 – 1 a 12,5% do cacho com ataque (por cacho); 2 – 12,6 a 25% (por cacho); 3 – 26 a 50% do cacho com ataque (por cacho); 4 – 51 a 75% do cacho com ataque (por cacho); 5 – 76 a 100% do cacho com ataque (por cacho).

#### **4.9. Análises estatísticas**

Os resultados obtidos foram organizados em planilhas do Excel e submetidos a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para comparação múltipla de medias. As análises foram conduzidas utilizando o software RBio: Biometria no R, versão 188.

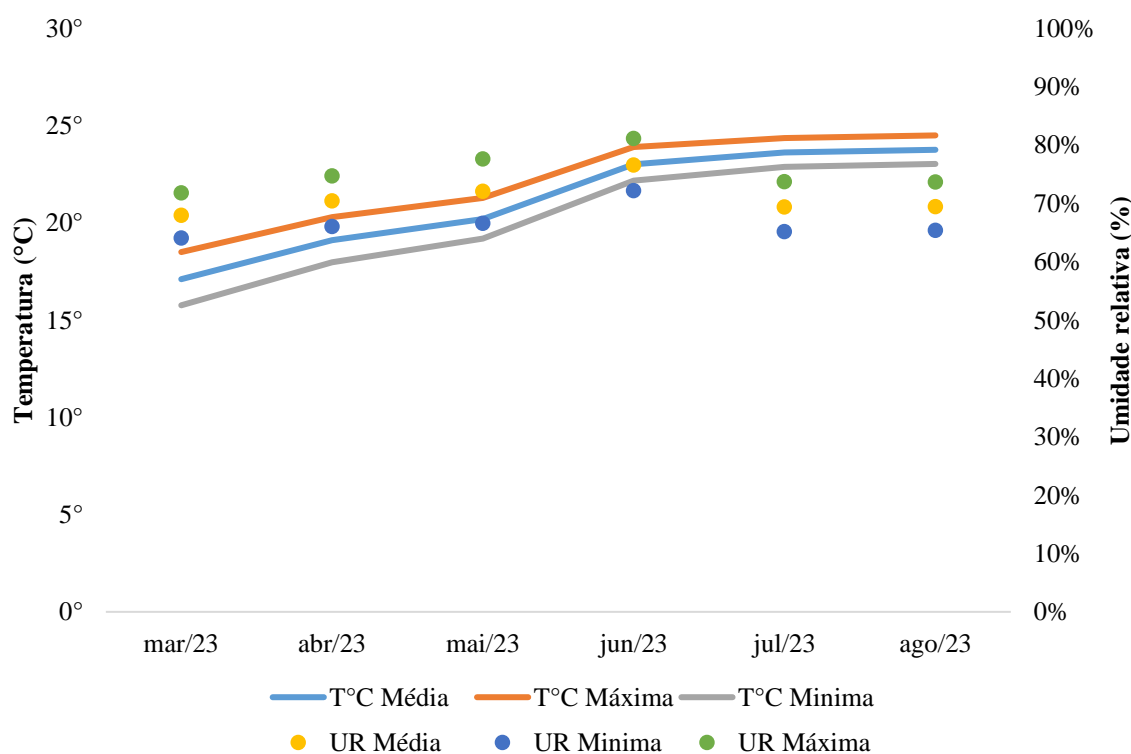
# **5. Resultados e Discussões**

---

## 5.1. Estufas

### 5.1.1. Dados meteorológicos

As temperaturas médias mensais nesse intervalo mantiveram-se entre 20.2 e 24.5°C, enquanto as medias mensais da umidade relativa variaram de 68 e 77% (Figura 25).



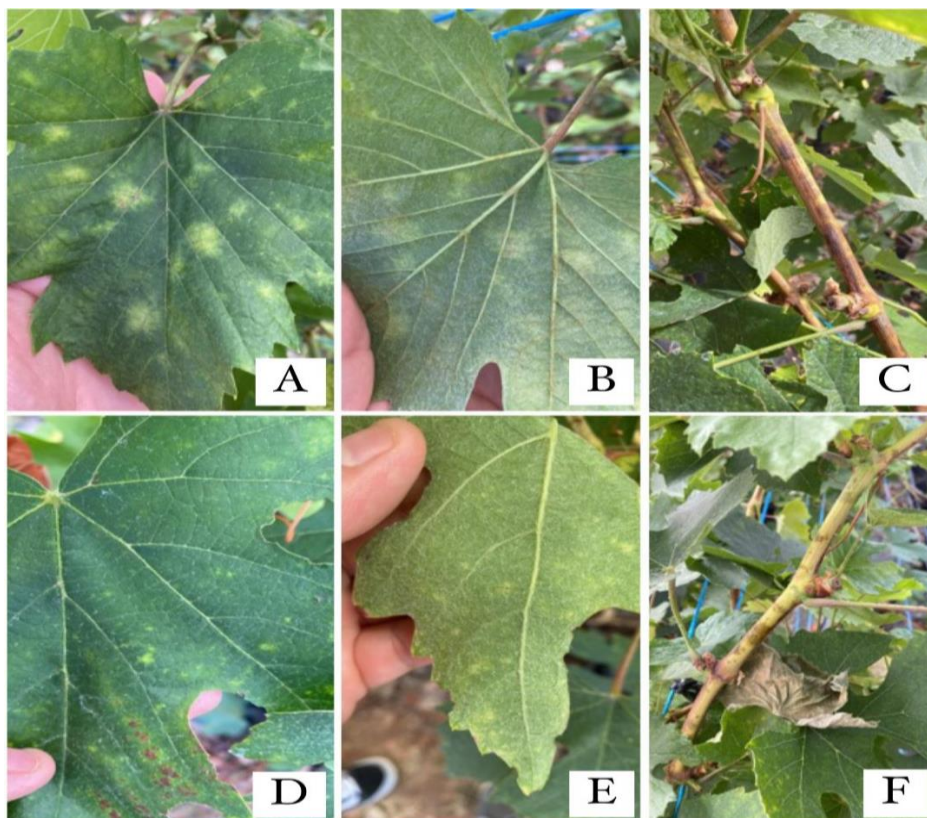
**Figura 25** - Temperaturas e umidade relativa médias mensais no período de março a agosto de 2023 nas estufas onde foi instalado o experimento.

Conforme Sônego *et al.* (2003), essas condições foram respectivamente favoráveis para a ocorrência da infecção de oídio, *U. necator*, cujas condições ideais ocorrem em temperaturas entre 20 e 25°C, com a faixa ideal de umidade relativa para a infecção entre 40 e 60%. No entanto, é importante notar que o crescimento rápido do fungo ocorre em umidade relativa superior a 70% e temperatura de 21°C (Magalhães, 2008)

De acordo com Sônego e Garrido. (2005), as condições ótimas favoráveis para a ocorrência da infecção por *P. viticola*, situam-se entre 18 e 22°C, com umidade relativa ideal acima de 75%. Além disso, são necessárias pelo menos 2 horas de folhagem molhada para que ocorra a infecção. Essas condições podem explicar a ausência de ocorrência de *P. viticola* neste estudo realizado nas estufas. (Magalhães, 2008)

### 5.1.2. Incidência e severidade de oídio nas diferentes castas de videiras

Os primeiros sintomas da doença surgiram no início de agosto, quando as plantas estavam no estágio fenológico denominado como “Pintor”. Esses sintomas manifestaram-se nas folhas e nas varas do tratamento testemunha (controle não tratado), tanto na casta Touriga Nacional quanto na casta Aragonez (Figura 26).



**Figura 26** - Folhas e varas de videiras com sintomas e sinais de oídio, *Uncinula necator* (Schw).

Legenda: A) Parte adaxial da casta Touriga Nacional apresentando “manchas cloróticas”. B) Parte abaxial das folhas de Touriga Nacional apresentando manchas acastanhadas. C) Varas de Touriga Nacional com manchas de coloração escuras. D) Parte adaxial das folhas da casta Aragonez apresentando as “manchas cloróticas”. E) Parte abaxial das folhas de Aragonez apresentando as manchas acastanhada. F) Varas da casta Aragonez com a presença de manchas de oídio.

Na face adaxial das folhas, inicialmente aparecem as manchas verde-amarelas, conhecidas como “manchas cloróticas”, que são causadas pelo crescimento do fungo nas células da folha, onde essas células morrem, deixando o tecido foliar com essa cloração (Figura 27 A e D). Já na face abaxial das folhas, os sintomas são caracterizados com manchas de coloração mais acastanhadas (Figura 27 B e D), que são causadas pelo crescimento do fungo nas nervuras da folha. As varas afetadas inicialmente apresentam manchas irregulares verde-escuro, que com o tempo tornam-se acastanhadas (Figura 27 C e F). Em casos de infestações mais severas, as

varas podem ficar com uma coloração intensa escura que persiste durante o inverno, podendo comprometer a próxima produção dessas plantas (Sônego et al. 2005).

Ao analisar a Tabela 10, que apresenta a porcentagem de plantas com sintomas de oídio nas castas de videiras Touriga Nacional e Aragonez ao longo das avaliações em todos os tratamentos do experimento, é possível observar padrões consistentes. Na Modalidade 1 (testemunha), a Touriga Nacional registrou 55% de plantas com sintomas nas folhas durante a primeira avaliação, elevando-se para 60% na segunda. Em contraste, todos os tratamentos com substâncias testadas exibiram uma menor porcentagem de plantas com folhas infestadas. Embora não tenha ocorrido diferença significativa entre esses tratamentos, todos demonstraram uma diferença estatisticamente significativa em relação à testemunha. Importante notar que esses tratamentos mantiveram valores consideravelmente baixos, variando de 7,5% a 27,5% de plantas infestadas nas duas avaliações.

**Tabela 10** - Porcentagem de plantas que apresentaram sintomas de oídio

Casta	Tratamento	Folhas (% de plantas)		Varas (% de plantas)	
		1º Avaliação 08/08/2023	2º Avaliação 15/08/2023	1º Avaliação 08/08/2023	2º Avaliação 15/08/2023
Touriga Nacional	Modalidade 1	55 a	60 a	50 a	50 a
	Modalidade 2	20 b	27,5 b	5 b	5 b
	Modalidade 3	10 b	7,5 b	5 b	10 b
	Modalidade 4	15 b	17,5 b	7,5 b	7,5 b
	Modalidade 5	12,5 b	10 b	10 b	12,5 b
Aragonez	Modalidade 1	40 a	40 a	30 a	30 a
	Modalidade 2	5 b	10 b	0 b	0 b
	Modalidade 3	10 b	12,5 b	0 b	0 b
	Modalidade 4	0 b	5 b	0 b	5 b
	Modalidade 5	10 b	12,5 b	2,5 b	5 b
<b>DP%</b>		19,1	19,5	19,0	19,2

Médias da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Modalidade 1 (testemunha); Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja 10 mg/mL + esteva 10 mg/mL); Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto 10 mg/mL + convencional 80% - penconazol 140 mL/ha); Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro 10 mg/mL + Convencional 80% - penconazol 140 mL/ha); Modalidade 5 (convencional 80% - penconazol 140 mL/ha).

Os resultados nas varas da Touriga Nacional não apresentaram aumento da primeira para a segunda avaliação na Modalidade 1 (testemunha), mantendo-se em 50% de plantas com

sintomas em folhas. No entanto, os tratamentos com substâncias testadas mostraram menor número de plantas com infecção da doença em varas, embora não tenha havido diferença significativa entre eles; todos diferiram significativamente da testemunha.

Para a casta Aragonez, na Modalidade 1 (testemunha), a porcentagem de plantas infestadas em folhas e varas permaneceu constante em 40% e 30%, respectivamente. Todos os tratamentos com substâncias apresentaram diferença significativa em relação à testemunha, porém não apresentaram diferença entre si. É relevante observar que os tratamentos mantiveram uma incidência baixa, variando de 0% a 12,5% nas folhas e de 0% a 5% nos cachos ao combinar as duas avaliações.

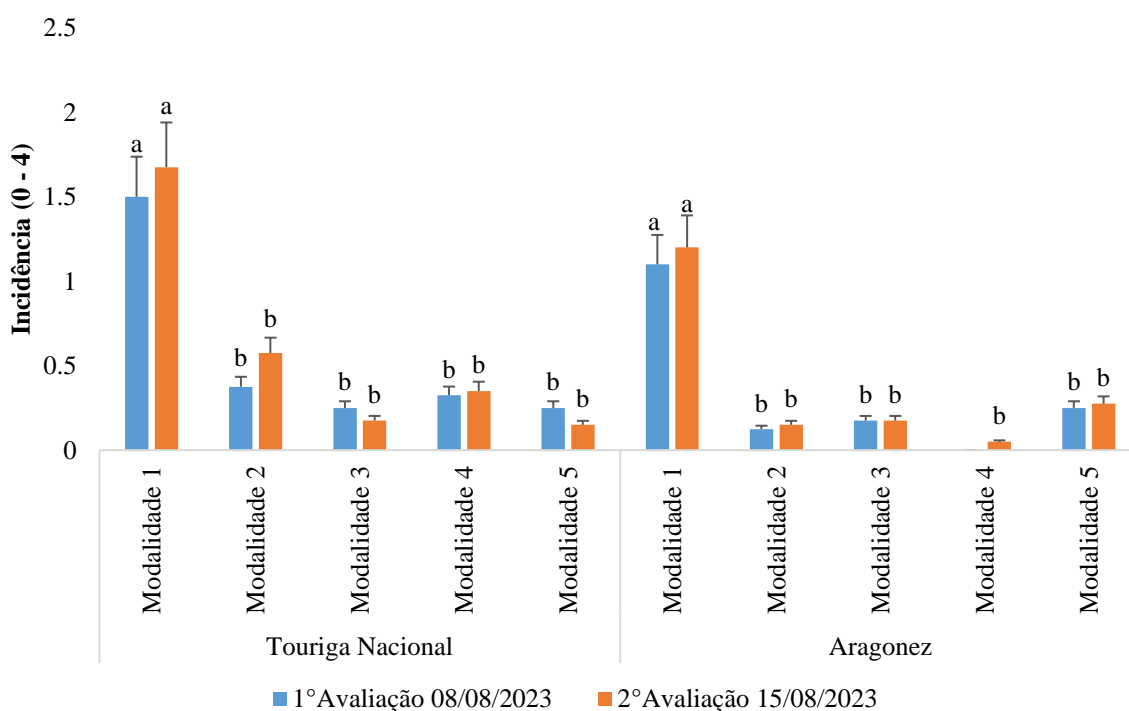
No estudo realizado por Frighetto (2021), verificou-se que extrato aquoso de *R. sachalinensis* e óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* M. ambos na concentração de 2,16 mL/L, apresentaram baixos valores de plantas com sintomas de oídio quando comparados com a testemunha, isso considerando videiras da casta Moscatel Roxo, em ambiente protegido (cobertura plástica). Comparando esses resultados, observa-se uma consistência nos efeitos positivos dos tratamentos com compostos bioativos, resultando na redução da incidência de oídio nas folhas e varas de videiras em diferentes castas.

Na evolução da incidência dos sintomas de oídio nas folhas durante o experimento em estufas, destaca-se uma notável tendência. Em ambas as datas de avaliação, a casta Touriga Nacional evidenciou uma incidência mais pronunciada da severidade do oídio, tanto na condição de testemunha quanto nos demais tratamentos testados, como ilustrado na Figura 27. Na primeira avaliação, a média de incidência foi de 1,5 para a Touriga Nacional, em comparação com 1,1 para a Aragonez, numa escala de 0 a 4. Na segunda avaliação, a média de incidência na Touriga Nacional foi de 1,7, enquanto na Aragonez foi de 1,2.

A análise comparativa entre as Modalidades revelou que todas aquelas que envolviam a aplicação de substâncias, em ambas as castas, apresentaram níveis inferiores de incidência de oídio nas folhas em comparação com a testemunha. Essa diferença foi estatisticamente significativa, conforme evidenciado na Figura 28. Para a casta Touriga Nacional, destacaram-se a Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto + Convencional 80% - penconazol) e a Modalidade 5 (Convencional 100% - penconazol), registrando valores menores de incidência nas duas avaliações. No entanto, é importante observar que, apesar de não apresentarem diferenças estatísticas entre si, todos os tratamentos com substâncias aplicadas foram eficazes na redução da incidência de oídio nas folhas da casta Touriga Nacional.

No caso da casta Aragonez, as substâncias aplicadas também não demonstraram diferença estatística entre si, mantendo valores baixos entre as duas avaliações, variando entre 0,05 e 0,27 de incidência numa escala de 0 a 4. Apesar da ausência de diferença estatística, é relevante observar que, na primeira avaliação, a Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro + Convencional 80% - penconazol) não apresentou sinais da doença, destacando-se entre os demais tratamentos para esta casta. Essa observação realça a eficácia específica dessa modalidade na redução da incidência de oídio nas folhas da casta Aragonez, mesmo sem diferença estatística entre os tratamentos aplicados.

Esses resultados são congruentes com os resultados obtidos por Crisp et al. (2006), que avaliou a potencial de óleos a base de canola (2-4 mL/L) no controle de oídio em videiras cultivadas em estufas, demonstrando eficácias significativas no controle da doença.



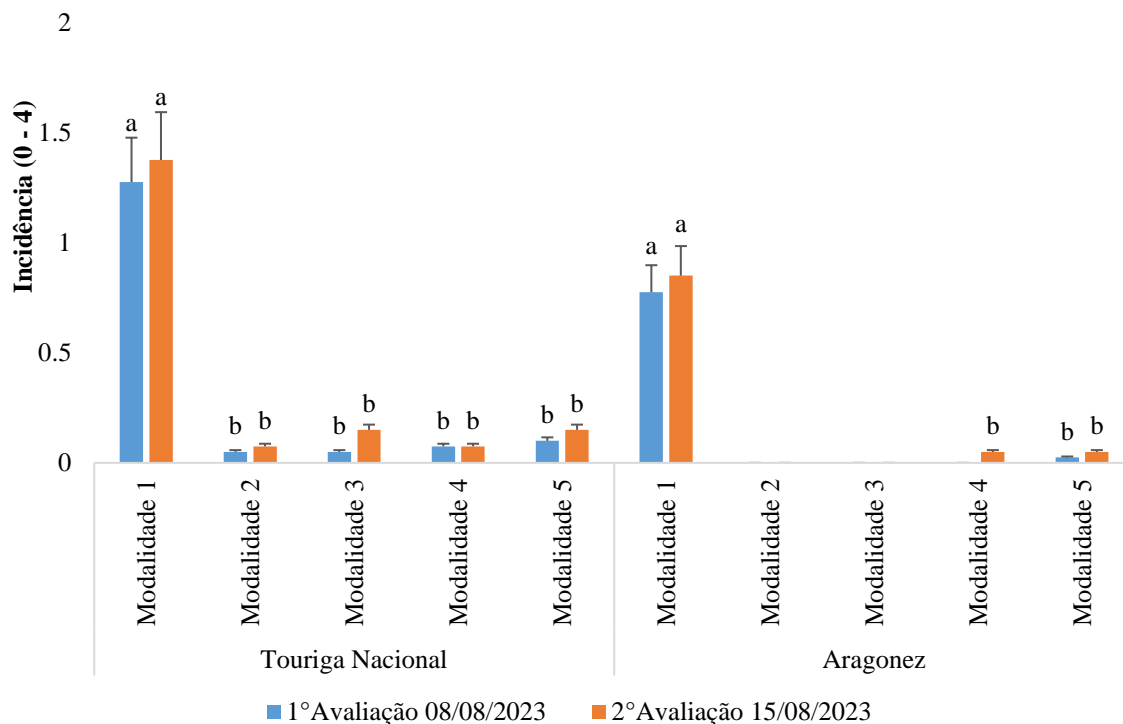
**Figura 27** - Incidência de oídio em folhas

Legenda: Modalidades dentro da mesma casta de videira, seguidas da mesma letra durante a mesma avaliação não diferenciam entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Modalidade 1 (testemunha); Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja 10 mg/mL + esteva 10 mg/mL); Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto 10 mg/mL + convencional 80% - penconazol 140 mL/ha); Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro 10 mg/mL + Convencional 80% - penconazol 140 mL/ha); Modalidade 5 (convencional 80% - penconazol 140 mL/ha).

A incidência de oídio nas varas apresentou aumento da primeira para a segunda avaliação na Modalidade 1 (testemunha), em ambas as castas (Figura 28). Na Touriga Nacional,

a incidência passou de 1,2 para 1,3, e na Aragonez de 0,77 para 0,85. Em ambas as castas, houve diferença estatística entre a testemunha e os demais tratamentos, mas não se observou diferença estatística entre os tratamentos com substâncias.

É evidente que a incidência de oídio nas varas foi maior na casta Touriga Nacional em ambas as avaliações e tratamentos (Figura 28). No entanto, observa-se que, em ambas as castas, os tratamentos com substâncias apresentam resultados muito baixos de incidência, todos próximos de 0. Além disso, a Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja + esteva) e Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto + convencional 80% - penconazol) não apresentaram sinais de incidência de oídio em nenhuma das avaliações da casta Aragonez.



**Figura 28** - Incidência de oídio em varas

Legenda: Modalidades dentro da mesma casta de videira, seguidas da mesma letra durante a mesma avaliação não diferenciam entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Modalidade 1 (testemunha); Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja 10 mg/mL + esteva 10 mg/mL); Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto 10 mg/mL + convencional 80% - penconazol 140 mL/ha); Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro 10 mg/mL + Convencional 80% - penconazol 140 mL/ha); Modalidade 5 (convencional 80% - penconazol 140 mL/ha).

A Tabela 9 destaca a interação entre as castas Touriga Nacional e Aragonez nos resultados da avaliação da incidência de oídio em ambas as datas de avaliação. Na primeira avaliação, a Touriga Nacional demonstrou uma incidência significativamente maior de oídio

em comparação com a Aragonez, tanto nas folhas quanto nas varas. Na avaliação subsequente, a Touriga Nacional manteve uma incidência significativamente superior a Aragonez, tanto em folhas quanto em varas.

**Tabela 11** - Interação da incidência de oídio entre as castas

Castas	1ª avaliação 08/08/2023 (severidade escala 0-4)		2ª avaliação 15/08/2023 (severidade escala 0-4)	
	Folhas	Varas	Folhas	Varas
<b>Touriga Nacional</b>	0,54 a	0,31 a	0,595 a	0,365 a
<b>Aragonez</b>	0,33 b	0,16 b	0,37 b	0,19 b
<b>DP%</b>	0,99	0,72	1,02	0,80

Médias da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados da Tabela 9 indicam que a Touriga Nacional aparenta ser uma casta mais suscetível ao oídio em comparação com a Aragonez. Essa observação está alinhada com os resultados apresentados por Santos (2018), que investigou a suscetibilidade de diversas castas portuguesas. A autora avaliou a incidência e a severidade da doença em folhas e varas em condições controladas, concluindo que a Touriga Nacional apresentou uma incidência significativamente maior de oídio em relação a Aragonez, tanto em folhas quanto nas varas.

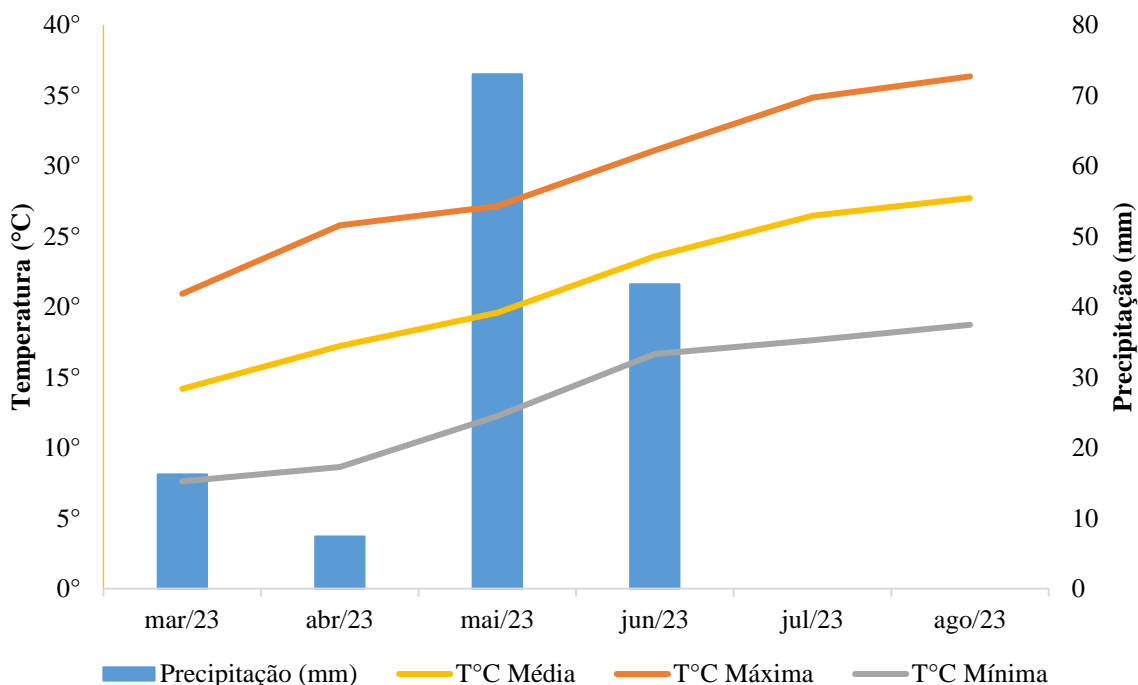
## 5.2. Quinta do Monte Xisto

### 5.2.1. Dados meteorológicos

Durante o período de março a agosto de 2023, quando as plantas estão em seu estágio vegetativo no hemisfério norte, as temperaturas mensais oscilaram entre 14,2 e 27,7°C (Figura 29), mantendo-se dentro da média normal conforme observado pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA, 2023).

Durante os meses de maio a julho, coincidindo com as avaliações realizadas, a temperatura média situou-se entre 19,6 e 26,5°C. Essas condições são propícias para a ocorrência de infecções por oídio, *U. necator* e míldio, *P. viticola*, uma vez que suas necessidades climáticas se enquadram nesse intervalo. No entanto, a precipitação nos meses de maio e junho favoreceu o desenvolvimento do míldio, uma doença mais dependendo de períodos chuvosos para sua propagação. Para o oídio, as condições foram um pouco mais

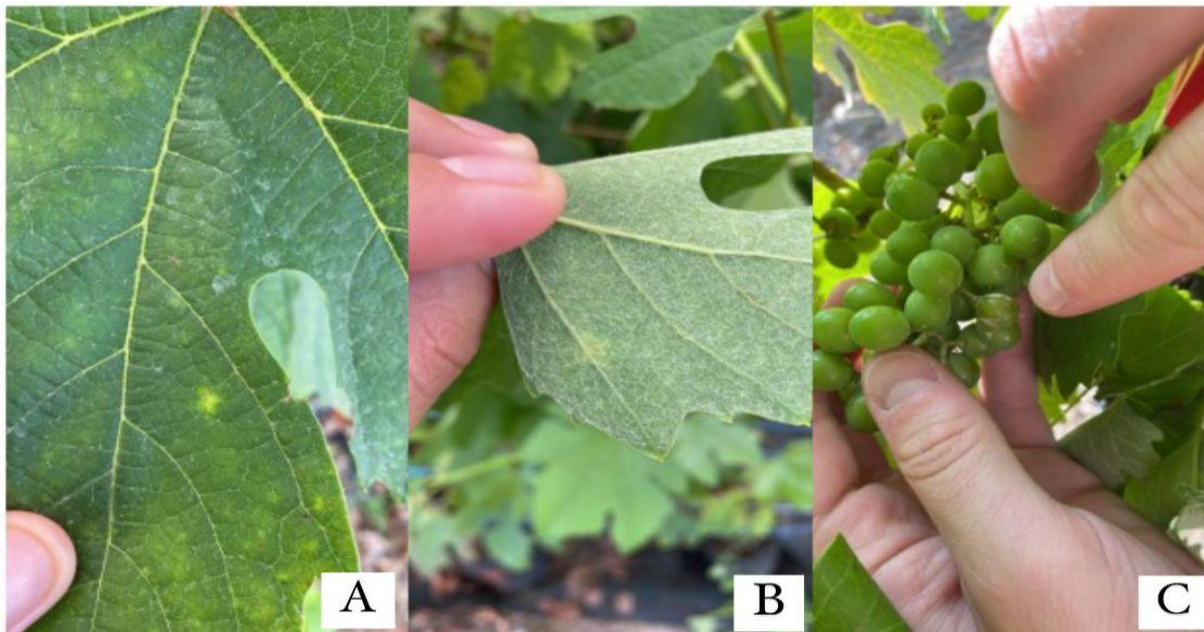
propícias para manter uma umidade relativa elevada, mas as medias de precipitação não foram tão elevadas a ponto de sustentar níveis ideias de umidade relativa (Sônego et al. 2005).



**Figura 29** – Temperaturas e umidade relativa médias mensais no período de março a agosto de 2023 na região de Vila Nova de Foz Côa

### 5.2.2. Incidência e severidade de oídio em folhas e cachos

Os primeiros sintomas da doença começaram a aparecer no final de maio, já na primeira avaliação quando as plantas estavam no estágio fenológico denominado como “bago de ervilha”. Esses sintomas manifestaram-se tanto nas folhas quanto nos cachos (Figura 30).



**Figura 30** - Folhas e cachos de videira com sintomas de oídio

Legenda: A) Parte adaxial da folha apresentando “manchas cloróticas”. B) Parte abaxial da folha apresentando manchas acastanhadas. C) Cachos apresentando sintomas iniciais.

Na parte superior das folhas, percebe-se inicialmente o surgimento de manchas verde-amareladas, conhecidas como "manchas cloróticas". Essas manchas resultam do desenvolvimento do fungo nas células foliares, levando à morte dessas células e conferindo ao tecido foliar essa coloração característica (Figura 30 A). Na face inferior das folhas, os sintomas se manifestam por meio de manchas de tonalidade mais amarronzada, provenientes do crescimento do fungo nas nervuras foliares (Figura 30 B). Nos cachos, os sintomas iniciais da doença se manifestam com uma leve cobertura branca-acinzentada, semelhante a uma camada de farinha (Figura 30 C) (Sônego et al., 2005).

A Tabela 12 mostra a percentagem de plantas que manifestaram sintomas de oídio e míldio ao longo das três avaliações distintas, realizadas nos dias 26 de maio, 19 de junho e 27 de julho de 2023. As avaliações abrangem os cinco tratamentos distintos. Os dados mostram que o oídio foi a doença mais prevalente, com uma porcentagem média chegando a 10% de plantas afetadas nas folhas e nos cachos. Em contraste o míldio foi menos prevalente, chegando a apresentar 10% de plantas com sintomas apenas na segunda avaliação.

Ao comparar as três avaliações, a Modalidade 1, que não recebeu nenhum tratamento, mostrou-se mais suscetível ao oídio, exibindo plantas com sintomas em todas as avaliações. As doenças foram mais acentuadas nas folhas do que nos cachos, embora os valores tenham sido

baixos e não tenha ocorrido diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos nessa variável.

**Tabela 12** - Porcentagem de plantas que apresentaram sintomas de oídio e mildio

Doença	Folhas (% de plantas)			Cachos (% de plantas)			
	1° Avaliação 26/05/2023	2° Avaliação 19/06/2023	3° Avaliação 27/07/2023	1° Avaliação 26/05/2023	2° Avaliação 19/06/2023	3° Avaliação 27/07/2023	
Oídio	Modalidade 1	6,66	10	10	3,33	6,66	10
	Modalidade 2	6,66	13,3	0	0	3,33	16,6
	Modalidade 3	6,66	0	0	0	0	0
	Modalidade 4	0	0	0	0	3,33	3,33
	Modalidade 5	0	0	0	0	0	0
Mildio	Modalidade 1	0	10	0	0	6,66	0
	Modalidade 2	0	10	0	0	3,33	0
	Modalidade 3	0	0	0	0	0	0
	Modalidade 4	0	0	0	0	0	0
	Modalidade 5	0	0	0	0	0	0
<b>DP%</b>		5,51	1,83	7,28	4,30	4,03	5,96

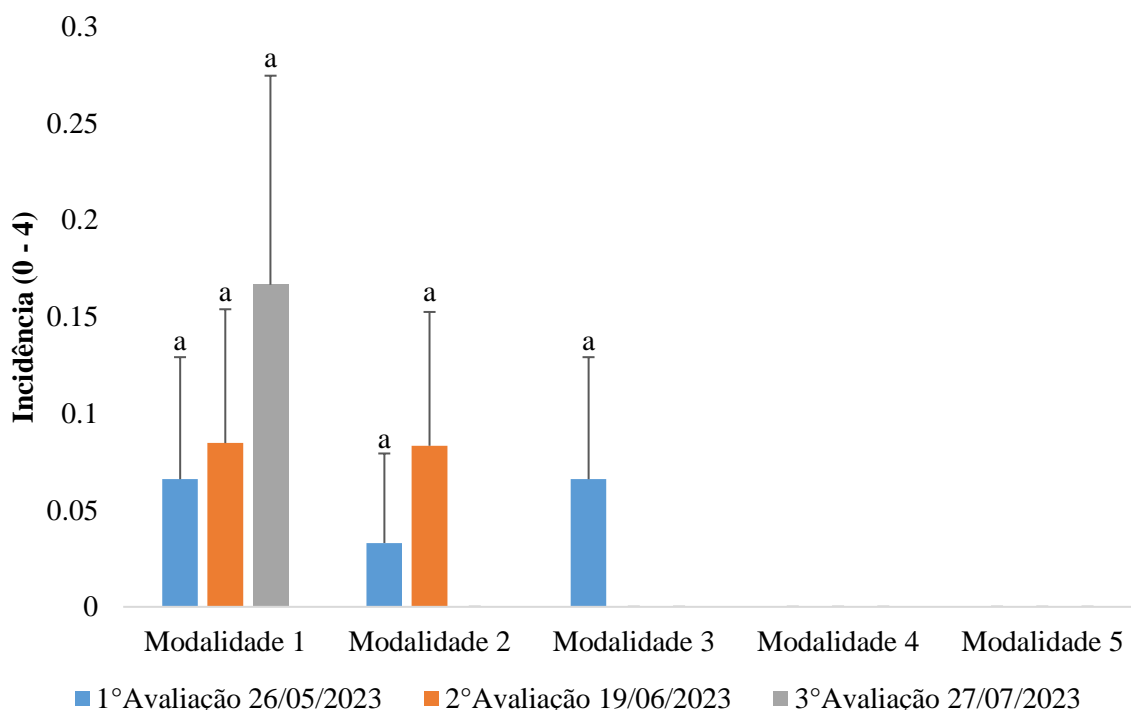
Médias da mesma coluna seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos e suas concentrações foram: Modalidade 1 (testemunha); Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja 10 mg/mL + esteva 10 mg/mL); Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto 10 mg/mL + convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha); Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro 10 mg/mL + Convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha); Modalidade 5 (convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha).

Os gráficos a seguir apresentam a incidência das doenças nas cinco diferentes modalidades ao longo das três avaliações, classificadas em uma escala de 0 a 4 para a severidade da infecção. Na Figura 31, apresentando a incidência dos sintomas de oídio nas folhas, observa-se que a Modalidade 1 (testemunha) apresentou sintomas em todas as avaliações, com uma elevação gradual de 0,066 da primeira avaliação para 0,166 na terceira.

A Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja + esteva) manifestou sintomas na primeira e segunda avaliações, com aumento na incidência de 0,033 para 0,083. Enquanto isso, a Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto + Convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre) registrou incidência apenas na primeira avaliação, atingindo 0,066. Notavelmente, as Modalidades 4 (extrato de flor de castanheiro + Convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre) e 5 (Convencional

100% - enxofre molhável + hidróxido de cobre) não apresentaram nenhum sintoma da doença em folhas em ambas as avaliações.

Apesar da testemunha apresentar os maiores níveis de incidência ao total de todas as avaliações em comparação com os demais tratamentos, não se observou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre todas as modalidades.



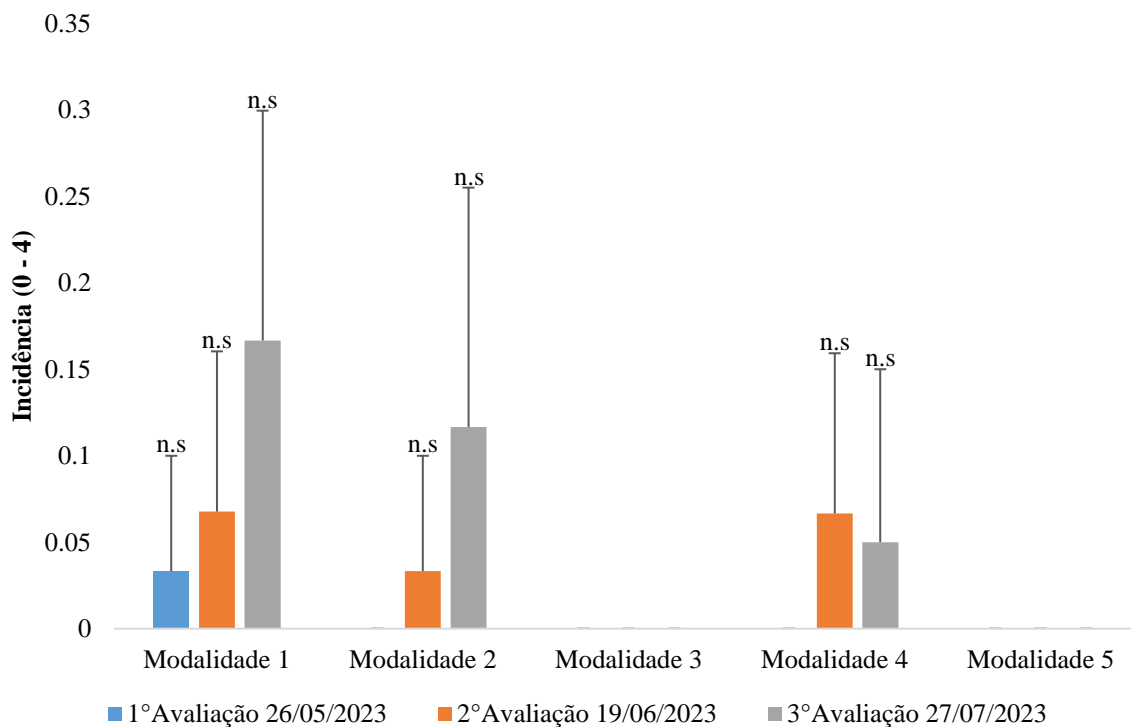
**Figura 31** - Incidência de oídio em folhas

Legenda: Modalidade dentro da mesma avaliação seguidas da mesma letra, não se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos e suas concentrações foram: Modalidade 1 (testemunha); Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja 10 mg/mL + esteva 10 mg/mL); Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto 10 mg/mL + convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha); Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro 10 mg/mL + Convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha); Modalidade 5 (convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha).

A Figura 32 mostra a incidência de oídio em cachos, mostrando que a Modalidade 1 representando a testemunha, apresentou a maior incidência em todas as avaliações. Na primeira avaliação, a incidência foi de 0,033, aumentando para 0,067 na segunda e atingindo 0,166 na terceira.

As Modalidades 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja + esteva) e 4 (extrato de flor de castanheiro + Convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre), exibiram sintomas apenas na segunda e terceira avaliação, com uma incidência ligeiramente inferior a Modalidade 1. Enquanto isso, as Modalidades 3 (extrato de flor de castanheiro + folha

de eucalipto + Convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre) e 5 (Convencional 100% - enxofre molhável + hidróxido de cobre) não apresentaram nenhuns sintomas da doença. Diante desses valores baixos de incidência apresentados na Figura 32, os tratamentos não demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre si.



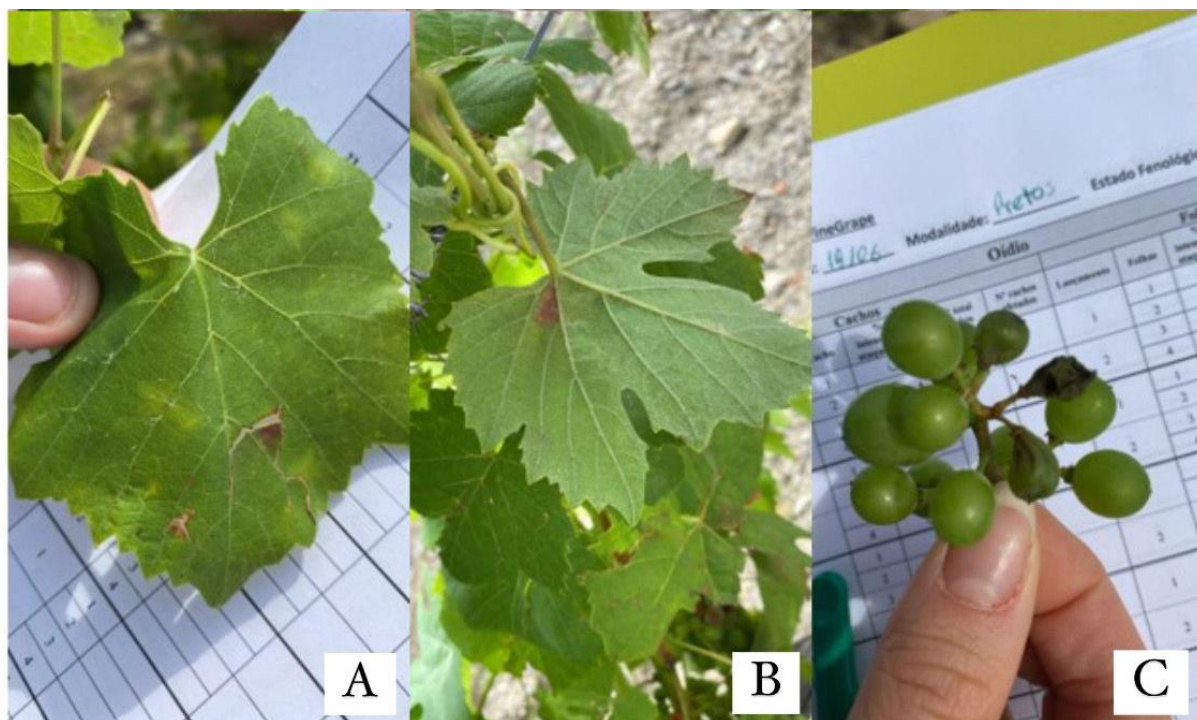
**Figura 32** - Incidência de oídio em cachos

Legenda: n.s Não significativo. Modalidades dentro da mesma avaliação não se diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos e suas concentrações foram: Modalidade 1 (testemunha); Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja 10 mg/mL + esteva 10 mg/mL); Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto 10 mg/mL + convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha); Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro 10 mg/mL + Convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha); Modalidade 5 (convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha).

Essa singularidade nos resultados deste presente trabalho, pode ser discutida analisando estudos anteriores que avaliaram a eficácia de outros diferentes compostos ativos no controle de oídio em videiras. Por exemplo, Abdu-Allah e Abo-Elyousr (2017), concluiu que os extratos de *Azadirachta indica* A. (500 µl/100 mL), *R. sachalinensis* (1000 µl/100 mL) e óleo extraído das sementes de *Simmondsia chinensis* L. (350 µl/100 mL), demonstraram um potencial significativo no controle da doença do oídio em videiras da casta King Roby nas condições de campo no Alto Egito.

### 5.2.3. Incidência de míldio em folhas a cachos

Os primeiros sintomas da doença começaram aparecer no final de junho, quando as plantas estavam no estágio fenológico, denominado como “cacho fechado”, apenas na segunda avaliação. Esses sintomas manifestaram-se tanto nas folhas quanto nos cachos (Figura 33).



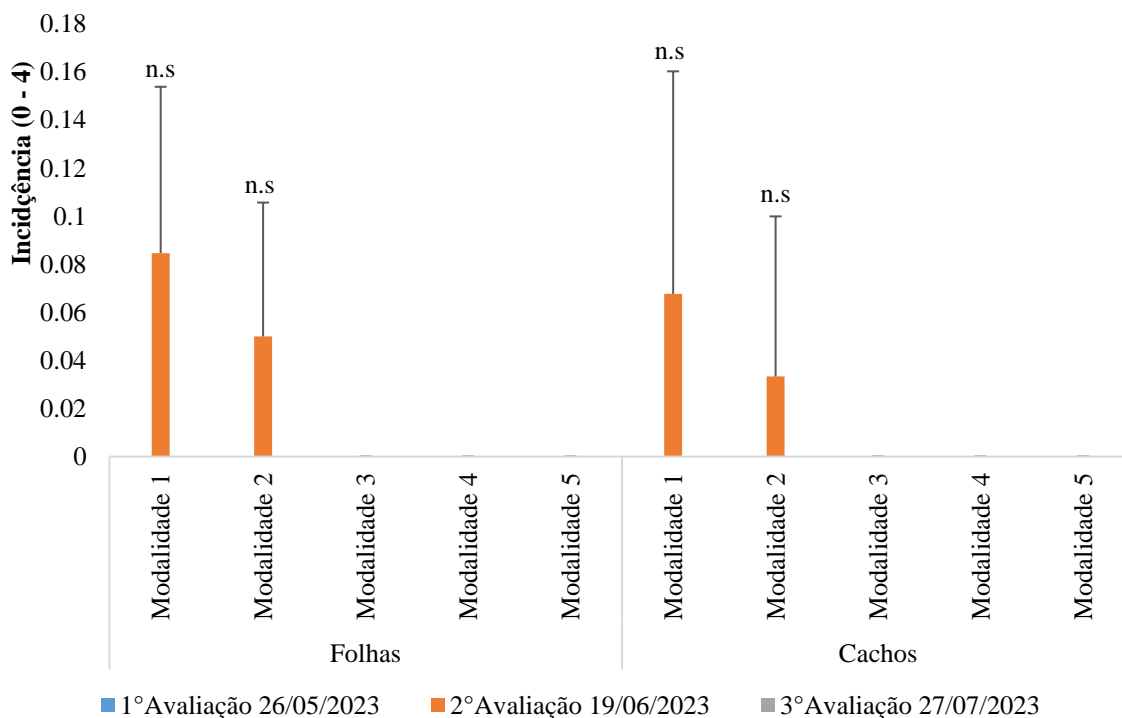
**Figura 33** - Folhas e cachos de videira com sintomas de míldio

Legenda: A) Parte adaxial da folha apresentando “manchas de óleo”. B) Parte abaxial da folha apresentando esporângios de cor branca e manchas necrosada de tonalidade marrom. C) Cachos apresentando sintomas com os bagos já escuros.

No lado superior das folhas, os sintomas iniciaram com manchas amareladas conhecidas como "mancha de óleo", causadas pelo excesso de umidade no mesófilo (Figura 33 A). No lado inferior, houve um leve surgimento de esporulação branca, acompanhada por pequenas manchas que evoluíram para formar uma área necrosada de tonalidade marrom (Figura 33 B). Nos cachos, foram observados sintomas caracterizados por bagos escuros e endurecidos, destacando-se facilmente do engaço (Figura 33 C) (Sônego et al. 2005).

A incidência de míldio em folhas e cachos apresentou uma ligeira elevação na Modalidade 1 (testemunha) em comparação com a Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja + esteva), sendo essas as únicas modalidades que demonstraram níveis de incidência da doença (Figura 34). Na modalidade 1, a incidência foi de 0,084 nas folhas e 0,067

nos cachos, dentro da escala de 0 a 4. Já na Modalidade 2, os valores foram de 0,05 nas folhas e 0,033 nos cachos. Diante desses baixos valores, os tratamentos não apresentaram diferença estatística entre si.



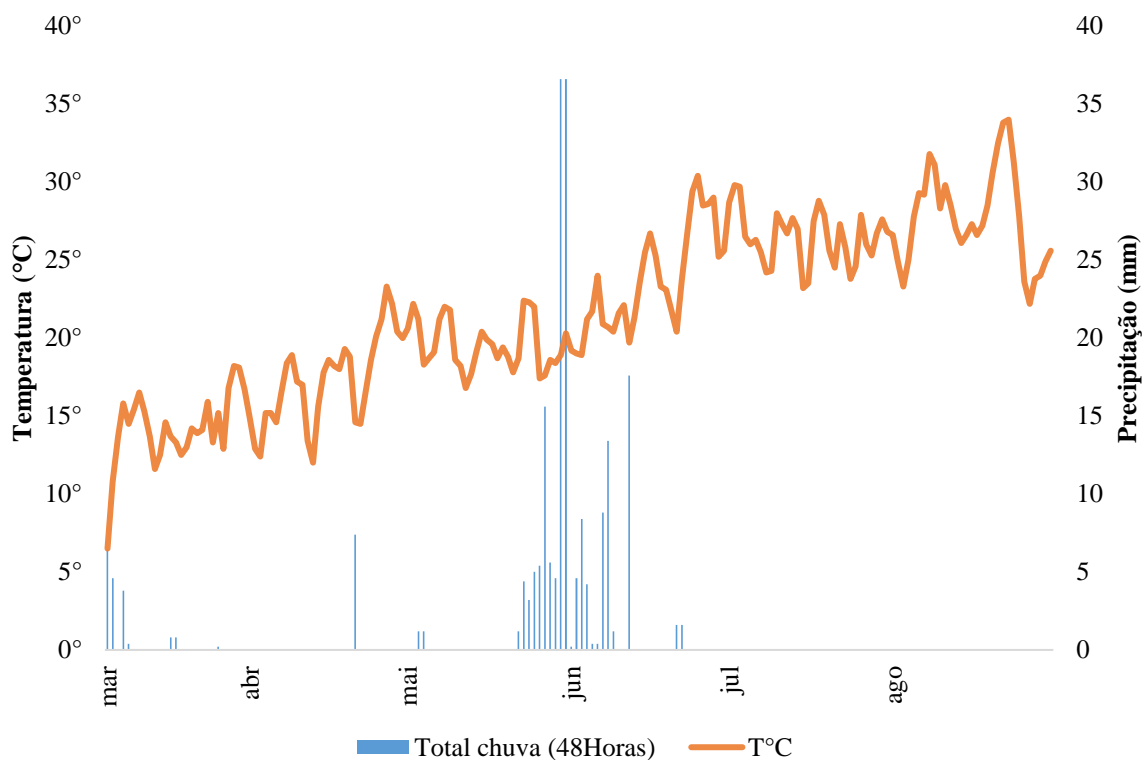
**Figura 34** - Incidência de míldio em folhas e cachos

Legenda: n.s Não significativo. Modalidades dentro da mesma avaliação não se diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos e suas concentrações foram: Modalidade 1 (testemunha); Modalidade 2 (extrato de flor de castanheiro + casca de laranja 10 mg/mL + esteva 10 mg/mL); Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto 10 mg/mL + convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha); Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro 10 mg/mL + Convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha); Modalidade 5 (convencional 80% - enxofre molhável + hidróxido de cobre 140 mL/ha).

Conforme apontado por Rossi e Caffi (2012), a precipitação desempenha um papel fundamental na infecção inicial do míldio. A ocorrência da infecção está vinculada a regra bem conhecida dos “três 10”, que envolve a conjunção de condições específicas: temperaturas do ar  $\geq 10^{\circ}\text{C}$ , presença de brotações com pelo menos 10 cm de comprimento (acompanhadas de folhas cobrindo uma área de 6 a 8  $\text{cm}^2$ ) e um mínimo de 10 mm de precipitação em 24 a 48 horas.

Nesse contexto, mesmo com brotações atingindo pelo menos 10 cm de comprimento, a infecção por míldio ainda depende da combinação adequada de temperatura e precipitação. A Figura 35 ilustra essas combinações específicas, temperatura  $\geq 10^{\circ}\text{C}$  e um mínimo de 10 mm

de precipitação, ocorreram notadamente no mês de junho, em apenas alguns dias. Essa observação pode explicar por que a incidência de míldio foi registrada apenas durante a segunda avaliação, realizada em 19 de junho.



**Figura 35** – Temperaturas e precipitação diárias da região de Vila Nova de Foz Côa, onde foi instalado o experimento.

Outros estudos em videira demonstraram que o extrato pirolenhoso de eucalipto e acácia, *R. sachalinensis*, e *M. alternifolia* em condições de campo apresentou resultados satisfatórios demonstrando ser eficaz no controle de míldio (Santos, 2018) (Dagostin et al. 2011).

# 6. Conclusão

---

Verificam-se que todos os tratamentos com substâncias testadas demonstraram eficiência na redução da incidência de oídio nas castas Touriga Nacional e Aragonez, apresentando valores notavelmente inferiores em comparação com a testemunha.

Destaca-se a eficácia da Modalidade 3 (extrato de flor de castanheiro + folha de eucalipto + convencional 80%) e da Modalidade 5 (convencional 100%) na casta Touriga Nacional, bem como a eficácia específica da Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro + convencional 80%) na casta Aragonez, ressaltando a necessidade de considerar a variabilidade entre elas. Apesar de algumas diferenças estatísticas entre as modalidades, todos os tratamentos com substâncias aplicadas foram eficazes na redução da incidência de oídio.

Além disso, a comparação entre as castas revelou que a Touriga Nacional é mais suscetível ao oídio em comparação com a Aragonez, corroborando estudos anteriores. A interação entre as castas e tratamentos evidenciou diferenças significativas na incidência da doença.

Quanto ao míldio, a prevalência foi menor em comparação ao oídio, e análise climática destacou a importância das condições específicas para a infecção. Os resultados indicam que a Modalidade 1 (testemunha) foi mais suscetível ao míldio, enquanto as Modalidade 4 (extrato de flor de castanheiro + convencional 80%) e Modalidade 5 (convencional 100%) apresentaram ausência de sintomas. Embora tenham ocorrido diferenças na incidência entre as modalidades, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

Entretanto, os resultados desse estudo sugerem que as substâncias testadas apresentam perspectivas promissoras para controle do oídio em ambas as castas de videira, e ressaltam a importância de integrar considerações ambientais e sustentáveis nesse processo. Porém, são necessários mais estudos para avaliar a eficácia desses tratamentos em condições climáticas mais favoráveis ao desenvolvimento dessas doenças. Explorar diferentes combinações e proporções dos extratos, visando encontrar a sinergia mais eficiente para o controle dessas doenças.

Além disso, seria importante testar a hipótese de incorporar fixadores naturais aos extratos, considerando que estes são, atualmente, predominantemente aquosos. A incorporação de fixadores pode potencialmente prolongar a eficácia dos extratos, melhorar a aderência nas folhas e proporcionar maior estabilidade ao tratamento, contribuindo para resultados mais consistentes ao longo do tempo. Essa abordagem pode ser um passo significativo na melhoria da eficácia prática desses tratamentos, enfatizando a importância de adaptação constante para enfrentar desafios climáticos variáveis. Essas iniciativas não só visam proteger as plantas, mas

também se alinham a busca por soluções agrícolas que, ao preservar ecossistemas e recursos naturais, fundamentam práticas sustentáveis e responsáveis no cultivo das videiras.

## REFERÊNCIAS

- Abdu-Allah, G. A., & Abo-Elyousr, K. A. (2017). Effect of certain plant extracts and fungicides against powdery mildew disease of Grapevines in Upper Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(19-20), 957-969.
- ADVID. (2012). *Cadernos técnicos da ADVID Caderno técnico nº5–“Oídio da videira”*. ADVID–Associação para o Desenvolvimento da viticultura Duriense.
- Afonso, J. (Ed.). (2023). *As castas do vinho*. OFICINA DO LIVRO Publicações.
- Agrios, G. N. (2005). How pathogens attack plants. *Plant pathology*, 66-72.
- Alaya, I. B., Pereira, E., Dias, M. I., Pinela, J., Calhelha, R. C., Soković, M., ... & Barros, L. (2021). Development of a natural preservative from chestnut flowers: Ultrasound-assisted extraction optimization and functionality assessment. *Chemosensors*, 9(6), 141.
- Alves, F., & Almeida, F. (2003). Contributo para a discussão de estratégias de combate ao oídio da videira *Uncinula necator* (Schw.) Burr na Região Demarcada do Douro. II Prémio Auxiliares Bayer.
- Anjos, L. M. D. (2015). Diversidade genética de *Plasmopara viticola* e mapeamento de QTLs de resistência ao míldio em videira (*Vitis* spp.).
- Banks, G., & Overton, J. (2010). Old world, new world, third world? Reconceptualising the worlds of wine. *Journal of wine research*, 21(1), 57-75.
- Bettiga, L. J. (Ed.). (2013). *Grape pest management* (Vol. 3343). UCANR Publications.
- Bozdogan, A. M. (2014). Assessment of total risk on non-target organisms in fungicide application for agricultural sustainability. *Sustainability*, 6(2), 1046-1058.
- Brischetto, C., Bove, F., Languasco, L., & Rossi, V. (2020). Can spore sampler data be used to predict *Plasmopara viticola* infection in vineyards?. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1187.
- Burgess, Colquhoun, & Hardy. (2000). Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology*, 49(1), 147-154.
- Cabral, C. D. P., Lopes, D. B., Leao, P. D. S., & Leao, P. C. D. S. (2014). Avaliação da resistência de genótipos de videira ao oídio (*Uncinula necator*) nas condições do Submédio São Francisco.

- Caffi, T., Gilardi, G., Monchiero, M., & Rossi, V. (2013). Production and release of asexual sporangia in *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*, 103(1), 64-73.
- Caleja, C., Ribeiro, A., Filomena Barreiro, M., & CFR Ferreira, I. (2017). Phenolic compounds as nutraceuticals or functional food ingredients. *Current pharmaceutical design*, 23(19), 2787-2806.
- Caliari, V., Rosier, J. P., & Luiz, M. B. (2013). Vinhos espumantes: métodos de elaboração. *Evidência*, 13(1), 65-77.
- Calonnec, A., Cartolaro, P., Poupot, C., Dubourdiou, D., & Darriet, P. (2004). Effects of *Uncinula necator* on the yield and quality of grapes (*Vitis vinifera*) and wine. *Plant pathology*, 53(4), 434-445.
- Campos, M. R. S. (Ed.). (2018). *Bioactive compounds: health benefits and potential applications*. Woodhead Publishing.
- Carneiro, S. D. T. (2003). Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. *Summa Phytopathologica*, 29(3), 262-265.
- Castro, R., Gomes, C., Rodrigues, C., Castro, J., Alberto, S., Ribeiro, F., ... & Cruz, A. (2007). Potencial de maturação da casta Touriga Nacional em diferentes itinerários tecnológicos e regiões (Dão, Bairrada, Vinhos Verdes. Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo, 7º, Évora, 23-25 Maio 2007, 1, 285-297.
- Crisp, P., Wicks, T. J., Lorimer, M., & Scott, E. S. (2006). An evaluation of biological and abiotic controls for grapevine powdery mildew. 1. Greenhouse studies. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(3), 192-202.
- Cunha, J., Ibáñez, J., Teixeira-Santos, M., Brazão, J., Fevereiro, P., Martínez-Zapater, J. M., & Eiras-Dias, J. E. (2016). Characterisation of the Portuguese grapevine germplasm with 48 single-nucleotide polymorphisms. *Australian journal of grape and wine research*, 22(3), 504-516.
- Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
- Dagostin, S., Formolo, T., Giovannini, O., Pertot, I., & Schmitt, A. (2010). *Salvia officinalis* extract can protect grapevine against *Plasmopara viticola*. *Plant disease*, 94(5), 575-580.
- Dagostin, S., Schärer, H. J., Pertot, I., & Tamm, L. (2011). Are there alternatives to copper for

controlling grapevine downy mildew in organic viticulture?. *Crop Protection*, 30(7), 776-788.

Gil, E. R. C. (2021). *Vítivinicultura e Mudanças Climáticas: Um estudo sobre as Regiões do Alentejo e Vinhos Verdes sob a ótica da sustentabilidade*.

de Toda Fernández, F. M. (2018). Anatomy of the vine: origin, morphology, vegetative and reproductive cycles, and varieties. In *La Rioja, its vineyards and wines* (pp. 40-53). Gobierno de La Rioja.

DGAV (2023). *Direção-Geral de Alimentação e Veterinária – Portugal*. Em: <https://www.dgav.pt/medicamentos/conteudo/produtos-fitofarmaceuticos/> Acesso em: 23.01.2024

Dias, M. I., Caroch, M., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Phenolic compounds: flavonoids in legumes. In *Legumes: Nutritional Quality, Processing and Potential Health Benefits* (pp. 49-83). The Royal Society of Chemistry.

Dinesh, D. S., Kumari, S., Kumar, V., & Das, P. (2014). The potentiality of botanicals and their products as an alternative to chemical insecticides to sandflies (Diptera: Psychodidae): A review. *Journal of vector borne diseases*, 51(1), 1.

Dry, I. B., Feechan, A., Anderson, C., Jermakow, A. M., Bouquet, A., Adam-Blondon, A. F., & Thomas, M. R. (2010). Molecular strategies to enhance the genetic resistance of grapevines to powdery mildew. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16, 94-105.

Fathi, H., & Khiavi, H. K. (2012). Study of biology and epidemiology of *Uncinula necator* caused powdery mildew disease. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2(3), 56-61.

Félix, A. P., & Cavaco, M. (2009). *Manual de proteção fitossanitária para proteção integrada e agricultura biológica da vinha. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural*.

Fernandes, F. A., Heleno, S. A., Pinela, J., Caroch, M., Prieto, M. A., Ferreira, I. C., & Barros, L. (2022). Recovery of Citric Acid from Citrus Peels: Ultrasound-Assisted Extraction Optimized by Response Surface Methodology. *Chemosensors*, 10(7), 257.

Fontaine, M. C., Labbé, F., Dussert, Y., Delière, L., Richart-Cervera, S., Giraud, T., &

- Delmotte, F. (2021). Europe as a bridgehead in the worldwide invasion history of grapevine downy mildew, *Plasmopara viticola*. *Current Biology*, 31(10), 2155-2166.
- Frighetto, J. M. (2021). Controle de oídio em videira de mesa sob cultivo protegido.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food chemistry*, 102(3), 898-904.
- Gadoury, D. M., Cadle-Davidson, L. A. N. C. E., Wilcox, W. F., Dry, I. B., Seem, R. C., & Milgroom, M. G. (2012). Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*): a fascinating system for the study of the biology, ecology and epidemiology of an obligate biotroph. *Molecular plant pathology*, 13(1), 1-16.
- Gadoury, D. M., Seem, R. C., Wilcox, W. F., Henick-Kling, T., Conterno, L., Day, A., & Ficke, A. (2007). Effects of diffuse colonization of grape berries by *Uncinula necator* on bunch rots, berry microflora, and juice and wine quality. *Phytopathology*, 97(10), 1356-1365.
- Galet, P. (1983). *A practical ampelography*. Cornell University Press.
- Galindo, F., & Portilho, F. (2015). “O Peixe Morre pela Boca”:: Como os Consumidores Entendem os Riscos dos Agrotóxicos e dos Transgênicos na Alimentação. *Sustainability in Debate*, 6(2), 73-87.
- Garrido, L. D. R., & Gava, R. (2014). *Manual de doenças fúngicas da videira*.
- Gaspar, A. P. L. (2020). *Caracterização Fenológica e Molecular de Isolados Associados à Botriosferiose, Agressividade de Isolados, Susceptibilidade de Castas Nacionais e eficácia de Produtos Fungicidas Relativamente à Lasiodiplodia Spp* (Doctoral dissertation, Universidade de Lisboa (Portugal)).
- Gastaldi, B., Marino, G., Assef, Y., Silva Sofrás, F. M., Catalan, C. A. N., & González, S. B. (2018). Nutraceutical properties of herbal infusions from six native plants of Argentine Patagonia. *Plant foods for human nutrition*, 73, 180-188.
- Gessler, C., Pertot, I., & Perazzolli, M. (2011). *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(1), 3-44.
- Gindro, K., Pezet, R., & Viret, O. (2003). Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. *Plant*

Physiology and Biochemistry, 41(9), 846-853.

- Goidanich, G. (1983). Adverse factors affecting ornamental trees. *Informatore Fitopatologico*, 33(3), 11-18.
- Gracelin, D. H. S., Britto, A., & Kumar, B. J. R. P. (2013). Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals in five *Pteris* species. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5(1), 105-107.
- Grassi, F., & Arroyo-Garcia, R. (2020). Origins and Domestication of the Grape. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1176.
- Haidar, R., Roudet, J., Bonnard, O., Dufour, M. C., Corio-Costet, M. F., Fert, M., ... & Fermaud, M. (2016). Screening and modes of action of antagonistic bacteria to control the fungal pathogen *Phaeoconiella chlamydospora* involved in grapevine trunk diseases. *Microbiological research*, 192, 172-184.
- Herger, G., Harvey, I., Jenkins, T., & Alexander, R. (1989). Control of powdery mildew of grapes with plant extracts. In *Proceedings of the forty second New Zealand weed and pest control conference, Taranki Country Lodge, New Plymouth, August 8-10, 1989.* (pp. 178-181). New Zealand Weed and Pest Control Society Inc.
- Horst, H. (2012). Análise química e biológica dos constituintes fenólicos de *Croton celtidifolius* baill.
- IPMA (2023). Instituto Português do Mar e da Atmosfera. Em: <https://www.ipma.pt/pt/index.html>. Acesso em: 20.01.2024.
- IVV (2022). Evolução da area total de vinha – Portugal. Serie 1989-2022. Em: <https://www.ivv.gov.pt/np4/35/> Acesso em 22.01.2024.
- Keller, M. (2020). *The science of grapevines*. Academic press.
- Kennelly, M. M., Gadoury, D. M., Wilcox, W. F., Magarey, P. A., & Seem, R. C. (2007). Primary infection, lesion productivity, and survival of sporangia in the grapevine downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*, 97(4), 512-522.
- Khiook, I. L. K., Schneider, C., Heloir, M. C., Bois, B., Daire, X., Adrian, M., & Trouvelot, S. (2013). Image analysis methods for assessment of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and *Plasmopara viticola* development in grapevine leaves: application to the evaluation of resistance to downy mildew. *Journal of microbiological methods*, 95(2), 235-244.
- Komárek, M., Čadková, E., Chrastný, V., Bordas, F., & Bollinger, J. C. (2010). Contamination

- of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects. *Environment international*, 36(1), 138-151.
- Konno, K. (2011). Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein. *Phytochemistry*, 72(13), 1510-1530.
- Leal, T. T. B., de Oliveira, F. É. R., de Oliveira, V. C., Gonzalez, S. D. P., da Silva, R. M., dos Reis, A. S., & Silva, F. D. (2016). Extract *Pimenta dioica* in vitro in control of *Aspergillus niger*, pathogen culture of sisal. *Magistra*, 28(2), 254-260.
- Leichtweis, M. G., Oliveira, M. B. P., Ferreira, I. C., Pereira, C., & Barros, L. (2021). Sustainable recovery of preservative and bioactive compounds from food industry bioresidues. *Antioxidants*, 10(11), 1827.
- Lemos, A. R. (2008). Caracterização físico-química, bioquímica e avaliação da atividade antioxidante em genótipos de Urucueiros (*Bixa orellana* L.). *Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga*.
- Lima, L. (2021). Extraction of bioactive compounds from the leaves of *Eucalyptus globulus* using green solvents (Doctoral dissertation).
- Lopes. G, 2017. O Míldio da videira. [agrozapp.pt, https://www.agrozapp.pt/artigos/T%c3%a9cnicos/o-mildio-da-videira](https://www.agrozapp.pt/artigos/T%c3%a9cnicos/o-mildio-da-videira).
- Machado, H., Nagem, T. J., Peters, V. M., Fonseca, C. S., & de Oliveira, T. T. (2008). Flavonóides e seu potencial terapêutico. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução (Descontinuada)*, 27(1/2).
- Magalhães, N. (2008). Tratado de viticultura: a videira, a vinha eo terroir (Vol. 16). Lisboa: Chaves Ferreira.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(6), 271-278.
- Mendes, M. D. S. (2007). Caracterização química e molecular de espécies das famílias Lamiaceae e Apiaceae da flora aromática de Portugal (Doctoral dissertation, Universidade de Lisboa (Portugal)).

- Monteiro, E., Baltazar, M., Pereira, S., Correia, S., Ferreira, H., Bragança, R., ... & Gonçalves, B. (2023). Foliar application of nettle and Japanese knotweed extracts on *Vitis vinifera*: Effects on downy mildew incidence and phenylpropanoid biosynthesis.
- Muganu, M., & Paolocci, M. (2013). Adaptation of local grapevine germplasm: exploitation of natural defence mechanisms to biotic stresses. *The mediterranean genetic code-grapevine and olive*, 221-246.
- Mullins, M. G., Bouquet, A., & Williams, L. E. (1992). *Biology of the grapevine*. Cambridge University Press.
- Parlamento Europeu. (2009). Directiva 2009/128/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 21 de outubro de 2009, que estabelece um quadro de acção a nível comunitário para uma utilização sustentável dos pesticidas. *Jornal Oficial da União Europeia*, 309, 71-86.
- Pérez, A. P., & Eugenio, N. R. (2018). Status of local soil contamination in Europe: Revision of the indicator. *Progress in the Management Contaminated Sites in Europe*; Publications Office of the European Union: Luxembourg.
- Pertot, I., Caffi, T., Rossi, V., Mugnai, L., Hoffmann, C., Grando, M. S., ... & Anfora, G. (2017). A critical review of plant protection tools for reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for the implementation of IPM in viticulture. *Crop Protection*, 97, 70-84.
- Peruch, L. A. M., & Bruna, E. D. (2008). Relação entre doses de calda bordalesa e de fosfito potássico na intensidade do míldio e na produtividade da videira cv.'Goethe'. *Ciência Rural*, 38, 2413-2418.
- Pino-Otín, M. R., Ballesteros, D., Navarro, E., González-Coloma, A., Val, J., & Mainar, A. M. (2019). Ecotoxicity of a novel biopesticide from *Artemisia absinthium* on non-target aquatic organisms. *Chemosphere*, 216, 131-146.
- Pirrello, C., Mizzotti, C., Tomazetti, T. C., Colombo, M., Bettinelli, P., Prodorutti, D., ... & Vezzulli, S. (2019). Emergent Ascomycetes in viticulture: an interdisciplinary overview. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1394.
- Rao, K. C. (1991). Management of grapevine powdery mildew with sterol inhibiting fungicides. *Pestology*, 15, 43-345.
- Reuveni, M. (2001). Activity of trifloxystrobin against powdery and downy mildew diseases of

- grapevines. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 23(1), 52-59.
- Ribeiro, D. J. T. (2021). O Porto e a região do Douro como destino turístico e a relação com o vinho do porto-A matriz dos 4C' s de competitividade do destino turístico.
- Robinson, J., Harding, J., & Vouillamoz, J. (2013). *Wine grapes: a complete guide to 1,368 vine varieties, including their origins and flavours*. Penguin UK.
- Rossi, V., & Caffi, T. (2012). The role of rain in dispersal of the primary inoculum of *Plasmopara viticola*. *Phytopathology*, 102(2), 158-165.
- Rossi, V., Caffi, T., & Gobbin, D. (2013). Contribution of molecular studies to botanical epidemiology and disease modelling: grapevine downy mildew as a case-study. *European journal of plant pathology*, 135, 641-654.
- Santos, C. (2018). Suscetibilidade ao Oídio da videira: caracterização do fenótipo nas principais castas portuguesas (Master's thesis, Universidade de Évora).
- Servili, A., Feliziani, E., & Romanazzi, G. (2017). Exposure to volatiles of essential oils alone or under hypobaric treatment to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 133, 36-40.
- Sônego, O. R., Garrido, L. D. R., & Grigoletti Júnior, A. (2005). *Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil* (Vol. 56). Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho.
- Sônego, O. R., Garrido, L. D. R., & Czermainski, A. D. C. (2003). Avaliação do fosfito de potássio no controle do míldio da videira.
- Sousa, C. M. D. M., Silva, H. R., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S. D., Araújo, D. S., Cavalcante, L. C. D., ... & Chaves, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química nova*, 30, 351-355.
- Steinhauer, B. (1999). Possible ways of using the neem tree to control phytopathogenic fungi. *Plant research and development*, 50, 83-92.
- Talamini, V., & Stadnik, M. J. (2004). Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. *Manejo ecológico de doenças de plantas*, 45-62.
- Terral, J. F., Tabard, E., Bouby, L., Ivorra, S., Pastor, T., Figueiral, I., ... & This, P. (2010). Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Annals of botany*, 105(3), 443-455.

- Toffolatti, S. L., De Lorenzis, G., Costa, A., Maddalena, G., Passera, A., Bonza, M. C., ... & Quaglino, F. (2018). Unique resistance traits against downy mildew from the center of origin of grapevine (*Vitis vinifera*). *Scientific Reports*, 8(1), 12523.
- Tomaz, A., Guerreiro, I., Soares, A. P., Boteta, L., Fabião, M., Pereira, M., & Palma, P. (2022). *Manual de boas práticas para a gestão sustentável de fatores de produção*.
- Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Classification of phenolic compounds in plants. In *Polyphenols in plants* (pp. 263-284). Academic Press.
- Wilcox, W. F., Gubler, W. D., & Uyemoto, J. K. (Eds.). (2015). *Compendium of grape diseases, disorders, and pests* (pp. 39-45). St. Paul, MN, USA: APS Press, The American Phytopathological Society.
- Winkler, A. J. (1974). *General viticulture*. Univ of California Press.