



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS**

MARCELI RAQUEL BURIN

**AVALIAÇÕES MORFOANATÔMICAS E ELABORAÇÃO E VALIDAÇÃO DE UMA
ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA A PODRIDÃO DA UVA MADURA**

DISSERTAÇÃO

Florianópolis/SC

2024

MARCELI RAQUEL BURIN

**Avaliações Morfoanatômicas e Elaboração e Validação de uma Escala Diagramática
para a Podridão da Uva Madura**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPG-RGV) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) Campus Florianópolis.

Orientador: Prof. Dr. Rubens Onofre Nodari
Área de Concentração: Recursos Genéticos Vegetais
Linha de Pesquisa: Genética e Melhoramento de Plantas

Florianópolis/SC

2024

Burin, Marcell Raquel

Avaliações Morfoanatômicas e Elaboração e Validação de uma Escala Diagramática para a Podridão da Uva Madura / Marcell Raquel Burin ; orientador, Rubens Onofre Nodari, 2024.

127 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. Resistência. 3. Videira. 4. Podridão da uva madura. 5. Escala Diagramática. I. Nodari, Rubens Onofre. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

Marceli Raquel Burin

**Avaliações Morfoanatômicas e Elaboração e Validação de uma Escala Diagramática
para a Podridão da Uva Madura**

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 06 de março de 2024,
pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Alberto Fontanella Brighenti
Instituição CCA/UFSC

Pesquisador. Dr. Marco Antonio Dalbó
Instituição EPAGRI

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de Mestra em Ciências.



Documento assinado digitalmente
Valdir Marcos Stefenon
Data: 23/07/2024 16:05:03-0300
CPF: ***.138.149-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Documento assinado digitalmente
Rubens Onofre Nodari
Data: 23/07/2024 16:51:07-0300
CPF: ***.811.620-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Rubens Onofre Nodari

Florianópolis, 2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família pelo apoio, em especial ao meu pai Marcelo, à minha mãe Rejane, aos meus irmãos Matheus e Marieli, aos meus cunhados em especial ao Weslei. Aos meus amados sobrinhos Alice e Miguel e aos meus avós Vani, Bruno, Nilza e em especial ao Cirilo (*in memorian*). Amo vocês!

Agradeço ao meu namorado Felipe por toda ajuda, desde o apoio emocional nos momentos de ansiedade até a ajuda nos experimentos em laboratório nos finais de semana. Obrigado por ser compreensível e paciente.

Ao meu orientador Dr. Rubens Onofre Nodari, obrigada pelos ensinamentos valiosos, pelas conversas, incentivo, confiança e por toda paciência.

Aos meus colegas de laboratório e de mestrado, Fábio, Edenilson, Tainara, Suelen e a Andressa por todo o ensinamento, pelas dicas, companhia e pela amizade.

Aos estudantes de iniciação científica e estagiários, Francesco, Renata, Nina e Jonathan, obrigada pelo apoio, companhia e disposição.

Ao professor Tiago Olivoto pela ajuda nas análises estatísticas e pelas explicações valiosas.

Aos membros da banca de defesa da dissertação, professor Alberto e Marco Antônio Dalbó, pelas sugestões e correções.

À agência de fomento CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.

À FAPESC (Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina) pelo apoio financeiro por meio do projeto TO2021TR002096.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI).

RESUMO

A vitivinicultura nacional possui enorme importância cultural e socioeconômica, envolvendo em sua maioria pequenos produtores rurais, dependentes da produção de uvas, vinhos e do enoturismo. Santa Catarina é um dos maiores estados produtores de uva no Brasil, somando uma produção de 56.900 toneladas em 2021. Uma parte da produção do estado, é destinada ao processamento de vinhos finos, a partir de variedades europeias de *Vitis vinifera*, em razão da maior qualidade enológica. Porém, as variedades europeias são mais suscetíveis a doenças fúngicas, como a podridão da uva madura, do que variedades americanas e asiáticas. A doença é causada por espécies de *Colletotrichum* spp., favorecida por condições climáticas de calor e umidade, causando murchamento das bagas no estágio fenológico de maturação. Visando diminuir os custos e as perdas de produção além dos riscos causados pelos fungicidas e assegurar maior sanidade e qualidade enológica dos vinhos, as variedades PIWI, resultantes do retrocruzamento de variedades de *V. vinifera*, com variedades americanas e/ou asiáticas, possuem resistência ao míldio e oídio. Porém, tais variedades não possuem genes de resistência mapeados para a podridão da uva madura. Nesse contexto, o presente projeto tem como objetivo desenvolver e validar uma escala diagramática para avaliação fenotípica de severidade de sintomas da podridão da uva madura e caracterizar morfo-anatomicamente bagas de diferentes variedades de uva, correlacionando com a sensibilidade ao patógeno. Para isso, foi desenvolvida uma escala diagramática para a podridão da uva madura em laboratório com variedades de videira e distintas colorações de baga, inoculadas com o isolado GL_VI_19 (*Colletotrichum* spp.). Após dez dias de acompanhamento e fotos diárias da evolução dos sintomas, as imagens foram inseridas no *software* R (pacote Pliman). A validação da ED foi realizada com base nas notas dadas por avaliadores aleatórios para os sintomas de bagas com e sem o auxílio da ED desenvolvida. Os dados coletados foram utilizados para análise de precisão e acurácia da escala. As variáveis de espessura da epiderme e da camada de cutícula das variedades Bronner, Calardis Blanc, Prior, Regent e *Vitis shuttleworthii* foram fotografadas em microscopia óptica e eletrônica de varredura e medidas no *software* Image J e as análises estatísticas entre as variedades, tipos de cortes e anos de avaliação foram realizadas no *software* R, assim como nas análises de sensibilidade dessas variedades ao isolado de *Colletotrichum* spp., (GL_VI_19). A escala diagramática (ED) desenvolvida para avaliação fenotípica da podridão da uva madura em bagas de *Vitis* spp., demonstrou eficácia, especialmente em bagas de coloração branca, evidenciando maior precisão e acurácia nas análises. Entretanto, ajustes são necessários para melhorar a aplicabilidade do modelo em bagas de coloração rosé e tinta. Já as análises de espessura das camadas de cutícula e epiderme, exibiram a espécie cultivada de *V. shuttleworthii* (PI 4407) com maiores valores de espessura nas duas metodologias de análise, seguidas das variedades Prior, Bronner, Regent e Calardis Blanc, onde Bronner e Prior demonstraram maior suscetibilidade, enquanto Calardis Blanc e PI 4407 exibiram alta resistência. Por fim, os resultados da análise de trilha indicam uma correlação fraca entre a severidade da podridão da uva madura e as camadas de epiderme e cutícula, exibindo uma correlação forte entre severidade e as características genéticas das variedades testadas, sugerindo que os mecanismos genéticos afetam de forma preponderante a resistência à podridão da uva madura. Dessa forma, os dados exibidos neste estudo, são importantes para a seleção e o desenvolvimento de variedades resistentes à podridão da uva madura, favorecendo o desenvolvimento de uma viticultura nacional mais sustentável.

Palavras-chave: *Vitis*, *Colletotrichum*, Fitopatologia, Microscopia, Resistência.

ABSTRACT

National viticulture is of enormous cultural and socio-economic importance, involving mostly small rural producers who depend on the production of grapes, wines and enotourism. Santa Catarina is one of the largest grapes producing states in Brazil, with a total production of 56,900 tons in 2021. Part of the state's production is destined for the processing of fine wines from European varieties of *Vitis vinifera*, due to their higher oenological quality. However, European varieties are more susceptible to fungal diseases, such as ripe grape rot, than American and Asian varieties. The disease is caused by species of *Colletotrichum* spp. and is favored by hot and humid weather conditions, causing the berries to shrivel at the ripening stage. To reduce production costs and losses, as well as the risks caused by fungicides, and to ensure greater health and oenological quality of the wines, PIWI varieties, resulting from the backcrossing of *V. vinifera* varieties with American and/or Asian varieties, have resistance to downy mildew and powdery mildew. However, these varieties do not have resistance genes mapped for ripe grape rot. In this context, this project aims to develop and validate a diagrammatic scale for phenotypic evaluation of the severity of symptoms of ripe grape rot and to characterize morpho-anatomically the berries of different grape varieties, correlating them with sensitivity to the pathogen. To this end, a diagrammatic scale for ripe grape rot was developed in the laboratory with grape varieties and different berry colors, inoculated with isolate GL_VI_19 (*Colletotrichum* spp.). After ten days of monitoring and daily photos of the evolution of symptoms, the images were inserted into the R software (Pliman package). The ED was validated based on the scores given by random evaluators to the berry symptoms with and without the aid of the ED developed. The data collected was used to analyze the scale's precision and accuracy. The thickness of the epidermis and cuticle layer of the Bronner, Calardis Blanc, Prior, Regent and PI 4407 (*V. shuttleworthii*) varieties were photographed using optical and scanning electron microscopy and measured using Image J software. The statistical analyses between the varieties, types of cut and years of evaluation were carried out using the R software, as well as the sensitivity analyses of these varieties to the *Colletotrichum* spp. isolate (GL_VI_19). The diagrammatic scale (DS) developed for the phenotypic assessment of ripe grape rot on *Vitis* spp. berries proved to be effective, especially on white berries, showing greater precision and accuracy in the analyses. However, adjustments are needed to improve the applicability of the model to rose and ink-colored berries. The analysis of the thickness of the cuticle and epidermis layers showed the cultivated variety of *V. shuttleworthii* (PI 4407) with the highest thickness values in both analysis methodologies, followed by the Prior, Bronner, Regent and Calardis Blanc varieties, where Bronner and Prior showed greater susceptibility, while Calardis Blanc and PI 4407 showed high resistance. Finally, the results of the path analysis indicate a weak correlation between the severity of ripe grape rot and the layers of epidermis and cuticle, while showing a strong correlation between the severity and the genetic characteristics of the varieties tested, suggesting that genetic mechanisms predominantly affect resistance to ripe grape rot. Thus, the data shown in this study are important for the selection and development of varieties resistant to ripe grape rot, favoring the development of a more sustainable national viticulture.

Keywords: *Vitis*, *Colletotrichum*, Phytopathology, Microscopy, Resistance.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1: Genealogia da variedade Calardis Blanc.

Figura 2: Aspectos morfológicos da variedade Calardis Blanc.

Figura 3: Genealogia da variedade Prior.

Figura 4: Aspectos morfológicos da variedade Prior.

Figura 5: Genealogia da variedade Regent.

Figura 6: Aspectos morfológicos da variedade Regent.

Figura 7: Genealogia da variedade Bronner.

Figura 8: Aspectos morfológicos da variedade Bronner.

Figura 9: Aspectos morfológicos da espécie *Vitis shuttleworthii*.

CAPÍTULO 2

Figura 10: Exemplos de oito bagas brancas das 24 utilizadas para a validação da escala diagramática, com ou sem sintomas dez dias após a inoculação com a suspensão de conídios do isolado GL_VI_19.

Figura 11: Escala Diagramática elaborada para a podridão da uva madura.

Figura 12: Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração branca com e sem o auxílio da escala diagramática.

Figura 13: Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração brancas sem o auxílio da escala diagramática.

Figura 14: Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração tinta com o auxílio da escala diagramática.

Figura 15: Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração tinta sem o auxílio da escala diagramática.

Figura 16: Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração rosada com o auxílio da escala diagramática.

Figura 17: Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração rosada sem o auxílio da escala diagramática.

Figura 18: Análise de Fiabilidade Inter-Taxas (TIR) entre os grupos de bagas e os avaliadores.

Figura 19: Gráfico de aderência ao erro absoluto das variedades de coloração branca por avaliador, com e sem o auxílio da escala.

Figura 20: Gráfico de aderência ao erro absoluto das variedades de coloração tinta por avaliador, com e sem o auxílio da escala.

Figura 21: Gráfico de aderência ao erro absoluto das variedades de coloração rosada por avaliador, com e sem o auxílio da escala.

CAPÍTULO 3

Figura 22: Gráfico de barras representando a separação de médias (Tukey, $p \leq 0,05$) das espessuras de cutícula e epiderme por meio das metodologias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e óptica (MO) nas safras de 20/21 e 21/22 e dois tipos de corte das amostras.

Figura 23: Fotografias da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das variedades Bronner (A), Calardis Blanc (B), Prior (C), Regent (D) e PI 4407, variedade cultivada da espécie *Vitis shuttleworthii* (E), demonstrando as camadas de cutícula (cut) e epiderme (ep).

Figura 24: Fotografias da Microscopia Óptica das variedades Bronner (A), Calardis Blanc (B), Prior (C), Regent (D) e PI 4407, variedade cultivada da espécie *Vitis shuttleworthii* (E), demonstrando as camadas de cutícula (cut) e epiderme (ep).

Figura 25: Figura 25 - Fotografias da Microscopia Óptica das variedades Prior (A), mostrando o idioblasto (id), o esclereíde (es) e a ruptura entre a historesina e a amostra (seta); Prior (B), demonstrando idioblasto (id) duplo com paredes lignificadas e Bronner (C) exibindo o idioblasto (id).

CAPÍTULO 4

Figura 26: Gráfico representando a curva de epidemiologia temporal da podridão da uva madura causada pelos isolados GL_VI_19 e GL_CU_47 nas variedades listadas.

Figura 27: Epidemiologia temporal da podridão da uva madura causada pelos isolados GL_VI_19 e GL_CU_47, exibindo a assíntota e incrementos de diâmetro do sintoma por dia.

Figura 28: Análise de trilha entre as variáveis de tipos distintos de variedades (VARIEDADE), tipos de corte histológico (CORTE), espessura da cutícula com microscopia eletrônica de varredura (CUT_MEV) e espessura da epiderme com microscopia eletrônica (EP_MEV), apresentando as correlações diretas (linear) e indiretas com a variável resposta ‘diâmetro do sintoma (mm)’.

Figura 29: Análise de trilha entre as variáveis de tipos distintos de variedades (VARIEDADE), tipos de corte histológico (CORTE), espessura da cutícula com microscopia eletrônica de varredura (CUT_MEV) e espessura da epiderme com microscopia eletrônica (EP_MEV), apresentando as correlações diretas (linear) e indiretas com a variável resposta ‘período de incubação (PI)’.

Figura 30: Análise de trilha entre as variáveis de tipos distintos de variedades (VARIEDADE), tipos de corte histológico (CORTE), espessura da cutícula com microscopia óptica (CUT_OP), espessura da epiderme com microscopia óptica (EP_OP), apresentando as correlações diretas (linear) e indiretas com a variável resposta ‘diâmetro do sintoma (mm)’.

Figura 31: Análise de trilha entre as variáveis de tipos distintos de variedades (VARIEDADE), tipos de corte histológico (CORTE), espessura da cutícula com microscopia óptica (CUT_OP), espessura da epiderme com microscopia óptica (EP_OP), apresentando as correlações diretas (linear) e indiretas com a variável resposta ‘período de incubação (PI)’.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1: Genes de resistência e origem das variedades e seleções.

CAPÍTULO 2

Tabela 2: Valores do Coeficiente de Determinação R^2 dos valores de severidade emitidos pelos avaliadores sem e com o uso da escala diagramática.

Tabela 3: Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC), P valor (PVAL) e limite inferior (II) e superior (UP) de cada grupo de amostras.

Tabela 4: Porcentagem da Severidade Real das bagas utilizadas na validação da escala diagramática.

CAPÍTULO 4

Tabela 5: Porcentagem de erro absoluto das avaliações dos grupos de variedades brancas, rosadas e tintas, com e sem o auxílio da escala.

Tabela 6: Comparação das médias de diâmetro da lesão (mm), causada pelos isolados GL_VI_19 e GL_CU_47 (*Colletotrichum* spp.), nas variedades listadas abaixo, após 10 dias de inoculação.

Tabela 7: Médias do período de incubação (PI) em dias, dos isolados GL_VI_19 e GL_CU_47 (*Colletotrichum* spp.).

Tabela 8: Valor dos incrementos diários de sintoma na assíntota máxima.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT – Actina

ANOVA – Análise de Variância

BAG – Banco Ativo de Germoplasma

CAL – Calmodulina

CCA – Centro de Ciências Agrárias

CCC – Coeficiente de Correlação de Concordância de Lin

CHS – Quitina sintase

CIRAM – Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina

DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado

ED – Escala Diagramática

EDS – *Energy Dispersive Spectroscopy*

EF1 α – Fator de Elongação 1- α

EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

EUA – Estados Unidos da América

F1 – Primeira geração filial

GAPDH – Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICC – Coeficiente de Correlação Intraclasse

IPCC – *Intergovernmental Panel on Climate Change*

ITS – *Internal Transcribed Spacer*

JKI – Julius Kühn-Institut

LCME – Laboratório Central de Microscopia Eletrônica

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MO – Microscopia Óptica

NEUVIN – Núcleo de Estudos da Uva e do Vinho

NGRDI – *Normalized Green Red Difference Index*

PI – Período de incubação

PIWI – *Pilzwiderstandsfähig*

PPG – Programa de Pós-Graduação

R² – Coeficiente de Determinação

RGB – *Red Green Blue*

RGV – Recursos Genéticos Vegetais

QTL – *Quantitative Trait Loci*

TIR – Fiabilidade Inter-Taxas

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

VIVC – *Vitis International Variety Catalogue*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	17
2. OBJETIVO GERAL	19
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3. REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1 A VIDEIRA E A VITIVINICULTURA	20
3.2 PODRIDÃO DA UVA MADURA	21
3.3 DEFESAS DA PLANTA	24
3.4 IDENTIFICAÇÃO DE BARREIRAS MECÂNICAS DE DEFESA	26
3.5 IMPACTOS DA DOENÇA NA PRODUTIVIDADE E QUALIDADE ENOLÓGICA	26
3.6 ALTERNATIVAS SUSTENTÁVEIS	28
3.7 AVALIAÇÃO DE SEVERIDADE	29
4. ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO	31
REFERÊNCIAS	32
5. CAPÍTULO 1 - DESCRIÇÃO DAS VARIEDADES UTILIZADAS NO ESTUDO	39
5.1 INTRODUÇÃO	39
5.2 DESCRIÇÃO DAS VARIEDADES	39
5.2.1 Calardis Blanc	39
5.2.2 Prior	42
5.2.3 Regent	43
5.2.4 Bronner	45
5.2.5 PI 4407 - variedade cultivada de <i>Vitis shuttleworthii</i>	46
REFERÊNCIAS	49
6. CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UMA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA PODRIDÃO DA UVA MADURA	50
RESUMO	50
6.1 INTRODUÇÃO	52
6.2 METODOLOGIA	53
6.2.1 Elaboração da Escala Diagramática (ED)	53
6.2.2 Validação da escala diagramática	54
6.3 RESULTADOS	56
6.3.1 Desenvolvimento da Escala Diagramática	56
6.3.2 Validação da Escala Diagramática	58
6.4 CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS	80
7. CAPÍTULO 3 – ANÁLISE MORFOANATÔMICA DE BAGAS DE <i>Vitis</i> spp.	82
7.1 INTRODUÇÃO	84
7.1. METODOLOGIA	85
7.1.1 Coleta de amostras vegetais	85

7.1.2 Preparo das amostras para microscopia óptica	85
7.1.3 Preparo das amostras para microscopia de varredura	86
7.1.4 Análise dos resultados de microscopia	86
7.1.5 Análise estatística dos dados obtidos na microscopia	86
7.2 RESULTADOS	87
7.2.1 Microscopia eletrônica de varredura	87
7.2.2 Microscopia óptica	90
7.2.3 Análise visual das estruturas anatômicas dos frutos	93
7.3 CONCLUSÕES	97
REFERÊNCIAS	98
ANEXO	100
8. CAPÍTULO 4 – SEVERIDADE DO Colletotrichum spp. EM VARIEDADES DE UVA E CORRELAÇÃO COM AS BARREIRAS MECÂNICAS DA FRUTA.	101
8.1 INTRODUÇÃO	103
8.2 METODOLOGIA	104
8.2.1 Coleta das amostras	104
8.2.2 Implementação do ensaio experimental	105
8.2.3 Análise da severidade da podridão da uva madura	105
8.3. RESULTADOS	106
8.4 ASSOCIAÇÃO DA SEVERIDADE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA COM AS CARACTERÍSTICAS DA BAGA	122
8.5 CONCLUSÕES	122
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	124
REFERÊNCIAS	126

1. INTRODUÇÃO GERAL

A vitivinicultura exerce um importante papel no desenvolvimento socioeconômico nacional, envolvendo atualmente cerca de 30.000 famílias, sendo pequenos produtores rurais, dependentes da vitivinicultura e enoturismo para obtenção de emprego e renda.

Contudo, as videiras são suscetíveis a muitas doenças, notadamente as variedades de *Vitis vinifera*, que são acometidas pelas doenças fúngicas, tais como míldio, antracnose, oídio, ferrugem, podridão cinzenta e a podridão da uva madura. Essa última, por sua vez, é causada por espécies pertencentes a diversos complexos de *Colletotrichum* spp. Que se encontram associados a certos sintomas visíveis nas bagas de variedades de uva, a partir de sua maturação fenológica. Esse fungo é favorecido por condições climáticas de calor e umidade e seus sintomas se expressam em manchas na baga da uva, em estado de amadurecimento, tornando-as murchas e apodrecidas, afetando a produtividade e qualidade da uva.

Dessa forma, o cultivo de variedades europeias para a produção de vinhos finos no Brasil, comparativamente aos países europeus, necessita de maiores aplicações de fungicidas, aumentando o custo da produção e expondo o produtor, os consumidores e o meio ambiente a sérios riscos. Diante do cenário global, a Agenda 2030, assumida por diversos países, sendo um deles o Brasil, propõe, além da redução do uso de agrotóxicos nos cultivos agrícolas, o aumento da eficiência e resistência de variedades, favorecendo um crescimento econômico mais sustentável.

Nesse contexto, as variedades PIWI, do alemão (*Pilzwiderstandsfähig Rebsorten*), significam variedades de videira que apresentam resistência parcial ao míldio e oídio, que já foram desenvolvidas na Itália, Áustria, Hungria e na Alemanha, entre outros. Tais variedades resultaram de seleções de plantas de populações segregantes oriundas de cruzamentos entre espécies de videira europeias com maior qualidade enológica e espécies americanas e asiáticas de maior resistência ao míldio e ao oídio. Atualmente, estudos de adaptação de tais variedades PIWI estão sendo feitos no Brasil, principalmente no estado de Santa Catarina. Paralelamente, o melhoramento genético para a piramidização de genes de resistência a doenças fúngicas presentes nesta região está sendo feito pela parceria EPAGRI-UFSC.

Contudo, o melhoramento de genótipos resistentes à podridão da uva madura ainda não foi desenvolvido, já que esta doença ocorre com mais frequência em países tropicais. Essa lacuna é tanto um desafio como uma oportunidade para o Brasil. Para subsidiar a eficiência do

melhoramento, é necessário inicialmente superar a falta de conhecimento básico sobre as principais podridões de cacho. Assim, torna-se imprescindível o aprofundamento de pesquisas para avançar no conhecimento científico sobre a podridão da uva madura (*Colletotrichum* spp). Os resultados auxiliarão na obtenção de genótipos resistentes a esta doença. Com o cultivo destas novas variedades, haverá redução das perdas nas produções e diminuição dos custos de produção, pois o número de aplicações de fungicidas diminuirá, comparativamente ao que se usa com as variedades atualmente em cultivo. Além disso, os impactos nocivos dos agrotóxicos à saúde do produtor, consumidor e do planeta terra também será menor.

A busca por fontes de resistência é o passo inicial a ser dado. Dessa forma, estudar sistema de defesa da planta é imprescindível. As plantas possuem mecanismos de defesa contra estresses bióticos e abióticos, como as barreiras estruturais formadas pelos componentes da epiderme, parede celular externa, camada de cutícula e cera epicuticular. Com o uso de análises de histologia é possível estudar morfologicamente essas estruturas que auxiliam na proteção contra a entrada e colonização de patógenos, como o *Colletotrichum* spp., possibilitando uma melhor compreensão sobre as barreiras e de como elas estão envolvidas na resistência da planta.

A camada mais externa é denominada de cera epicuticular, por estar disposta sobre a camada de cutícula. Ela possui propriedades hidrofóbicas, dificultando a aderência do patógeno ao fruto e a subsequente infecção por meio da formação do apressório, além de agir como barreira física à entrada de patógenos, diminuindo a severidade da doença. Nessa camada estão dispostos os hidrocarbonetos, que auxiliam na barreira física, além de possuírem efeitos antifúngicos. Além disso, o silício, presente em menor ou maior quantidade na superfície do fruto, principalmente reforçando a parede celular, também está envolvido na proteção da planta, assim como outros componentes, incluindo os compostos fenólicos e a lignina.

A correlação dos dados obtidos por meio de análises de histologia das barreiras externas com a severidade dos genótipos é de extrema importância. Nesse contexto, a escala diagramática mostra-se como uma ferramenta altamente vantajosa. Entretanto, ainda não há disponível uma escala diagramática específica para avaliações fenotípicas de severidade da podridão da uva madura. Essa carência decorre dos estudos com essa doença e com as variedades PIWI ainda serem recentes no Brasil, incluindo pesquisas relacionadas à podridão da uva madura.

Além de auxiliar nas análises fenotípicas de severidade, com o objetivo de compreender melhor o papel das barreiras mecânicas, a escala também é valiosa para a seleção de genótipos superiores em resistência à doenças como a podridão. Ela oferece uma forma mais rápida, precisa e acurada de avaliação, reduzindo os erros nos resultados. Esses avanços contribuem significativamente para o desenvolvimento de conhecimentos sobre manejos mais sustentáveis da doença, incluindo a utilização de variedades de uva em programas de melhoramento genético para a doença em questão.

As lacunas de informações relacionadas a essa doença abrangem a diversidade do patógeno envolvido na infecção e a interação deste com o hospedeiro. O objeto da presente Dissertação abrange as barreiras mecânicas formadas pela parede celular, cera e cutícula da planta, a identificando genótipos com maior resistência mecânica (Capítulo 3 da Dissertação), assim como o desenvolvimento uma escala padronizada para identificação de genótipos resistentes à podridão da uva madura (Capítulo 2 da Dissertação). Tais avanços auxiliam na construção de conhecimento sobre manejos mais sustentáveis.

Diante desse cenário, a presente dissertação de mestrado contempla a caracterização morfoanatômica das bagas e a escala diagramática para avaliação fenotípica dos sintomas da podridão da uva madura, causada por espécies de *Colletotrichum* spp.

2. OBJETIVO GERAL

Analisar características morfológicas quanto a resistência a podridão da uva madura e elaborar uma escala diagramática

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as variedades utilizadas no presente estudo (Capítulo 1).
- Desenvolver e validar uma escala diagramática para a podridão da uva madura com bagas de distintas colorações (Capítulo 2).
- Estimar a espessura da epiderme e da cutícula de distintos genótipos de videira (Capítulo 3).
- Avaliar a severidade de distintos genótipos de *Vitis* spp. a um isolado de *Colletotrichum* spp. (Capítulo 4).

- Avaliar o período de incubação do isolado de *Colletotrichum* spp. a distintos genótipos de *Vitis* spp. (Capítulo 4).
- Correlacionar a severidade e o período de incubação com a espessura da camada da epiderme e da cutícula (Capítulo 4).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A VIDEIRA E A VITIVINICULTURA

As variedades de *Vitis vinifera*, também conhecidas como videira-europeia, são as mais cultivadas no mundo. Pertencente à família Vitaceae e ao gênero *Vitis*, que abrange pouco mais de 30 espécies, sendo a *V. vinifera* a espécie de videira mais antiga cultivada pelo homem (Souza, 1996).

A vitivinicultura tem apresentado expansão no Brasil, ocupando atualmente uma área de cerca de 84.000 hectares, representando 1% de toda área cultivada no país, com produção anual de cerca de 1.400 toneladas, sendo 40% destinada ao processamento para produção de vinhos e espumantes. Apesar do estado do Rio Grande do Sul ser o maior produtor de uva no Brasil, Santa Catarina tem se destacado nos últimos tempos, estando atualmente inserida no quarto lugar de maior produtor de uvas e o quinto em área plantada no país (IBGE, 2021; Würz, 2018).

No estado de Santa Catarina, até o ano de 2021, o total de áreas destinadas ao cultivo de uva somavam 3.911 ha com uma produção de 56.900 toneladas, sendo o município de Tangará o maior produtor (IBGE, 2021). Nesse estado, as regiões com altitudes acima de 900 metros têm ganhado destaque nacional na produção de vinhos finos, por apresentarem condições climáticas diferenciadas das demais regiões vitícolas. As condições nesta altitude são mais amenas, provocando um desenvolvimento lento do fruto, como reprodução, brotação e maturação, culminando em qualidade enológica. A maturação tardia favorece maior concentração de açúcar, já as noites frias auxiliam em uma maior coloração e acidez (Vianna, 2016).

A vitivinicultura possui grande importância socioeconômica, devido a capacidade de geração de emprego e renda, principalmente no setor da agricultura familiar, maior produtor de uva no Brasil, englobando cerca de 30.000 famílias que dependem principalmente dessa cultura

(Zanus, 2015). Além disso, o turismo em áreas rurais, como é o caso do enoturismo, valoriza a cultura local e a biodiversidade da região, servindo também como complemento de renda das famílias de pequenos produtores envolvidos na vitivinicultura (Tonini et al., 2021).

A produção de vinhos finos utiliza variedades de uvas europeias (*V. vinifera*) como Merlot, Cabernet Sauvignon e Chardonnay. Porém, tais variedades apresentam maior suscetibilidade a doenças fúngicas do que as variedades de *V. labrusca*, sendo necessário maiores aplicações de fungicidas (Schneider; Kaltbach; Costa, 2021). O uso excessivo desses produtos químicos pode resultar na seleção de patógenos resistentes, provocar danos à saúde dos consumidores e produtores e ao meio ambiente. Além disso, as aplicações de fungicidas chegam a representar 30% de todos os custos necessários para a produção da videira (Chavarria; Santos, 2013).

3.2 PODRIDÃO DA UVA MADURA

O cultivo de uvas finas, como mencionado anteriormente, é comumente afetado por uma série de patógenos causadores de doenças que comprometem a qualidade e produtividade da uva. As principais doenças causadas por agentes fúngicos são o míldio (*Plasmopara viticola*), antracnose (*Elsinoë ampelina*), podridão cinzenta (*Botrytis cinerea*, anamorfo *Botryotinia fuckeliana*), oídio (*Uncinula necator*), ferrugem (*Phakopsora euvitis*), fusariose (*Fusarium oxysporum* f. sp. *herbemontis*) e a podridão da uva madura, causada por uma diversidade de espécies do gênero *Colletotrichum* spp. (Würz, 2018).

Estudos relatam em *V. vinifera* e *V. labrusca*, na Serra Gaúcha, seis espécies de *Colletotrichum* spp, sendo eles: *C. fructicola*, *C. kahawae* e *C. viniferum* (Complexo *Gloeosporioides*), *C. limitticola*, *C. nymphaeae* (Complexo *Acutatum*) e *C. karstii* (complexo *Boninense*). Anteriormente, a doença era atribuída ao agente fúngico *Colletotrichum* spp. (Anamorfo: *Glomerella cingulata*) (Echeverrigaray et al., 2020).

A podridão da uva madura é uma das principais podridões de cachos no Brasil, causando grandes perdas na cultura da videira. Como a ocorrência de surtos dessa doença é favorecida em locais de clima quente e úmido, é de extrema importância relatar que o Relatório do IPCC de 2022, aponta as mudanças climáticas mundiais de temperatura e precipitação, indicando o aumento na temperatura média global entre 1,8°C e 4,0°C. Tais índices favorecem o aparecimento de surtos da podridão da uva madura (Carvalho et al., 2011; Milholland, 1994).

A doença é caracterizada pelo aparecimento de manchas formadas por acérvulos subepidérmicos de coloração marrom em forma de disco ou almofada, geralmente contendo espinhos ou cerdas, diferindo do gênero *Gloeosporium* que se espalham pelas bagas de uvas, tornando-as murchas. Desses acérvulos surge uma massa rósea ou salmão, os conídios, que são hialinos e unicelulares, podendo se apresentar na forma ovoide ou oblongo (Hanlin, 1998).

A infecção pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da uva, permanecendo latente até o estágio de maturação da fruta. Esse patógeno é favorecido por condições de umidade na fase final de maturação e seu controle inclui, além de evitar as condições que predisõem ao aparecimento da doença, isolar as bagas infectadas do restante da produção, manter um maior espaçamento, manter adubação e podas adequadas, além de utilizar controles biológicos e químicos como os fungicidas (Garrido, 2004).

O gênero *Colletotrichum* spp. é o único membro da família Glomerellaceae, sendo considerado cosmopolita. Possui enorme diversidade de espécies e complexos, infectando mais de 30 gêneros de plantas, principalmente frutíferas. Já foram identificadas 218 espécies de *Colletotrichum* spp. divididas em 14 complexos, com exceção de algumas espécies consideradas individualmente (Jayawardena et al., 2021). Recentemente o gênero foi incluído na lista dos dez fungos patogênicos mais importantes do mundo, levando em consideração sua importância econômica e relevância científica, possuindo uma enorme diversidade de formas de sobrevivência e de vida, podendo se associar a uma grande variedade de plantas, exibindo dois modos de nutrição: o biotrófico e o necrotrófico (Carboni, 2018).

Alguns estudos estão sendo desenvolvidos atualmente, visando identificar a diversidade de espécies relacionadas à doença. Tais estudos englobam a variação morfológica de conídios e colônias, inferindo a existência de diferentes complexos e espécies do Rio Grande do Sul (Echeverrigaray et al., 2020). Atualmente as espécies de *Colletotrichum* spp. são inseridas em 11 complexos, clados subgenéricos monofiléticos, sendo eles: Boninense, Acutatum, Dematium, Destructivum, Gigasporum, Gloeosporioides, Graminicola, Orbiculare, Spaethianum, Truncatum e Cliviae (Carboni, 2018).

Essas espécies são agrupadas nos complexos inicialmente com base nas características morfológicas, onde as espécies do complexo *C. gloeosporioides* apresentam conídios cilíndricos e coloração marrom-claro, cinza-escuro, cinza-claro, salmão e branco; o complexo *C. acutatum* dispõe de conídios fusiformes, cilíndricos e retos, coloração salmão e o *C.*

boninense exibe uma coloração marrom-escuro e cinza, com conídios cilíndricos a clavados. Além disso, características de densidade, altura micelial da colônia, velocidade de crescimento, entre outras, são utilizadas para classificação morfológica em nível de complexo, posteriormente confirmado com o auxílio de sequenciamento e filogenia (Junior; Auer; Wolf, 2021).

Quando isolados em meio de cultura, *C. gloeosporioides* se desenvolve de forma mais rápida do que *C. acutatum*, o primeiro apresenta corpo de frutificação cinza, marrom, branco e até mesmo salmão, já o segundo apresenta corpo de frutificação tipicamente salmão e creme se desenvolvendo mais lentamente no meio de cultura (Junior; Auer; Wolf, 2021). Após a análise inicial, embasada em características morfológicas do isolado, são utilizados os marcadores moleculares obtidos do sequenciamento genético e as análises das relações filogenéticas, a fim de comprovar a classificação em complexos e, posteriormente, em espécies. Para isso são utilizados diversos marcadores moleculares, como a região ITS (*Internal Transcribed Spacer*), GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase), CAL (calmodulina), ACT (actina), CHS (quitina sintase), e EF1 α (fator de alongação 1- α). Porém, ainda não há um consenso de quais marcadores devem ser utilizados na sistemática do gênero, levando assim, a certos erros na classificação das espécies (Bezerra, 2019; Damm et al., 2012).

A maioria das espécies do gênero *Colletotrichum* spp. se alimentam de matéria morta presente no solo, até serem dispersos pela chuva liberando conídios que iniciam a infecção ao entrar em contato com a planta hospedeira. Inicialmente ocorre a germinação do conídio, que entra pela cutícula e células da epiderme através da estrutura denominada apressório. Apesar de essa ser a forma mais comum, a infecção também pode ocorrer via estômatos e ferimentos, sem que haja a formação da estrutura especializada, o apressório. Após a infecção, o fungo desenvolve hifas primárias e secundárias, matando as células infectadas, sem fase biotrófica, porém, alguns fungos, denominados de hemibiotróficos, se comportam inicialmente como biotróficos, infectando com as hifas primárias, sem matar as células e se tornando necrotróficos em seguida, destruindo e matando as células no caminho (Medeiros, 2008).

No estágio hemibiotrófico, a fase biotrófica é denominada quiescente, onde o fungo permanece no hospedeiro sem causar danos durante seu estágio de desenvolvimento. Após o início da maturação, devido a estímulos da planta, como a diminuição dos compostos

antifúngicos (polifenóis e fitoalexinas, por exemplo) e outros fatores, o fungo inicia seu estágio necrotrófico (Oliveira, 2017).

3.3 DEFESAS DA PLANTA

Através de sinais, a planta hospedeira desencadeia uma série de respostas contra o invasor. Dessa forma, a planta que tem maior capacidade de atrasar ou evitar a entrada do patógeno, assim como limitar sua atividade, é definida como resistente. São vários os mecanismos que contribuem para a resistência da planta a patógenos, como a presença e espessura da camada de cera e da cutícula, além de modificações na parede celular, como maior deposição de lignina, extensina e suberina, dificultando a degradação pelas enzimas do patógeno, criando uma barreira para os nutrientes chegarem ao patógeno, exercendo um efeito tóxico sobre o patógeno a partir de seus precursores, além de poder conduzir a lignificação de estruturas do patógeno (Amorim et al., 2011).

Os mecanismos de defesa podem ser estruturais, que se constituem em barreiras físicas à penetração e colonização pelo patógeno, ou mecanismos bioquímicos, pré-formados ou formados a partir de sinais após a infecção (Amorim et al., 2011).

Os compostos fenólicos, fitoalexinas, liberação de espécies reativas de oxigênio, flavonoides, antocianinas, polifenóis e hormônios como ácido jasmônico, ácido salicílico e etileno, são mecanismos bioquímicos de defesa e auxiliam na defesa da planta contra patógenos (Barros et al., 2010; Nicholson; Hammerschmidt, 1992; Stangarlin, 2011). Entender melhor os mecanismos de ação dessas substâncias e a combinação delas na defesa da planta, permite o desenvolvimento de estratégias de manejo mais sustentáveis e menos dependentes de produtos químicos sintéticos.

Estudos também relacionam maior resistência de plantas e alta concentração em silício com a atuação desta no corpo do hospedeiro, proporcionando impedimento físico e maior acúmulo de compostos fenólicos e lignina no local da infecção, além de auxiliar no espessamento da parede celular com a deposição da sílica (Barros et al., 2010; Pratissoli et al., 2007). Algumas plantas quando cultivadas em ambientes com alta concentração de sílica, absorvem-na, depositando no espaço intercelular da epiderme, formando uma barreira à penetração de hifas (Stangarlin et al., 2011).

A parede celular exerce a função de fornecer resistência mecânica e estruturação da célula. As paredes possuem microfibrilas de celulose e estão envoltas em uma matriz amorfa que consiste predominantemente de polissacarídeos e material proteico (Nunan et al., 1997).

Além da parede celular, as plantas possuem diversos mecanismos de defesa e proteção contra estresse bióticos e abióticos, um deles é a cutícula que cobre a parede celular externa das células epidérmicas. Ela é formada principalmente pela cutina, um polímero de ésteres de ácidos graxos hidroxi. Associada a essa camada está externamente a cera (Chambers; Possingham, 1963; Rosenquist; Morrison, 1989). Na videira, o principal componente da cutina são os ésteres de ácidos graxos C16 e C18 (Walton; Kolattukudy, 1972).

A camada de cera é hidrofóbica e possui uma série de plaquetas de cera sobrepostas; o tamanho e a complexidade das plaquetas diferem entre espécies, partes da planta e do estágio de maturação (Chambers; Possingham, 1963). A cutícula e a cera possuem a função de restringir a perda de água e solutos dos tecidos interiores. Essa camada também protege contra a adesão e a entrada de patógenos, como os fungos, dificultando a ancoragem pela superfície hidrofóbica com maior escoamento superficial de água e com cristais de cera. Tais características podem influenciar a interação patógeno-hospedeiro, sendo na maioria das vezes, um fator contribuinte da resistência da planta contra o patógeno (Mendgen, 1996).

O desenvolvimento da camada de cutícula inicia-se na pré-antese ao cobrir a parede celular das células epidérmicas do ovário, após a antese, os frutos contêm cristais de cera epicuticular, que é uma espécie de cera armazenada para a expansão do tecido, os estágios seguintes tornam a camada de cera mais fina e uniforme (Casado; Heredia, 2008). As ceras podem ser intracuticulares, quando incorporadas à camada de cutina, e epicuticulares, quando externamente à camada da cutícula. Incluem diversos compostos hidrofóbicos e moléculas lipídicas (Rustioni; Maghradze; Failla, 2012).

Estudos relacionam as variações de suscetibilidade das uvas às podridões de cacho com o arranjo das células peliculares, da espessura cuticular e da densidade das camadas de cera e cutícula das cultivares (Commenill; Brunet; Audran, 1997).

3.4 IDENTIFICAÇÃO DE BARREIRAS MECÂNICAS DE DEFESA

Diante disso, a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) permite analisar a espessura da parede celular de plantas, assim como a camada de cutícula e cera epicuticular,

responsáveis pela proteção contra patógenos e a evapotranspiração. Por meio da microscopia eletrônica, descobriu-se que a maioria das ceras epicuticulares são formadas por estruturas tridimensionais, podendo ser bidimensionais, variando em morfologia e espessura, podendo ser de 0,5 a 100 μm . Para essas análises, um feixe de elétrons extremamente estreito varre a amostra, construindo a imagem que possui ampliação de até 300.000 vezes, sendo ideal para analisar estruturas externas (Castro et al., 2002).

Além disso, a varredura pelo feixe de elétrons permite a análise de elementos químicos presentes por meio da espectroscopia por dispersão de energia (EDS - *Energy Dispersive Spectroscopy*). Por meio da análise de EDS da camada externa da epiderme vegetal é possível identificar os elementos químicos presentes. Alguns elementos, como o silício, são relacionados a uma maior proteção contra patógenos. Esse componente é absorvido do solo e armazenado na parede celular da planta. Além de proporcionar outros benefícios, essa estocagem está relacionada com uma maior resistência a fatores abióticos de estresse, além de exercer o papel de reforço da parede celular, dificultando a entrada de patógenos (Gomes et al., 2008).

3.5 IMPACTOS DA DOENÇA NA PRODUTIVIDADE E QUALIDADE ENOLÓGICA

A podridão da uva madura foi relatada pela primeira vez em 1891 nos Estados Unidos da América (EUA) e rapidamente se difundiu para todos os locais onde suas espécies hospedeiras (*V. labrusca*, *V. vinifera* e *V. rotundifolia*) são cultivadas (Daykin; Milholland, 1984; Southworth, 1891), como Austrália, Japão, Coréia e EUA (Miele; Rizzon, 2013).

No Brasil a doença ocorria em níveis baixos até os anos 2000. Porém, a incidência da doença aumentou muito nas últimas décadas, principalmente em locais e anos de maior umidade e temperatura. Além disso, com as previsões sobre as mudanças climáticas, é observado que essa doença será uma das mais incidentes em regiões de altas altitudes do sul do Brasil (Bois et al., 2017; Garrido; Sônego, 2004).

Estimar a perda econômica derivada dessa doença é difícil, devido à falta de informações e a especificidade de cada região de cultivo, variedade e espécie do patógeno. Porém, na Carolina do Norte, Daykin e Milholland (1984) estimaram uma perda de 10% para a *V. rotundifolia*. Na Austrália estima-se que as perdas de produção causadas pela podridão de cacho em geral de uvas viníferas chegam a 17 milhões de dólares por ano, sendo que 1 milhão é atribuído à redução da qualidade da uva (Meunier; Steel, 2009).

A perda econômica se dá pelo incremento de aplicações químicas, pelo descarte de frutos infectados durante a maturação e pela diminuição da qualidade da uva e do vinho gerados a partir desses materiais infectados, de modo que baixos níveis de infecções já são prejudiciais à qualidade enológica. No vinho tinto, uma infecção de 1,5% das bagas por *C. acutatum* atribui um caráter sensorial de maior adstringência e amargor, além de afetar a coloração do vinho (Meunier; Steel, 2009).

Por outro lado, a infecção afeta os vinhos brancos de outra forma, visto que esses não necessitam de fermentação em contato com as cascas dos frutos. Nesses vinhos, é relatada a oxidação de caracteres aromáticos e a obtenção de aromas terrosos (Bock et al., 1986; Guerche et al., 2006) na infecção por *Botrytis cinerea*.

Como a maioria dos estudos sensoriais sobre os efeitos dos processos metabólicos da podridão de cacho na vinificação são oriundos de bagas infectadas a campo, determinar os efeitos específicos desses patógenos é difícil, pois no campo outros patógenos agem em conjunto (Steel; Blackman; Schmidtke, 2013).

O vinho elaborado a partir de uvas com sintoma de podridão da uva madura possui um aroma de mofo, além de apresentar níveis elevados de glicerol, acidez volátil, maior concentração de álcool, ácido glucônico, ácido málico e açúcar residual. Além disso, as uvas infectadas dão origem a um vinho com uma coloração mais marrom, provavelmente associado a dessecação dos frutos infectados e a modulação ácida ou a oxidação dos compostos fenólicos (Meunier; Steel, 2009). Essas características são percebidas durante análises sensoriais. Em um estudo de Meunier e Steel (2009), durante a análise sensorial os provadores perceberam claramente uma diferença entre o vinho produzido com frutas sãs e o vinho produzido a partir de 3% das frutas afetadas. O vinho infectado foi descrito como sendo mais amargo, áspero, de coloração menos vermelha e com uma menor intensidade de sabor da fruta.

Diante disso, o controle da doença é imprescindível, porém não existem muitas alternativas de controle eficiente. O controle químico é o mais utilizado, sendo aplicado desde a floração até a colheita, porém, como essa doença é causada por uma grande diversidade de espécies de *Colletotrichum* spp., diferindo em sensibilidade ao fungicida utilizado (Dowling et al., 2020), mesmo o complexo *C. gloeosporioides* sendo o complexo mais prevalente no Brasil. Altas doses são aplicadas resultando na seleção de isolados resistentes e um controle cada vez menos eficiente (Echeverrigaray et al., 2020; Lopes et al., 2015).

Diante desse cenário, a disponibilidade de escala para avaliação fenotípica dos sintomas da podridão da uva madura, causada por espécies de *Colletotrichum* spp., uma das doenças fúngicas que mais acometem as viníferas no Brasil, é essencial na tomada de decisões para manejos mais sustentáveis, indicando genótipos de maior resistência para certas regiões de maior ocorrência do patógeno, ou até mesmo na utilização desse genótipo em programas de melhoramento genético.

3.6 ALTERNATIVAS SUSTENTÁVEIS

Para tentar evitar perdas causadas por esses patógenos são realizadas muitas aplicações de fungicidas, que muitas vezes são executadas de forma incorreta. Além disso, esse tipo de manejo expõe o produtor, o consumidor e o meio ambiente a sérios riscos, selecionando também patógenos resistentes e acarretando num aumento do custo de produção (Chavarria; Santos, 2013).

Nos últimos tempos, esse cenário vem sendo exposto principalmente pelo Painel Intergovernamental sobre as Alterações Climáticas - IPCC, que já realizou seu sexto relatório em 2022, levantando a questão do aumento das temperaturas globais e a mudança da amplitude térmica, devido aos efeitos do aquecimento global. Essas condições climáticas podem acarretar perdas significativas em diversos cultivos, como da videira, favorecendo maior incidência de doenças fúngicas, além de prejudicar o desenvolvimento das plantas e a qualidade do produto final, visto que a escolha da colheita antecipada devido a problemas fitossanitários diminui a qualidade da uva a ser processada (IPCC, 2022).

Perante o exposto, o mundo todo vem adotando medidas direcionadas a um desenvolvimento mais sustentável. Essa visão está exposta na Agenda 2030, objetivos mundiais que visam não somente a diminuição do uso de agrotóxicos na produção de alimentos, mas também o aumento na produtividade dos cultivos e no desenvolvimento de variedades resistentes a estresses bióticos e abióticos, o que poderá auxiliar o produtor e a economia, ao mesmo tempo que diminuirá os impactos causados ao meio ambiente (ONU, 2015).

Nesse cenário, programas de melhoramento genético de variedades de uva são uma ferramenta de auxílio à sustentabilidade, promovendo o cultivo de genótipos superiores e resistentes a patógenos. Com isso, melhoristas de diversos países como a Itália e Alemanha em

parceria com pesquisadores brasileiros, vêm desenvolvendo variedades denominadas PIWI, resultantes de retrocruzamentos de geração F1, oriundo de cruzamentos entre variedades americanas e europeias, o que permite conciliar resistência às doenças e qualidade enológica.

Para dar seguimento aos programas de melhoramento há de se identificar alelos de resistência à podridão da uva madura. Para tanto, estudos de distintas características associadas a resistência à referida doença podem contribuir para o desenvolvimento futuro de variedades também resistentes à podridão da uva madura.

3.7 AVALIAÇÃO DE SEVERIDADE

Como a podridão da uva madura é uma doença recorrente no Brasil e no estado de Santa Catarina, além de ser causada por uma diversidade de espécies (Echeverrigaray et al., 2020), ainda não se tem disponível uma Escala Diagramática para avaliações fenotípicas de severidade da doença em bagas de uva. Este fato é devido ao desenvolvimento e aos estudos com as variedades PIWI serem ainda recentes no Brasil, incluindo estudos relacionados à podridão da uva madura, resultando em uma lacuna científica e tecnológica para o Brasil e o mundo.

Nesse sentido, a escala diagramática permite avaliar fenotipicamente a severidade de doenças com acurácia e precisão, minimizando erros de avaliação, sendo esse o primeiro passo para avaliação da doença e plano de manejo, assim como analisar fenotipicamente os genótipos superiores de maior resistência (Buffara et al., 2014; Modesto et al., 2020).

As escalas diagramáticas tornam as avaliações mais precisas e acuradas, tornando a estimativa do avaliador situada em um intervalo menor, compreendido entre dois níveis da escala, diferente do uso sem a escala, onde o avaliador pode atribuir qualquer valor no intervalo de 0 a 100%. Dessa forma, as escalas diagramáticas contribuem na redução do erro na estimativa visual da severidade da doença (Amorim et al., 1995). Porém, como as estimativas de cada avaliador quanto a severidade da doença pode ser diferente, representando níveis de precisão e acurácia distintas, as escalas diagramáticas devem ser testadas e validadas por distintos avaliadores, visando comprovar sua eficiência (Nutter et al., 1991).

A precisão e acurácia podem ser medidas com o índice de reprodutibilidade Correlação de concordância de Lin (CCC), Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC), pelo Coeficiente

de Determinação R^2 , Estimativa de Erro Absoluto e Fiabilidade Inter-Taxas (Nutter et al., 1991; Modesto, 2020).

O coeficiente de concordância de lin (CCC) mede a força da concordância entre dois avaliadores. É um índice de reprodutibilidade, que avalia a concordância entre duas leituras da mesma amostra, medindo a variação da linha de 45° até a origem, onde a linha de 45° representa a situação ideal, onde a severidade estimada é igual a severidade real (Lin, 1989). O erro absoluto, indica a acurácia das avaliações, por meio do cálculo da severidade estimada menos a severidade real, de cada avaliador. O Coeficiente de Correlação Intraclasse é relacionado à proporção de variância atribuível aos dados avaliados. A partir da análise de variância (ANOVA), esse coeficiente pode ser aplicado ao avaliar diferenças entre intervalos ou proporções variáveis, diferentes conjuntos de notas, quando há diversos avaliadores (Gisev; Bell; Chen, 2013).

O coeficiente de determinação R^2 constitui-se de um percentual da qualidade de ajuste de um modelo, o qual pode ser usado como um teste para avaliar a existência de uma relação útil entre a variável resposta e pelo menos uma das variáveis regressoras em um modelo de regressão linear (Quinino; Reis; Bessegato, 1991). O Índice de Fiabilidade Inter-Taxas é relacionado à amplitude com que os avaliadores conseguem identificar dados diferentes em uma escala de medidas. Com isso é possível observar a tendência das avaliações, o que é um fator mais importante do que o valor absoluto atribuído por cada avaliador, bem como a variação entre as avaliações e a medida dos erros (Gisev; Bell; Chen, 2013).

Para a videira, já foram validadas escalas para o Oídio, adaptada por (Magalhães; Angelotti; Fernandes, 2010) descrita por Campbell e Madden (1990), para o Míldio da videira (Buffara et al., 2014) e o descritor OIV452 (OIV, 1997), para a Antracnose (Modesto et al., 2020), e para avaliações a campo de podridões em geral (Hill et al., 2010), não existindo uma escala específica para a podridão da uva madura nem para uso a campo ou para ensaios laboratoriais.

Até o presente momento, existe uma variedade de *V. amurensis* com um QTL de resistência para a podridão da uva madura mapeado. O QTL Cgr1 foi identificado no cromossomo 14 da variedade Shuang Hong, obtida através da população segregante de *V. vinifera* ‘Cabernet Sauvignon’ e *V. amurensis* ‘Shuang Hong’. O QTL Cgr1 pode explicar até 19,90% da variância fenotípica encontrada na população F_1 (Fu et al., 2019).

4. ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Os resultados obtidos foram inseridos nos quatro capítulos da Dissertação, que está estruturada da seguinte forma:

CAPÍTULO 1: DESCRIÇÃO DAS VARIEDADES UTILIZADAS NO ESTUDO

CAPÍTULO 2: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UMA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAÇÃO DA PODRIDÃO DA UVA MADURA

CAPÍTULO 3: ANÁLISE MORFOANATÔMICA DE BAGAS DE *Vitis* spp.

CAPÍTULO 4: SEVERIDADE DO *Colletotrichum* spp. EM VARIEDADES DE UVA E CORRELAÇÃO COM AS BARREIRAS MECÂNICAS DA FRUTA

REFERÊNCIAS

- AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia** v.1. São Paulo: Editora Ceres, 1995. p. 647-671.
- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; HIROSHI, K.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. 2011. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda.
- BARROS, F.C.; SAGATA, É.; FERREIRA, L.C. de C.; JULIATTI, F.C. 2010. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**. v.26, n.2, p.231-239. Disponível em: <<https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/download/7071/4684/27413>>. Acesso em: 17/11/22.
- BEZERRA, P.A. 2019. **Informatividade filogenética de marcadores moleculares para identificação de espécies do gênero Colletotrichum**. Dissertação (Mestre em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife-PE. Disponível em: <http://www.ppgf.ufrpe.br/sites/ww3.ppgf.ufrpe.br/files/documentos/dissertacaopriscila_alves_bezerra.pdf>. Acesso em: 16/09/22.
- BOCK, G.; BENDA, I.; SCHREIER, P. 1986. Biotransformation of Linalool by *Botrytis cinerea*. **Journal of Food Science**, v. 51, p. 659-662. Disponível em: <<https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1986.tb13904.x>>. Acesso em: 05/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1986.tb13904.x>
- BOIS, B.; ZITO, S.; CALONNEC, A. 2017. Climate vs grapevine pests and diseases worldwide: the first results of a global survey. **OENO One**, v. 51, n. 2, p. 133-139. Disponível em: <<https://oeno-one.eu/article/view/1780>>. Acesso em: 5/12/23. DOI: <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2017.51.2.1780>
- BUFFARA, C.R.S.; ANGELOTTI, F.; VIEIRA, R.A.; BOGO, A.; TESSMANN, D.J.; BEM, B.P. de. 2014. Elaboração e validação de uma escala diagramática para quantificação da severidade do míldio da videira. **Ciência Rural**. v. 44, n. 8, p. 1384-1391. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cr/a/tnfJkGTH9NPrv4T9pQnddj/?lang=en>>. Acesso em: 27/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131548>
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. 1990. **Introdução à epidemiologia de doenças de plantas**. Nova Iorque - NY. John Wiley & Sons. 532p.
- CARBONI, R.C.D. 2018. **Complexos de espécies de colletotrichum associados aos citros e a outras frutíferas no Brasil**. Tese (Doutora em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO FACULDADE DE CIENCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL, Jaboticabal - SP. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/154320/carboni_rcd_dr_jabo_int.pdf?sequence=6&isAllowed=y>. Acesso em: 13/09/22.

- CARVALHO, M.C.; HAMADA, E.; GARRIDO, L.R.; ANGELOTTI, F. 2011. Impactos nas mudanças climáticas sobre a distribuição espacial da podridão da uva madura em videira. **5º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica**. Campinas, SP. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/916347/1/2011AA40.pdf>> Acesso em: 01/11/22.
- CASADO, C.G.; HEREDIA, A. 2008. Ultrastructure of the cuticle during growth of the grape berry (*Vitis vinifera* L.). **Physiologia Plantarum**, v. 111, n. 2, p. 220-224. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1399-3054.2001.1110213.x>>. Acesso em: 02/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1110213.x>
- CASTRO, L.A.S. de; SANHUEZA, R.M.V.; CANTILLANO, R.F.F.; ROCHA, N. E.M. 2002. Metodologia para observação da camada de cera em maçãs, utilizando microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 24, n.3, p. 774-775. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbf/a/3JWWbCtNFNSgBvhBJ4tDtLz/?lang=pt>>. Acesso em: 20/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452002000300053>
- CHAMBERS, T.C.; POSSINGHAM, J.V. 1963. Studies of the Fine Structure of the Wax Layer of Sultana Grapes. **Aust. J. Biol. Sci.**, v. 16, n. 4, p. 818-825. Disponível em: <<https://www.publish.csiro.au/bi/BI9630818>>. Acesso em: 13/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1071/BI9630818>
- CHAVARRIA, G.; SANTOS, H.P. 2013. Cultivo protegido de videira: manejo fitossanitário, qualidade enológica e impacto ambiental. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 35, n. 3, p. 910-918. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbf/a/T5BS9CmQC8Jq77vQcThshDg/?lang=pt>>. Acesso em: 07/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000300031>
- COMMENIL, P.; BRUNET, L.; AUDRAN, J.C. 1997. The development of the grape berry cuticle in relation to susceptibility to bunch rot disease, **Journal of Experimental Botany**, v. 48, n. 8, p. 1599–1607. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jxb/article/48/8/1599/501901>>. Acesso em: 13/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/48.8.1599>
- DAMM, U; CANNON, P.F; WOUDEMBERG, J. H. C; CROUS, P. W. 2012. The *Colletotrichum acutatum* Species Complex. **Studies in Mycology**. v. 73, n. 1, p. 37-113. Disponível em: <<https://www.ingentaconnect.com/content/wfbi/sim/2012/00000073/00000001/art00005;jsessionid=snlo18j0hwtp.x-ic-live-03>>. Acesso em: 3/12/23. DOI: <https://doi.org/10.3114/sim0010>
- DAYKIN, M.E.; MILHOLLAND, R.D. 1984. Ripe Rot of Muscadine Grape Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* And Its Control. **Phytopathology**, 74: 710-714. Disponível em: <<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19841301841>>. Acesso em: 20/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1094/Phyto-74-710>
- DOWLING, M.; PERES, N.; VILLANI, S.; SCHNABEL, G. 2020. Managing *Colletotrichum* on Fruit Crops: A “Complex” Challenge. **Plant Disease**, v. 104, n. 9, p. 2301-2316. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-11-19-2378-FE>>. Acesso em: 09/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2378-FE>

ECHEVERRIGARAY, S.; SCARIOT, F. J.; FONTANELLA, G.; FAVARON, F.; SELLA, L.; SANTOS, M. C.; SCHWAMBACH, J.; PEDROTTI, C.; DELAMARE, A. P. L. 2020. *Colletotrichum* species causing grape ripe rot disease in *Vitis labrusca* and *V. vinifera* varieties in the highlands of southern Brazil. **Plant Pathology**, v. 69, n. 8, p. 1504-1512. Disponível em: <<https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppa.13240>>. Acesso em: 28/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.13240>

FU, P.; TIAN, Q.; LAI, G.; LI, R.; SONG, S.; LU, J. 2019. Cgr1, a ripe rot resistance QTL in *Vitis amurensis* ‘Shuang Hong’ grapevine. **Horticulture Research**, v. 6, n. 67. Disponível em: <<https://academic.oup.com/hr/article/doi/10.1038/s41438-019-0148-0/6437852>>. Acesso em: 25/10/23. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0148-0>

GARRIDO, L. da R.; SÔNEGO, R.O. 2004. Podridão da uva madura ou podridão de glomerella – biologia, epidemiologia e controle. Bento Gonçalves, RS. Dezembro. **Circular Técnica**. ISSN 1808-6810. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/541420/1/cir052.pdf>>. Acesso em: 10/11/22.

GISEV, N.; BELL, J.S.; CHEN, T.F. 2013. Interrater agreement and interrater reliability: Key concepts, approaches, and applications. **Research in Social and Administrative Pharmacy**, v. 9, n. 3, p. 330–338, ISSN 1551-7411. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1551741112000642?via%3Dihub>>. Acesso em: 12/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sapharm.2012.04.004>

GOMES, F.B.; MORAES, J.C.; SANTOS, C.D. dos; ANTUNES, C.S. 2008. Uso de silício como indutor de resistência em batata a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**. v. 37, n. 2, p. 185-190. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/ne/a/K5YFdkmyDJhHrxDR8kSW7pF/?lang=pt>>. Acesso em: 28/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2008000200013>

GUERCHE, S.L.; DAUPHIN, B.; PONS, M.; BLANCARD, D.; DARRIET, P. 2006. Characterization of Some Mushroom and Earthy Off-Odors Microbially Induced by the Development of Rot on Grapes. **J. of Agric. Food Chem**, v. 54, n. 24, p. 9193-9200. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0615294>>. Acesso em: 03/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0615294>

HANLIN, R.T. 1998. **Combined Keys to Illustrated Genera of Ascomycetes**. Vols. I and II. St. Paul MN, USA. APS Press.

HILL, G.N.; BERESFORD, R.M.; EVANS, K.J. 2010. Tools For Accurate Assessment of Botrytis Bunch Rot (*Botrytis cinerea*) on Wine Grapes. **New Zealand Plant Protection**, v. 63, p. 174-181. Disponível em: <<https://journal.nzpps.org/index.php/nzpp/article/view/6560>>. Acesso em: 13/11/23. DOI: <https://doi.org/10.30843/nzpp.2010.63.6560>

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2021. **Produção de Uva**. Disponível em: <Produção de Uva em Santa Catarina | IBGE>. Acesso em: 12/04/23.

JAYAWARDENA, R.S.; HYDE, K.D.; FARIAS, A.R.G. de; BHUNJUN, C.S.; FERDINANDEZ, H.S.; MANAMGODA, D.S.; UDAYANGA, D.; HERATH, I.S.;

THAMBUGALA, K.M.; MANAWASINGHE, I.S.; GAJANAYAKE, A.J.; SAMARAKOON, B.C.; BUNDHUN, D.; GOMDOLA, D.; HUANRALUEK, N.; SUN, Y.-R.; TANG, X.; PROMPUTTHA, I.; THINES, M. 2021. What is a species in fungal plant pathogens? **Fungal Diversity**, v. 109, p. 239-266. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13225-021-00484-8#citeas>>. Acesso em: 27/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00484-8>

JUNIOR, B.V.; AUER, C.G.; WOLF, N.I. 2021. Características morfológicas e fisiológicas de isolados de *Colletotrichum* spp., associados à antracnose da erva-mate. **BIOFIX Scientific Journal**. v. 6 n. 2 p. 120-126. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/biofix/article/view/78851>>. Acesso em: 20/12/23. DOI: <https://doi.org/10.5380/biofix.v6i2.78851>

LIN, L.I-K. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics**, v. 45, n. 1, p. 255-268, 1989. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/2532051?casa_token=a2I34XPOXEUAAAAA%3A8p4YZJ_eXBhDQMZOZB-DyOdNhgrz3B8fbXqyiBzVdgPvc0AAXU89SF2X-0ATe4fRNQpCLclyvwIW4IUXg4T9_rDLsm6tSfg3OXr3vjlgA4wamI55g&seq=1>. Acesso em: 03/12/23. DOI: <https://doi.org/10.2307/2532051>

LOPES, L.N. da S.; SILVA, A.S.; PEREIRA, C.C. de O.; MENEZES, I.P.P. de; MALAFAIA, G.; LIMA, M.L. da P. 2015. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal**. v. 1, n. 1, p. 106-114. Disponível em: <<https://periodicos.ifgoiano.edu.br/index.php/multiscience/article/view/46/35>>. Acesso em: 03/11/22. DOI: <https://doi.org/10.33837/msj.v1i1.46>

MAGALHÃES, E.E.; ANGELOTTI, F.; FERNANDES, H. A. 2010. Favorabilidade das condições climáticas a ocorrência da ferrugem da videira no submédio do Vale do São Francisco. **Congresso Brasileiro de Fruticultura**. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/910839/3/Fran9.pdf>>. Acesso em: 28/11/23.

MEDEIROS, L.V. de. 2008. **Gene pelB em isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de vários hospedeiros**. Dissertação (Mestre) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, 2008. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/441/2/LVM.pdf>>. Acesso em: 13/09/22.

MENDGEN, K. 1996. Fungal attachment and penetration. **BIOS**, p. 175-188.

MEUNIER, M.; STEEL, C. C. 2009. Effect of *Colletotrichum acutatum* ripe rot on the composition and sensory attributes of Cabernet Sauvignon grapes and wine. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 15, p. 223-227. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1755-0238.2009.00048.x>>. Acesso em: 10/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2009.00048.x>

MIELE, A.; RIZZON, L.A. 2013. Physicochemical composition of Cabernet-Sauvignon wine made from grapes affected by grape ripe rot. **J. Int. Sci. Vigne Vin.**, v. 47, n. 3, p. 195-202.

Disponível em: <<https://oeno-one.eu/article/view/1551>>. Acesso em: 09/12/23. DOI: <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2013.47.3.1551>

MILHOLLAND, R.D. 1994. Ripe rot. In: PEARSON, R.C.; GOHEEN, A. eds. **Compendium of grape diseases**. APS PRESS. St. Paul. p. 23-24.

MODESTO, L.R., STEINER, D.R.M., MENON, J.K.; NODARI, R.O.; WELTER, L.J.; SILVA, A.L. da. Standard area diagram set for anthracnose severity on grapevine bunches and shoots. **Australasian Plant Pathol.** **49**, 561–569 (2020). Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13313-020-00728-2>>. Acesso em: 05/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13313-020-00728-2>

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. 1992. Phenolic Compounds and Their Role in Disease Resistance. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 30, p. 369-389. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.py.30.090192.002101?casa_token=BjWEMXRyORgAAAAA%3A1CApuyv5Yve3QALqihorlOzx7nk3pGOBdMBJ-45LOt4VXyFM6JcgHAeQRLs2aGpUuVBtdScNGsZZ&journalCode=phyto>. Acesso em: 05/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.py.30.090192.002101>

NUNAN, K.J.; SIMS, I.M.; BACIC, A.; ROBINSON, S.P.; FINCHER, G.B. 1997. Isolation and characterization of cell walls from the mesocarp of mature grape berries (*Vitis vinifera*). **Planta**, v. 203, p. 93-110. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00050169>>. Acesso em: 20/10/23. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00050169>

NUTTER JUNIOR, F.W.; TENG, P.S.; SHOKES, F.M. 1991. Disease assessment terms and concepts. **Plant Disease**, v. 75, n. 11, p. 1187-1188. Disponível em: <<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19912313922#core-collateral-purchase-access>>. Acesso em: 17/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1094/PD-75-1187>

OLIVEIRA, B.F. 2017. **Identificação da espécie de Colletotrichum causadora da antracnose em jiló e avaliação do controle da doença com quitosana em pós-colheita**. Tese (Doutor em Fitopatologia) - Universidade de Brasília, Brasília – DF. Disponível em: <<http://icts.unb.br/jspui/handle/10482/31349>> Acesso em: 14/09/22.

ONU - Organização das Nações Unidas - Brasil. 2015. **Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável**. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/91863-agenda-2030-para-o-desenvolvimento-sustent%C3%A1vel>>. Acesso em: 10/04/23.

PÖRTNER, H.-O.; ROBERTS, D.C.; TIGNOR, M.; POLOCZANSKA, E.S.; MINTENBECK, K.; ALEGRÍA, A.; CRAIG, M.; LANGSDORF, S.; LÖSCHKE, S.; MÖLLER, V.; OKEM, A.; RAMA, B. (eds.). IPCC, 2022: Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. **Cambridge University Press**. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, 3056 pp.. DOI: <https://doi.org/10.1017/9781009325844>.

PRATISSOLI, D.; ALMEIDA, G.D. de; JESUS JUNIOR, W.C.; VICENTINI, V.B.; HOLTZ, A.M.; COCHETO, J.G.. 2007. Fertilizante organomineral e argila silicatada como indutores

de resistência à varíola do mamoeiro. **Idesia (Arica)**. vol. 25, n.2, p. 63-67. Disponível em: <https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292007000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 06/12/23. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292007000200008>

QUININO, R.C.; REIS, E.A.; BESSEGATO, L.F. 1991. **O coeficiente de determinação R² como instrumento didático para avaliar a utilidade de um modelo de regressão linear múltipla**. Belo Horizonte: UFMG. 14p.

R CORE TEAM. 2023. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 10/04/23.

ROSENQUIST, J.K.; MORRISON, J.C. 1989. Some Factors Affecting Cuticle and Wax Accumulation on Grape Berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 40, n. 4, p. 241-244. Disponível em: <<https://www.ajevonline.org/content/40/4/241>>. Acesso em: 15/11/23. DOI: <https://doi.org/10.5344/ajev.1989.40.4.241>

RUSTIONI, L.; MAGHRADZE, D.; FAILLA, O. 2012. Optical Properties of Berry Epicuticular Waxes in Four Georgian Grape Cultivars (*Vitis vinifera* L.) **S. Afr. J. Enol. Vitic.**, v. 33, n. 2. Disponível em: <<https://www.journals.ac.za/index.php/sajev/article/view/1111>>. Acesso em: 05/01/24. DOI: <https://doi.org/10.21548/33-2-1111>

SCHNEIDER, A.; KALTBACH, P.; COSTA, V.B. 2021. Variedades de uva PIWI Pelotas. **XXX CIC - Congresso de Iniciação Científica - Universidade Federal de Pelotas**. Disponível em: <https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2021/CA_02681.pdf>. Acesso em: 04/11/22.

SOUTHWORTH, E.A. 1891. Ripe Rot of Grapes and Apples. **The Journal of Mycology**, v. 6, n. 4, p. 164-173. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/3752659>>. Acesso em: 22/11/23. DOI: <https://doi.org/10.2307/3752659>

SOUZA, J.S.I. 1996. **Uvas para o Brasil. Piracicaba: FEALQ**. 791p.
STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. 2011. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-18. Disponível em: <<https://e-revista.unioeste.br/index.php/scientiaagraria/article/view/5268/3929>>. Acesso em: 30/11/2023. DOI: <https://doi.org/10.18188/sap.v10i1.5268>

STEEL, C.C.; BLACKMAN, J.W.; SCHMIDTKE, L.M. 2013. Grapevine Bunch Rots: Impacts on Wine Composition, Quality, and Potential Procedures for the Removal of Wine Faults. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 22, p. 5189-5206. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf400641r>>. Acesso em: 17/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf400641r>

TONINI, H.; LAVANDOSKI, J.; CARLOTTO, O.B.; MARTINS, B. de A. 2021. Formação superior e desenvolvimento do enoturismo no Brasil. **RITUR-Revista Iberoamericana de Turismo**, v. 11, n. 2, p. 247-266. Disponível em: <<https://www.seer.ufal.br/index.php/ritur/article/view/11901>>. Acesso em: 16/12/23. DOI: <https://doi.org/10.2436/20.8070.01.228>.

- VIANNA, L.F.; MASSIGNAN, A.M.; PANDOLFO, C.; DORTZBACH, D.; VIEIRA, V.F. 2016. **Caracterização agronômica e edafoclimática dos vinhedos de elevada altitude. Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 15, n. 3, p. 215-226. Disponível em: <<https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/223811711532016215>>. Acesso em: 03/01/24. DOI: <https://doi.org/10.5965/223811711532016215>
- WALTON, T.J.; KOLATTUKUDY, P.E. 1972. Determination of the structures of cutin monomers by a novel depolymerization procedure and combined gas chromatography and mass spectrometry. **Biochemistry**, v. 11, n. 10, p. 1885-1897. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi00760a025>>. Acesso em: 27/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi00760a025>
- WÜRZ, D.A. 2018. Análise da comercialização de vinhos finos e de mesa no Brasil. **Journal of Agronomic Sciences**. Umuarama, v.7, n. especial, p.43-49. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/327843683_ANALISE_DA_COMERCIALIZACAO_DE_VINHOS_FINOS_E_DE_MESA_NO_BRASIL>. Acesso em: 03/11/23.
- ZANUS, M.C. 2015. **Panorama da viticultura brasileira**. Bento Gonçalves. 2015. In: XV Congresso Latino-Americano de Viticultura e Enologia. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136794/1/Zanus-artigo.pdf>>. Acesso em: 10/04/23.

5. CAPÍTULO 1 - DESCRIÇÃO DAS VARIEDADES UTILIZADAS NO ESTUDO

5.1 INTRODUÇÃO

As variedades denominadas PIWI, são consideradas da espécie *Vitis vinifera* por possuírem mais de 90% do genoma de variedades viníferas, restando apenas o gene de resistência das variedades americanas e/ou asiáticas. As PIWI são resultantes de cruzamentos entre variedades americanas e ou asiáticas, de onde advém sua resistência a patógenos e viníferas, contribuindo para a alta qualidade enológica. Além disso, tais variedades por possuírem alto grau de resistência a patógenos como míldio e oídio, contribuem na redução do uso de fungicidas (Souza, 2018).

As variedades PIWI selecionadas para o presente estudo fazem parte de um projeto maior em parceria com institutos nacionais e internacionais, sendo estudadas pelo grupo de pesquisa há alguns anos. Tais variedades possuem grande potencial enológico e econômico no Brasil, vista a qualidade enológica e a resistência à doenças com grande incidência no país.

Dessa forma, o objetivo deste capítulo é descrever traços morfológicos e de resistência dessas variedades, assim como a genealogia de onde provém o background genético dessas variedades.

5.2 DESCRIÇÃO DAS VARIEDADES

5.2.1 Calardis Blanc

Calardis Blanc é uma variedade de *V. vinifera* originária da Alemanha e criada por Rudolf Eibach e Reinhard Töpfer, pesquisadores do Julius Kühn-Institut (JKI). Os parentais da variedade, Calardis Musque e Seyve Villard 39-639, foram comprovados através de marcadores moleculares. A variedade é protegida desde 2018 e seu código de registro no Catálogo Internacional de Variedades de *Vitis* spp. (VIVC) é 22828.

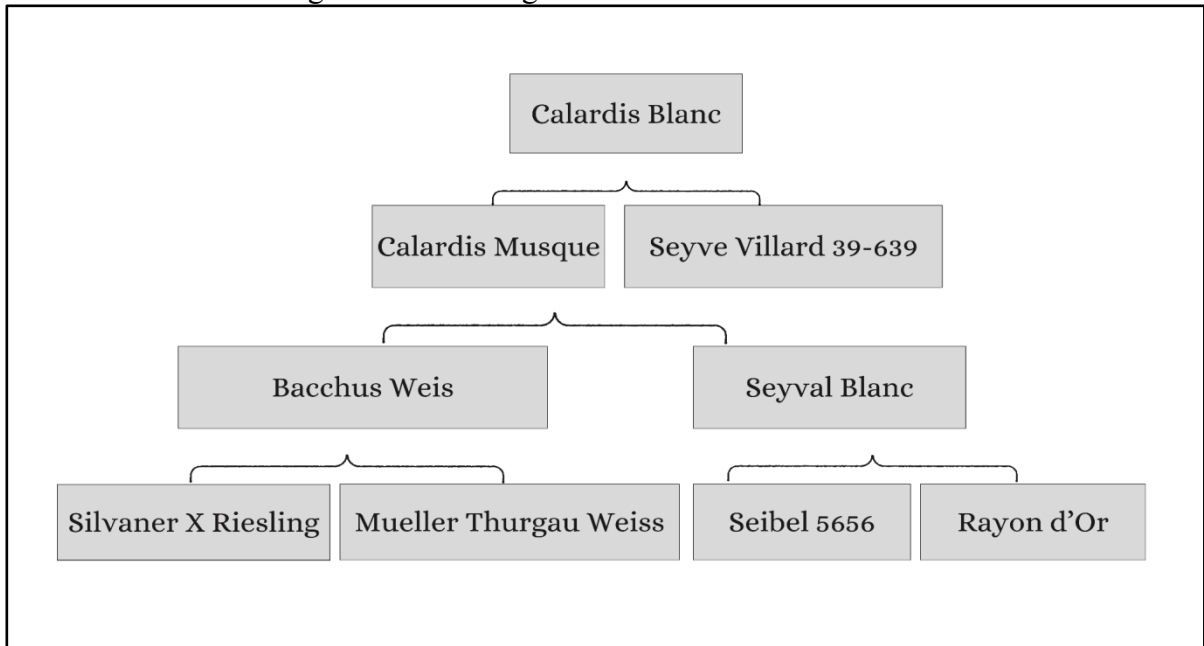
Possui alelos resistentes piramidados, sendo eles o *Ren3* e *Ren9*, de resistência ao oídio (*Erysiphe necator*) e os alelos *Rpv3.1* e *Rpv3.2* relacionados a resistência ao patógeno causador do míldio da videira (*Plasmopara viticola*) (Maul et al., 2024). Apresenta resistência baixa a antracnose (Dias et al., 2022) e susceptibilidade a podridão da uva madura (Hilha et al., 2024).

Possui a baga de coloração branca, tamanho mediano e estrutura de cacho solto semelhante ao parental Riesling (Höfer, 2018).

A variedade Calardis Blanc demonstra excelente adaptação em condições de alta altitude catarinense. Em estudos conduzidos por Giovanni et al. (2023) foi observado que a Calardis Blanc apresenta brotação intermediária, geralmente ocorrendo na primeira semana de setembro, em regiões de elevada altitude, possuindo um período mais prolongado entre a floração e o *veraison*, estendendo-se por cerca de 80 dias. Nessas áreas, a variedade tende a apresentar uma produtividade média de 14,8 toneladas por hectare, exibindo um alto número de cachos. Comparativamente às variedades Felicia e Helios, o estudo constatou que a Calardis Blanc possui uma menor concentração de polifenóis totais quando cultivada em altitudes elevadas de Santa Catarina, aproximadamente 221,6 mg L⁻¹. Quanto ao teor de açúcar (Brix), as uvas desta variedade mostraram-se com uma concentração inferior às demais, porém se mantendo entre as altitudes, registrando 16,9 °Brix a 840 metros e 18,3 °Brix a 1250 metros. O padrão de brotação tardio desta variedade, revela uma vantagem em evitar danos causados por geadas tardias, comuns nessas regiões.

Resultados semelhantes foram encontrados por Souza et al. (2019) e Brighenti et al. (2019) identificando uma brotação intermediária da variedade Calardis Blanc, com altos índices de produtividade e adaptação às regiões de alta altitude catarinense.

Figura 1 - Genealogia da variedade Calardis Blanc



Fonte: Adaptado de Maul et al. (2024)

Figura 2 - Aspectos morfológicos da variedade Calardis Blanc



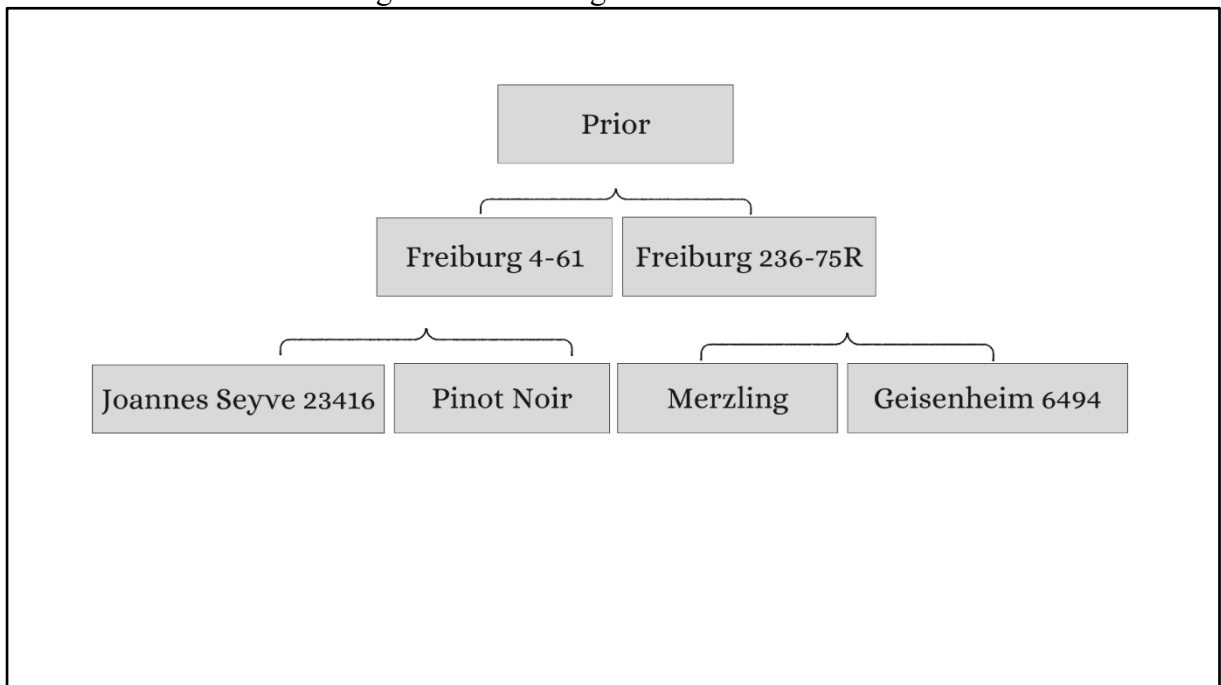
Fonte: Maul et al. (2024)

5.2.2 Prior

A variedade vinífera Prior também foi criada na Alemanha por Norbert Becker e a linhagem disponível pelo criador na plataforma VIVC ainda não possui comprovação molecular, sendo elas Freiburg 4-61 e Freiburg 236-75. É protegida desde 2004 e seu código na plataforma é 19993. Possui os alelos *Ren3*, *Ren9*, *Rpv3.1* e *Rpv3.3* piramidados para resistência ao oídio e míldio, respectivamente (Maul et al., 2024). Apresenta resistência intermediária à antracnose (Dias et al., 2022) e baixa suscetibilidade à podridão da uva madura (Hilha et al., 2024). A variedade possui bagas de tamanho médio e coloração vermelha forte, que formam cachos compactos de alto vigor e rendimento (GROUP ICV, 2012).

A variedade Prior possui resistência à antracnose (*Elsinoe ampelina*) e à podridão negra, causada pelo patógeno *Phyllosticta ampellicida*, devido à presença da cultivar Merzling em seu pedigree, assim como a variedade Bronner. A brotação desta variedade é classificada como média/tardia, o que a protege de geadas tardias (Bavaresco et al., 2023).

Figura 3 - Genealogia da variedade Prior



Fonte: Adaptado de Maul et al. (2024)

Figura 4 - Aspectos morfológicos da variedade Prior



Fonte: Maul et al. (2024)

5.2.3 Regent

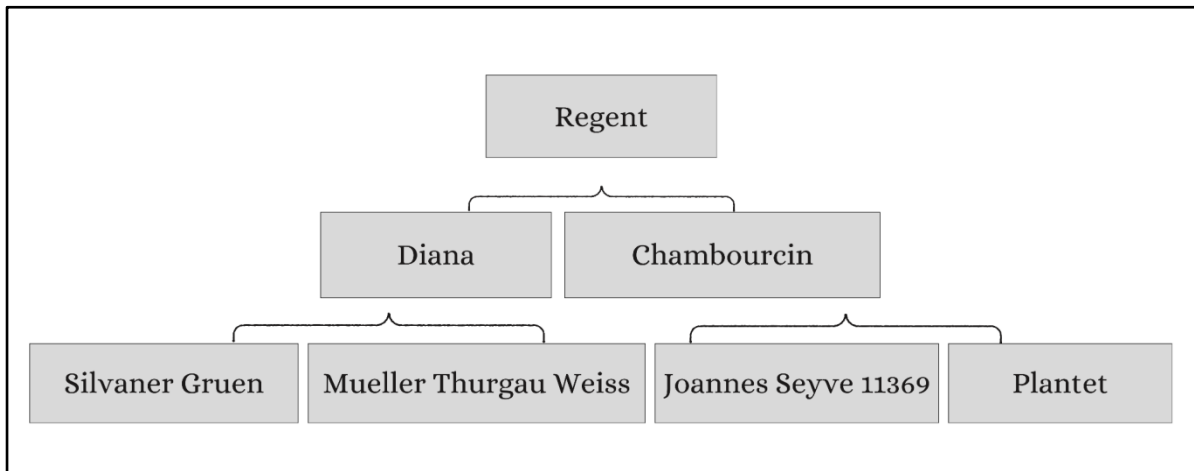
A variedade Regent de *V. vinifera* foi criada por Gerhardt Alleweldt, pesquisador do Julius Kühn-Institut (JKI) na Alemanha. Possui como parentais as variedades Diana e Chambourcin, com pedigree confirmado por meio de marcadores moleculares, além de possuir alelos de resistência ao oídio e míldio, sendo eles *Ren3*, *Ren9* e *Rpv3.1*.

A variedade é protegida desde 1994 e seu código na plataforma é 4572 (Maul et al., 2024). Regent é a primeira variedade de uva intitulada de PIWI e possui a piramidação de alelos de resistência ao míldio e ao oídio. Apresenta resistência intermediária à antracnose (Dias et al., 2022). É amplamente cultivada na Alemanha e possui bagas de coloração vermelha forte e estruturação do cacho designada de solta.

Assim como Calardis Blanc, Felicia e Helios, a Regent apresenta boa adaptação ao estado de Santa Catarina dependendo da altitude (Höfer, 2018; Schneider; Kaltbach; Costa, 2021). A variedade é altamente resistente ao míldio da videira em plantios no sul do Brasil, exibindo um atraso no aparecimento dos sintomas e na agressividade do patógeno. No mesmo

estudo, altos índices de polifenóis foram encontrados em Regent, podendo estar relacionados a níveis mais elevados de resistência (De Bem et al., 2016).

Figura 5 - Genealogia da variedade Regent



Fonte: Adaptado de Maul et al. (2024)

Figura 6 - Aspectos morfológicos da variedade Regent



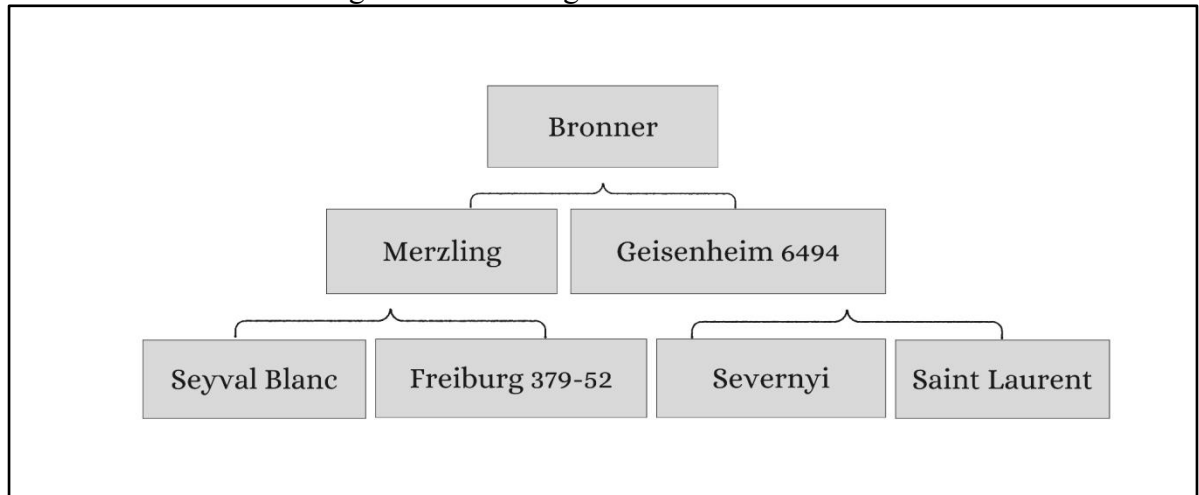
Fonte: Maul et al. (2024)

5.2.4 Bronner

A variedade vinífera Bronner foi criada na Alemanha pelo pesquisador Norbert Becker e contém a piramidação dos alelos de resistência ao oídio e o míldio *Ren3*, *Ren9*, *Rpv3.3* e *Rpv10*, sendo designada uma variedade PIWI. Apresenta resistência intermediária à antracnose (Dias et al., 2022) e suscetibilidade à podridão da uva madura (Hilha et al., 2024). Possui como parentais os genótipos Merzling e Geisenheim 6494, sem confirmação do pedigree completo por meio de marcadores moleculares. Seu código de identificação no Catálogo Internacional de Variedades de Videira é 17129 (Maul et al., 2024). A variedade Bronner possui as bagas de coloração branca e apresenta alto vigor e rendimento (GROUPE ICV, 2012).

Embora a variedade Bronner apresenta brotação geralmente após a variedade Calardis Blanc, no início de setembro, o que constitui uma característica vantajosa para evitar danos causados por geadas tardias, comuns nas regiões do sul do Brasil, onde não são recomendadas variedades com brotação precoce para áreas de alta altitude em Santa Catarina. Além disso, é menos produtiva em termos de número e peso de cachos por planta em relação às variedades testadas Calardis Blanc, Aromera, Helios e Felicia. Embora essa morfoanatomia do cacho da variedade Bronner seja relevante para prevenir a ocorrência de condições microclimáticas que favorecem a podridão dos cachos, causada pelo patógeno *Botrytis cinerea*, isto é, cachos mais soltos, a variedade é suscetível a esta doença, necessitando de colheita antecipada, o que pode aumentar os teores de acidez tanto na uva quanto no vinho (Brighenti et al., 2019).

Figura 7 - Genealogia da variedade Bronner



Fonte: Adaptado de Maul et al. (2024)

Figura 8 - Aspectos morfológicos da variedade Bronner



Fonte: Maul et al. (2024)

5.2.5 PI 4407 - variedade cultivada de *Vitis shuttleworthii*

Por fim, *V. shuttleworthii* é uma espécie de videira silvestre originária dos Estados Unidos da América (EUA). Populações dessa espécie possuem maior resistência ao míldio, oídio, a podridão da uva madura e a outras doenças fúngicas comuns na América, em comparação com variedades europeias; porém, a espécie ainda não possui genes mapeados ou piramidados para a podridão da uva madura. Variedades da espécie *V. shuttleworthii* têm sido cultivadas em Santa Catarina, uma dessas populações apresenta bagas de coloração tinta e seu código no BAG da Epagri é PI4407. Em testes de inoculação, bagas da PI4407 apresentaram resistência à podridão da uva madura, independente do método utilizado (Hilha et al., 2024; Maul et al., 2024).

Figura 9 - Aspectos morfológicos da espécie *V. shuttleworthii*



Fonte: Nodari (2023)

Tabela 1: Genes de resistência, genealogia e origem das variedades e seleções

VARIEDADE	ALELOS DE RESISTÊNCIA À DOENÇAS	GENEALOGIA	COR DA BAGA	ORIGEM/ INSTITUTO
BRONNER	<i>Ren3; Ren9; Rpv3.3; Rpv10</i>	Merzling X Geisenheim 6494	Branca	Staatliches Weinbauinstitut Freiburg Abteilung Weinbau, Germany
PRIOR	<i>Ren3; Ren9; Rpv3.1; Rpv3.3</i>	Freiburg 4-61 X Freiburg 236-75 Pedigree not confirmed by markers	Tinta	Staatliches Weinbauinstitut Freiburg Abteilung Weinbau, Germany
REGENT	<i>Ren3; Ren9; Rpv3.1</i>	Diana X Chambourcin	Tinta	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Germany
CALARDIS BLANC	<i>Ren3; Ren9; Rpv3.1; Rpv3.2</i>	Calardis Musque X Seyve Villard 39-639	Branca	Julius Kühn-Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Germany
<i>Vitis shuttleworthii</i>	-	-	Tinta	PI4407, EPAGRI

Fonte: Maul *et al.* (2024)

REFERÊNCIAS

- DIAS, A.H.; MODESTO, L.R.; STEINER, D.R.M.; SOUZA, A.L.K. de; DAL VESCO, L.L.; WELTER, L.J.; NODARI, R.O. 2022. Anthracnose susceptibility for grapevines with resistance loci to downy and powdery mildew in Southern Brazil. **Vitis**, v. 61, n. 3, p. 93-100. Disponível em: <<https://ojs.openagrar.de/index.php/VITIS/article/view/16591>>. Acesso em: 20/12/23. DOI: <https://doi.org/10.5073/vitis.2022.61.93-100>.
- GROUPE ICV. 2012. **Guide Technique: Les Cépages Résistants**. Disponível em: <Groupe ICV | Services aux entreprises viti-vinicoles>. Acesso em: 07/11/22.
- HÖFER, M., 2018. Calardis blanc: fruity wine style with decent bouquet. **Flyer aus dem JKI**. Disponível em: <https://www.openagrar.de/receive/openagrar_mods_00052328>. Acesso em: 10/11/23. DOI: <https://doi.org/10.5073/jki.2018.003>
- HILHA, A.; ANDRADE, C.E.L.; BURIN, M.R.; MEDEIROS, R.F.; ALMEIDA, M.P.; ORLANDI, F.B.; FREITAS, F.R.; DALBÓ, M.A.; SOUZA, A.L.K. de; MAY-DE-MIO, L.L.; NODARI, R.O. 2024. *Vitis* species and varietal resistance of mature berries against inoculation of an isolate of the *Colletotrichum acutatum* complex that causes grape ripe rot. **Acta Hortic.** 1385, 95-102. Disponível em: <https://www.actahort.org/books/1385/1385_13.htm>. Acesso em: 05/12/23 DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2024.1385.13>
- MAUL *et al.* 2024. **Vitis International Variety Catalogue**. Disponível em:<www.vivc.de>. Acesso em: 10/02/24.
- SCHNEIDER, A.; KALTBACH, P.; COSTA, V.B. 2021. Variedades de uva PIWI Pelotas. **XXX CIC - Congresso de Iniciação Científica - Universidade Federal de Pelotas**. Disponível em: <https://cti.ufpel.edu.br/siepe/arquivos/2021/CA_02681.pdf>. Acesso em: 04/11/22.
- SOUZA, A.L.K. de. 2018. **Pesquisa da Epagri sobre uvas viníferas resistentes a doenças promete revolucionar mercado**. Disponível em: <<https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/RAC/issue/download/10/46>>. Acesso em: 05/06/18.

6. CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UMA ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA PODRIDÃO DA UVA MADURA

RESUMO

O manejo eficiente de doenças visando prevenir e minimizar danos requer o uso de ferramentas analíticas, entre elas, a escala diagramática (ED). Essas ferramentas são essenciais para análise fenotípicas, mapeamento genético, manejo integrado e estudos epidemiológicos. A eficácia de um modelo de quantificação de danos e sintomas no controle de doenças, como a ED, depende da acurácia e precisão, avaliadas por índices estatísticos como Coeficiente de Correlação Intraclasse, Coeficiente de Correlação de Lin, Fiabilidade Inter-Taxas, Coeficiente de Determinação R^2 e Aderência ao Erro absoluto. Até agora, não foi desenvolvida uma ED específica para avaliação fenotípica da podridão da uva madura em condições controladas. O objetivo deste capítulo foi criar e validar uma ED específica para essa doença, destinada ao uso em laboratório. Desse modo, a ED foi desenvolvida em software RStudio, a partir de fotos de bagas com distintas porcentagens da doença. O software calculou com base na lei de Weber-Fechner de acuidade visual os limites inferiores, superiores e os níveis intermediários da escala, gerando uma escala com 12 níveis de doença. Para a validação da ED, 24 bagas de distintos genótipos foram esterilizadas e inoculadas com uma suspensão de conídios dos isolados GL_VI_19 e GL_CU_47 de *Colletotrichum*. Ao décimo dia, as bagas foram avaliadas por 13 avaliadores aleatórios que deram uma nota em porcentagem da área de doença na baga infectada, com e sem o auxílio da ED desenvolvida. Os dados foram compilados e lançados no *software* R para análise estatística. A Correlação de Concordância de Lin das variedades brancas, mostra que a avaliação de severidade da doença nas variedades de coloração branca com o auxílio da ED, foi mais precisa e acurada do que sem o auxílio da ED desenvolvida, demonstrando a qualidade de ajuste do modelo desenvolvido e a importância de um referencial, que nesse caso foi a ED desenvolvida. O Coeficiente de Determinação R^2 , revelou que as avaliações foram maiores com a ED do que sem ela, possuindo o valor próximo a 1. O coeficiente de determinação R^2 das variedades de uva tinta, apresentou em todos os avaliadores, maior valor com a ED do que sem ela, demonstrando que o modelo precisa de ajustes para avaliação da podridão da uva madura em bagas de coloração tinta. Por fim, o Coeficiente de Determinação R^2 das variedades de uva rosé apresentou para a maioria dos avaliadores valores de R^2 iguais nas avaliações com e sem o auxílio da ED, demonstrando que o modelo precisa de ajustes para bagas de coloração rosada. Por meio do Coeficiente de Correlação Intraclasse, foi constatado que, em geral, o grupo de variedades de bagas brancas com a escala, apresentou um bom valor de Fiabilidade. Por meio do índice de Fiabilidade Inter-Taxas nota-se que a amplitude das análises sem a ED foi maior que a amplitude das análises com a ajuda da ED. Por fim, os valores de Aderência ao Erro Absoluto de todos os avaliadores foram mais precisos com a ajuda da escala diagramática, comparativamente ao não uso dela. Dessa forma, percebe-se que o modelo desenvolvido possui boa precisão e acurácia, principalmente em bagas de coloração branca e poderá ser útil nos estudos com a podridão da uva madura.

Palavras-chave: *Vitis*, Acurácia, Grape ripe rot, Precisão, *Colletotrichum*, Fenotipagem.

ABSTRACT

Efficient disease management to prevent and minimize damage requires analytical tools, including the diagrammatic scale (DS). These tools are essential for phenotypic analyses, genetic mapping, integrated management and epidemiological studies. The effectiveness of a model for quantifying damage and symptoms in controlling diseases, such as DS, depends on accuracy and precision, evaluated by statistical indices such as Intraclass Correlation Coefficient, Lin Correlation Coefficient, Inter-Rate Reliability, Coefficient of Determination R^2 and Absolute Error Adherence. Until now, a specific DS for phenotypic evaluation of ripe grape rot under controlled conditions has not been developed. The objective of this chapter was to create and validate a specific DS for this disease, intended for use in the laboratory. Therefore, the DS was developed in R software, based on photos of berries with different percentages of the disease. The software calculated, based on the Weber-Fechner law of visual acuity, the lower, upper limit and intermediate levels of the scale, generating a scale with 12 disease levels. To validate the DS, 24 berries of different genotypes were sterilized and inoculated with a suspension of conidia of the GL_VI_19 and GL_CU_47 isolated. On the tenth day, the berries were evaluated by 13 random evaluators who gave a score as a percentage of the disease area in the infected berry, with and without the help of the developed scale. The data was compiled and inputted into R software for statistical analysis. Lin's Concordance Correlation of white varieties shows that the assessment of disease severity in white varieties with the aid of the scale was more precise and accurate than without the aid of the developed DS, demonstrating the quality of adjustment of the developed model and the importance of a reference, which in this case was the developed DS. The coefficient of determination R^2 revealed that the evaluations were higher with the DS than without it, with a value close to 1. The Coefficient of determination R^2 of red grape varieties presented a higher value in all evaluators with DS than without it, demonstrating that the model needs adjustments to evaluate ripe grape rot in red-colored berries. Finally, the coefficient of determination R^2 of rosé grape varieties presented equal R^2 values to most evaluators in evaluations with and without the aid of DS, demonstrating that the model needs adjustments for rose-colored berries. Using the Intraclass Correlation Coefficient, it was found that, in general, the white-colored berries assessment group with the scale presented a good reliability value. Using the Inter-Rate Reliability index, it was noted that the range of analyses without DS was greater than the range of analyses with the help of DS. Overall, in the analysis of Adherence to Absolute Error all evaluators were more accurate with the help of the diagrammatic scale, comparatively without its use. Therefore, the developed DS has good precision and accuracy, especially in white berries, and can be routinely used in grape ripe rot studies.

Keywords: *Vitis*, Accuracy, Grape ripe rot, Precision, *Colletotrichum*, Phenotyping.

6.1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento das doenças provocadas por fatores bióticos, como as causadas por patógenos fúngicos, podem ser representadas por um triângulo, onde cada vértice, representado pela suscetibilidade do hospedeiro, a patogenicidade do invasor e o ambiente favorável, é importante no desenvolvimento da doença. Dessa forma, um controle eficiente refere-se a prevenção e a minimização dos danos causados pela doença. Porém, para isso, faz-se necessário o uso de diversas ferramentas eficazes de análise e quantificação dos danos e dos sintomas dessas doenças, como as escalas diagramáticas, para prever a eficácia dos métodos de controle utilizados, sendo fundamental para análise de fenotipagem e mapeamento genético, manejo integrado e estudos epidemiológicos (Amorim et al., 2011).

Para que um modelo de quantificação de danos e sintomas seja eficaz em seu uso no controle de doenças é necessário que esse forneça resultados acurados e precisos. A acurácia, refere-se à proximidade entre o valor estimado e o valor real, já a precisão se refere a reprodutibilidade ou a repetibilidade dos avaliadores. Tais índices podem ser analisados estatisticamente pelo Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC), Coeficiente de Correlação de Lin (CCC), Fiabilidade Inter-Taxas (TIR), Coeficiente de Determinação R^2 e Aderência ao Erro absoluto. Em geral, tais índices são capazes de determinar o grau de precisão e acurácia de um modelo de fenotipagem (Del Ponte, 2023).

A Correlação de Concordância de Lin é uma medida estatística que avalia a concordância entre duas escalas de medição. Fornece informações sobre a consistência e precisão das medições com a ED. Um Coeficiente de Determinação R^2 alto indica uma forte correlação entre as variáveis estudadas neste caso (a severidade da podridão da uva madura) e os valores da escala diagramática. A medida de precisão conhecida como Adesão ao Erro Absoluto avalia a maneira como os valores observados se ajustam aos valores previstos pelo modelo. Os valores observados estão próximos dos valores esperados, de acordo com uma alta aderência ao erro absoluto. Isso indica que a escala diagramática tem uma boa precisão.

A Fiabilidade Inter-Taxas e a Correlação Intraclasse são medidas que avaliam a fiabilidade e a consistência das avaliações feitas por vários avaliadores. A alta correlação intra-classe e fiabilidade inter-taxas indicam que as medições são consistentes e confiáveis independentemente do avaliador, reforçando a validade e utilidade da ED para estudos de controle e monitoramento da doença.

Até o presente momento ainda não foi desenvolvida nenhuma escala diagramática específica para a podridão da uva madura para avaliação fenotípica do desenvolvimento da doença em condições controladas a partir da inoculação de um isolado. Dessa forma, o objetivo deste capítulo é desenvolver e validar uma escala diagramática específica para podridão da uva madura, para utilização em laboratório.

6.2 METODOLOGIA

6.2.1 Elaboração da Escala Diagramática (ED)

Foram coletados, de forma aleatória, cachos de uva das variedades Niágara Rosada, Poloskey Muscotaly, Concord, Helios, Calardis Blanc, Felicia, Regent, Sauvignon Blanc, Sauvignier Gris, Prior, Bronner, Sibera, Couderc 13 e PI4407 (variedade de *Vitis shuttleworthii*) no estágio fenológico de maturação, na Estação Experimental da Epagri de Videira/SC. Após a coletas, os cachos de cada variedade foram encaminhados ao Laboratório de Morfogênese e Bioquímica do Núcleo de Estudos da Uva e do Vinho (NEUVIN) do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPG/RGV) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC/CCA) campus de Florianópolis/SC, onde as bagas de uva dos distintos genótipos foram retiradas de seus cachos.

As bagas foram desinfectadas por assepsia em ambiente esterilizado, utilizando hipoclorito de sódio (NaClO) 0,5 % por 10 min, imersão em álcool etílico 70% por 1 min e em água esterilizada por três vezes. Posteriormente, as bagas foram secas por 30 min em temperatura ambiente. Na sequência, as bagas foram inoculadas com uma gota da suspensão de conídios, realizada na concentração de esporos de 10^6 conidia/mL, com o auxílio da câmara de Neubauer e de um microscópio óptico, previamente preparado, e inseridas em ambiente controlado com temperatura em torno de 25 °C, 80% de umidade e fotoperíodo de 12h (Cia et al., 2009).

Cada bago do experimento de inoculação foi fotografada diariamente, durante dez dias, em microscópio estereoscópio (Olympus, SZH10), com câmera acoplada (Olympus DP71) visando obter um banco de dados da evolução visual da doença em cada variedade, obtendo assim uma diversidade de imagens com porcentagens distintas da doença. As imagens geradas desse experimento foram compiladas e separadas em um banco de dados e analisadas pelo

pacote Pliman programa R (R Core Team, 2023). A função utilizada para a medição da porcentagem de área afetada foi o índice RGB/NGRDI (*Normalized Green Red Difference Index*), o qual analisa o contraste entre o fundo da imagem, a baga sadia e a baga com sintoma.

Com o índice NGRDI o *software* calculou a porcentagem de área afetada e selecionou duas imagens, que apresentavam porcentagem máxima e mínima, para representar os níveis superior e inferior da ED. Com esses dados computados, o restante dos níveis de severidade foi gerado a partir da lei de Weber-Fechner de acuidade visual (Campbell; Madden, 1990), levando em consideração a distribuição e a frequência das lesões, formando uma escala de bagas brancas com 12 níveis de severidade a podridão da uva madura.

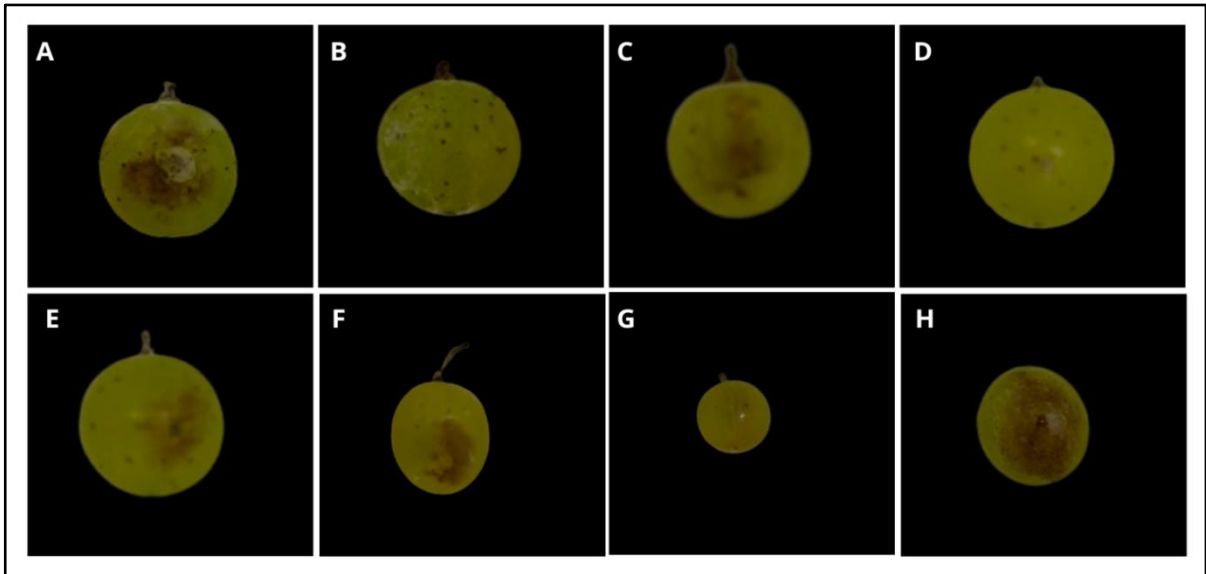
6.2.2 Validação da escala diagramática

Para a validação da ED foram coletadas bagas de uva das variedades Niágara Rosada, Poloskey Muscotaly, Concord, Helios, Calardis Blanc, Felicia, Regent, Prior, Bronner, Couderc Tinta e Sibera. Foram colhidas de forma aleatória da Estação Experimental da Epagri de Videira, da safra de 2023/2024, duas bagas de cada variedade descrita acima, totalizando 24 bagas para validação.

As bagas foram encaminhadas ao Laboratório do NEUVIN, onde foram desinfestadas e inoculadas separadamente com distintos isolados, GL_VI_19 (Complexo acutatum) e GL_CU_47 (Complexo Gloeosporioides), ambos de *Colletotrichum* spp., para obtenção de distintos níveis de crescimento e evolução da doença. As bagas foram inseridas em ambiente protegido com luz, temperatura e fotoperíodo controlados, seguindo o protocolo descrito no experimento de inoculação (Cia et al., 2009).

Também foi aberto um convite para a comunidade de discentes e docentes do PPG/RGV para comparecimento e avaliação das bagas, com e sem o auxílio da ED, assim como o protocolo de Modesto et al. (2020). Paralelamente, foram confeccionados formulários contendo espaço para avaliação da área do sintoma, em porcentagem, de 24 bagas por cada avaliador (Anexo 1).

Figura 10 - Exemplos de oito bagas brancas das 24 utilizadas para a validação da escala diagramática, com ou sem sintomas, dez dias após a inoculação com a suspensão de conídios do isolado GL_VI_19



Legenda: A) Bronner; B) Bronner, sem inoculação; C) Calardis Blanc; D) Couderc 13; E) Felicia; F) Poloskey Muscotaly; G) Helios; H) Sibera. Fonte: Burin (2024)

No décimo dia, compareceram ao Laboratório do NEUVIN 13 avaliadores voluntários. A avaliação foi realizada em duas etapas: a primeira sem o auxílio da escala diagramática desenvolvida, e a segunda, com o auxílio da escala desenvolvida. Em ambas as fases, os avaliadores atribuíram uma nota expressa em porcentagem da área afetada de cada baga, avaliada visualmente.

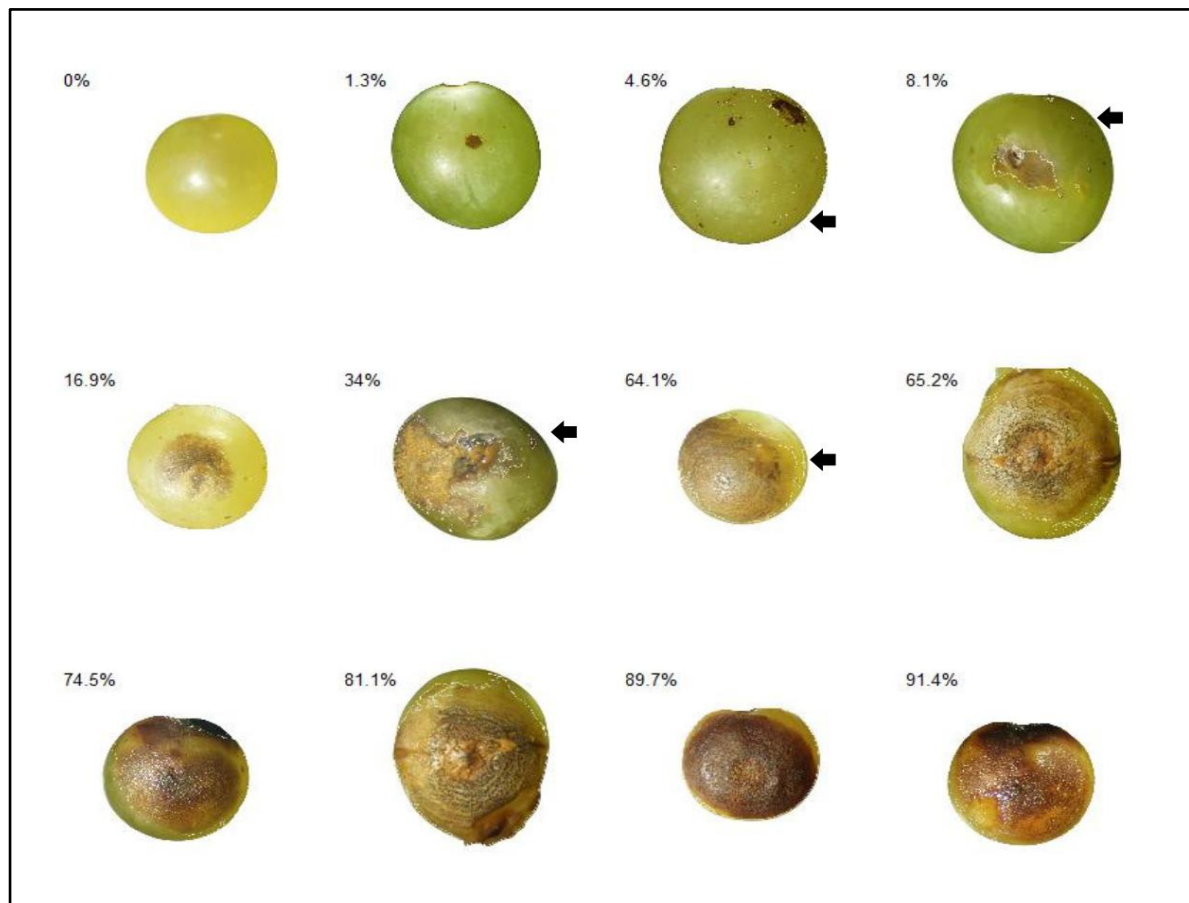
Os dados obtidos foram compilados e inseridos no programa R para análise estatística visando estimar os parâmetros de precisão e acurácia da escala desenvolvida. Os testes foram realizados utilizando diversos pacotes do programa R, para as análises com e sem escala da Aderência do Erro Absoluto, Correlação de Concordância de Lin, Correlação (R^2), Correlação Intraclasse (ICC) e Fiabilidade Inter-Taxas (TIR), comparando com os dados de severidade real das amostras do dia da avaliação, obtidos após captura de imagens e medição no *software* ImageJ (Modesto et al., 2020; Del Ponte, 2023). Em seguida, os dados de precisão e acurácia da avaliação com e sem a ED foram comparados, visando identificar se as avaliações feitas utilizando a ED, obtiveram um grau de precisão e acurácia, maior do que a avaliação sem o auxílio dela, visando a validação da escala diagramática elaborada.

6.3 RESULTADOS

6.3.1 Desenvolvimento da Escala Diagramática

A escala diagramática (Figura 11) foi desenvolvida no programa R, a partir do Índice RGB, *Normalized Green Red Difference Index* (NGRDI) e testes de *threshold* (limiares fixos de pixels que melhor representam o sintoma da doença). O intervalo selecionado foi 1,42; - 0,060. Após a definição dos intervalos, o script foi rodado para gerar 12 níveis de uma ED de 0 a 91,4% de severidade (R Core Team, 2023; Henrich et al., 2009). O valor percentual ao lado de cada baga na Figura 11 significa a área com sintoma da podridão da uva madura. É relevante destacar que esta ED foi elaborada com base nas rotinas desenvolvidas para rodar no programa R.

Figura 11 – Imagens de bagas utilizadas para o desenvolvimento da Escala Diagramática para a podridão da uva madura



Legenda: Escala diagramática desenvolvida no *software* R. As imagens e variedades foram escolhidas aleatoriamente pelo *software*. Valores a esquerda e acima de cada baga indicam a porcentagem da área afetada pela doença calculada pelo *software*. As setas apontam para a área sadia da baga também computadas para estimar o percentual do sintoma pelo *software*. Fonte: Burin (2024)

É possível perceber que mesmo havendo um grande contraste entre a parte sadia e a parte com sintomas característicos da podridão da uva madura, o índice acaba selecionando e contabilizando como área afetada, pequenas partes sadias da uva (Figura 11, setas). É relevante mencionar também que somente as bagas brancas obtiveram contraste suficiente para geração da escala com melhor seleção dos sintomas pelo índice gerado pela metodologia usada. As bagas de coloração rosada e, principalmente as tintas, não foram delimitadas de forma eficiente, sendo retiradas da escala final.

6.3.2 Validação da Escala Diagramática

Dez dias após a inoculação era notável a diversidade de tamanho da área com os sintomas da doença podridão da uva madura nas bagas dos distintos genótipos testados, que foram utilizados pelos 13 avaliadores para avaliar a severidade da doença. Os valores da severidade da doença para todas as 24 bagas disponíveis atribuídos pelos 13 avaliadores variaram de 0 a 100%.

6.3.2.1 Correlação de Concordância de Lin (CCC) e Coeficiente de determinação R^2

Para a validação da ED, os dados da severidade estimada dos avaliadores, com e sem auxílio da ED desenvolvida, foram separados por coloração das bagas. A partir da análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) e Coeficiente de determinação R^2 , é possível avaliar tanto a precisão quanto a acurácia.

Em geral, é possível perceber que as estimativas de severidade dos 13 avaliadores foram mais precisas e acuradas com o auxílio da escala, para o grupo de bagas brancas (Figuras 12 e 13). O avaliador 8 obteve maior valor de R^2 e os maiores valores de limite superior e inferior (0,88 - 0,98) do intervalo de confiança com o auxílio da escala. Em geral, os limites superiores do intervalo de confiança do grupo de bagas brancas com o auxílio da escala, foram próximos de 1 (0,69 a 0,92), ou seja, próximo ao ideal. Já as avaliações sem o auxílio da escala variaram de 0,40 a 0,73 no limite superior do intervalo de confiança.

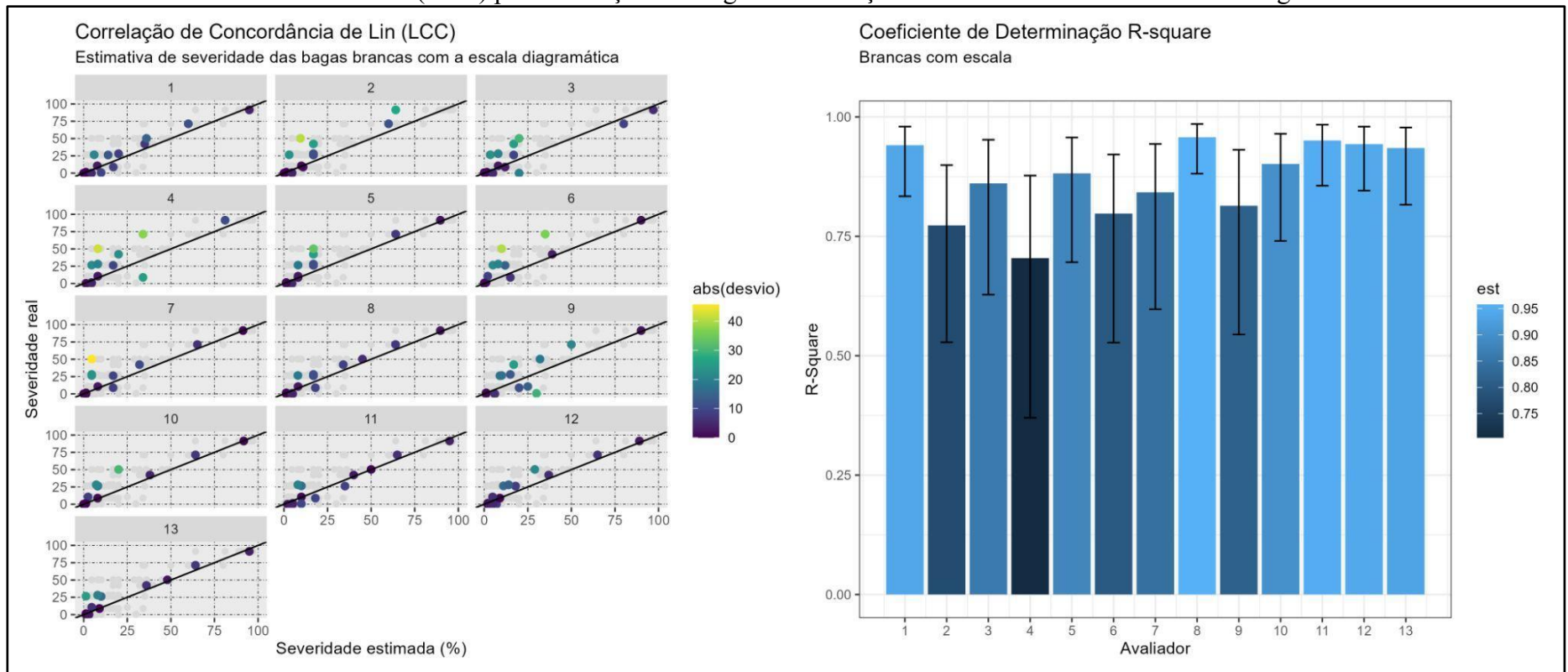
Além disso, a análise de Concordância de Lin das variedades de coloração branca, demonstram uma prevalência de superestimação dos valores reais de severidade, principalmente nas avaliações sem a escala, facilmente visualizados no gráfico de dispersão da Figura 12 e 13.

Assim como na avaliação das bagas brancas, as bagas tintas obtiveram avaliações com maior precisão utilizando-se da escala diagramática (Figura 14 e 15). Por exemplo, o avaliador 5 com maior valor de R^2 , ou seja, o avaliador que obteve maior precisão nas análises com a escala diagramática. Já sem o auxílio da escala, o mesmo avaliador obteve valor negativo de R^2 . O mesmo cenário foi identificado nas demais avaliações, o que indica uma subestimação dos reais valores de severidade, principalmente na avaliação sem a escala diagramática. Assim, os avaliadores tendem a subestimar os sintomas quando estes foram avaliados sem o uso da escala diagramática.

Também é possível perceber que o avaliador 2 obteve os maiores valores de desvio absoluto na avaliação com e sem a escala, demonstrado pelos pontos distantes da reta de 45 graus. Outro fato a se observar são amplos limites do intervalo de confiança nas avaliações com e, principalmente, sem a escala diagramática, representando grande dispersão das avaliações entre os avaliadores.

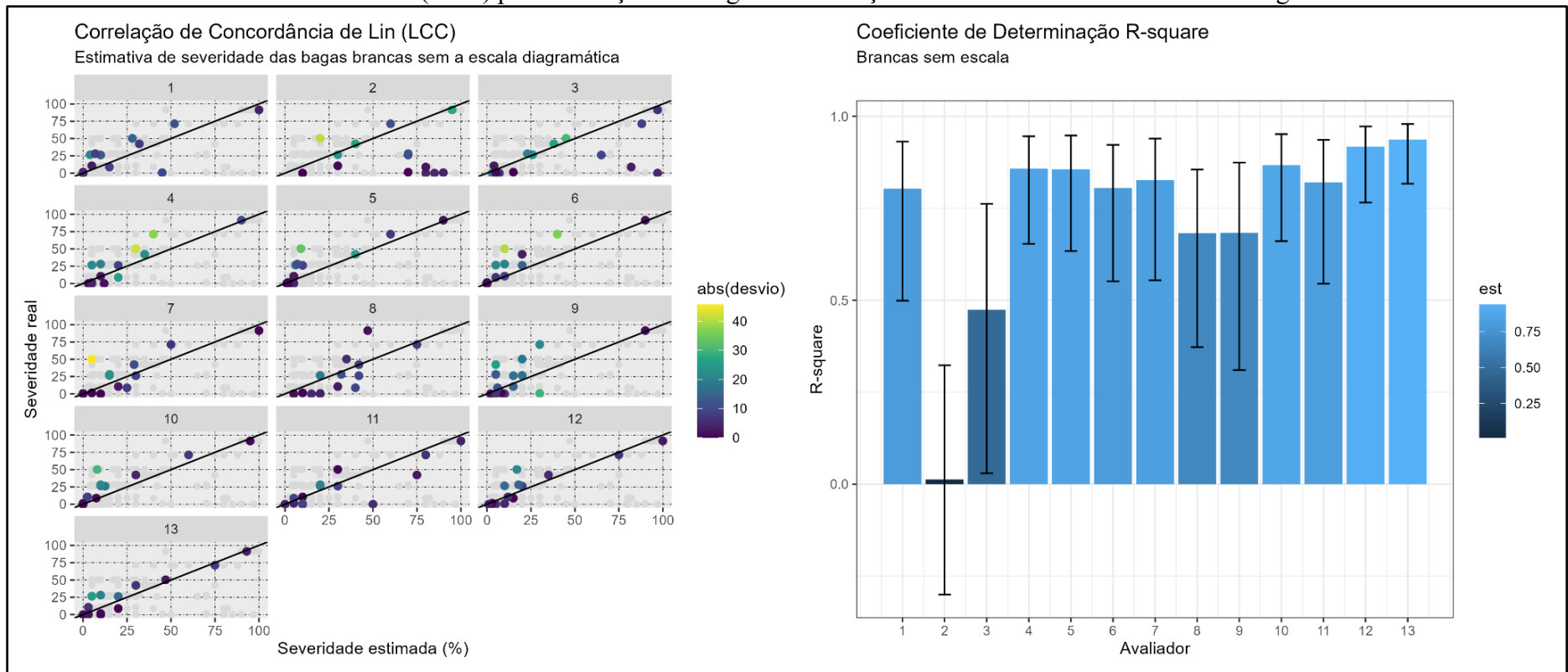
Por fim, o Coeficiente de Correlação de Lin (CCC) das variedades de uva rosada, apresentou predominância de subestimação da severidade real, principalmente utilizando-se da escala diagramática desenvolvida. Apesar disso, apresentaram semelhança nas disposições quanto a linha da severidade real (Figura 16 e 17). Esse fato ocorre devido ao pequeno esforço amostral desta categoria. Também é possível perceber que os avaliadores 3 e 5 apresentaram os maiores valores de desvio absoluto nas avaliações com e sem a escala.

Figura 12 - Dispersão dos valores de severidade estimada e coeficiente de determinação R^2 evidenciados na análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração branca com o auxílio da escala diagramática



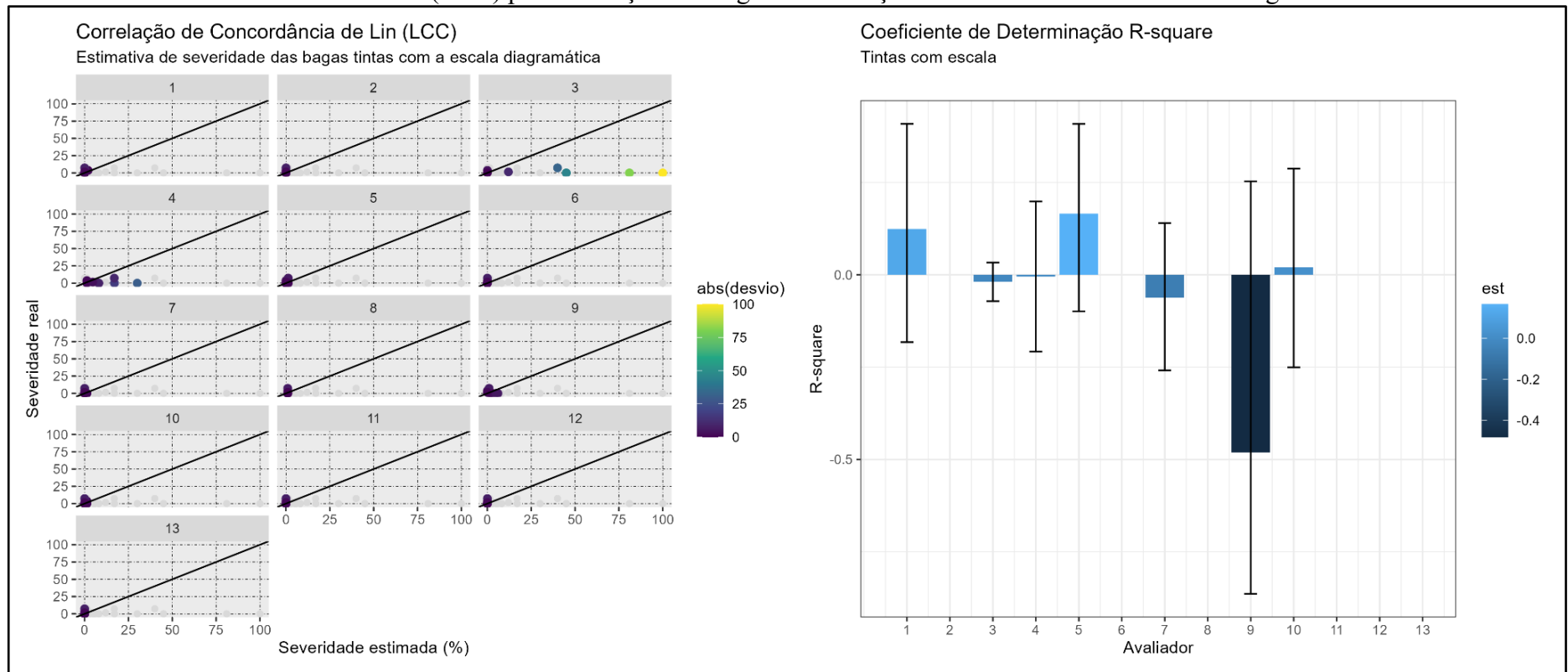
Legenda: Gráfico (à esquerda) de dispersão dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores com o auxílio da escala diagramática, comparando com a severidade real e gráfico (à direita) de barras demonstrando o coeficiente de determinação R^2 dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores das variedades brancas com o auxílio da escala diagramática. Fonte: Burin (2024).

Figura 13 - Dispersão dos valores de severidade estimada e coeficiente de determinação R^2 evidenciados na Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração branca sem o auxílio da escala diagramática



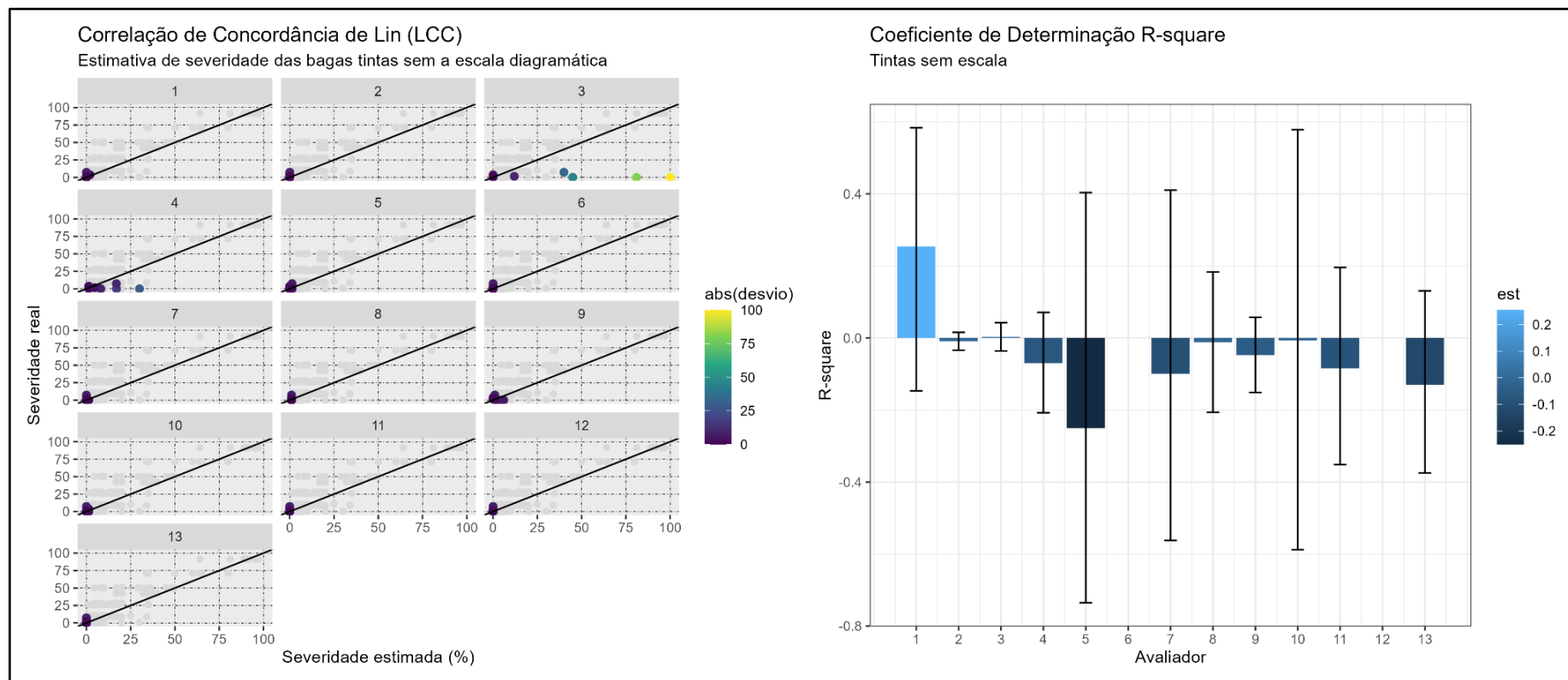
Legenda: Gráfico (à esquerda) de dispersão dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores sem o auxílio da escala diagramática, comparando a severidade real e gráfico (à direita) de barras demonstrando o coeficiente de determinação R^2 dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores das variedades brancas sem o auxílio da escala diagramática. Fonte: Burin (2024).

Figura 14 - Dispersão dos valores de severidade estimada e coeficiente de determinação R^2 evidenciados na Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração tinta com o auxílio da escala diagramática



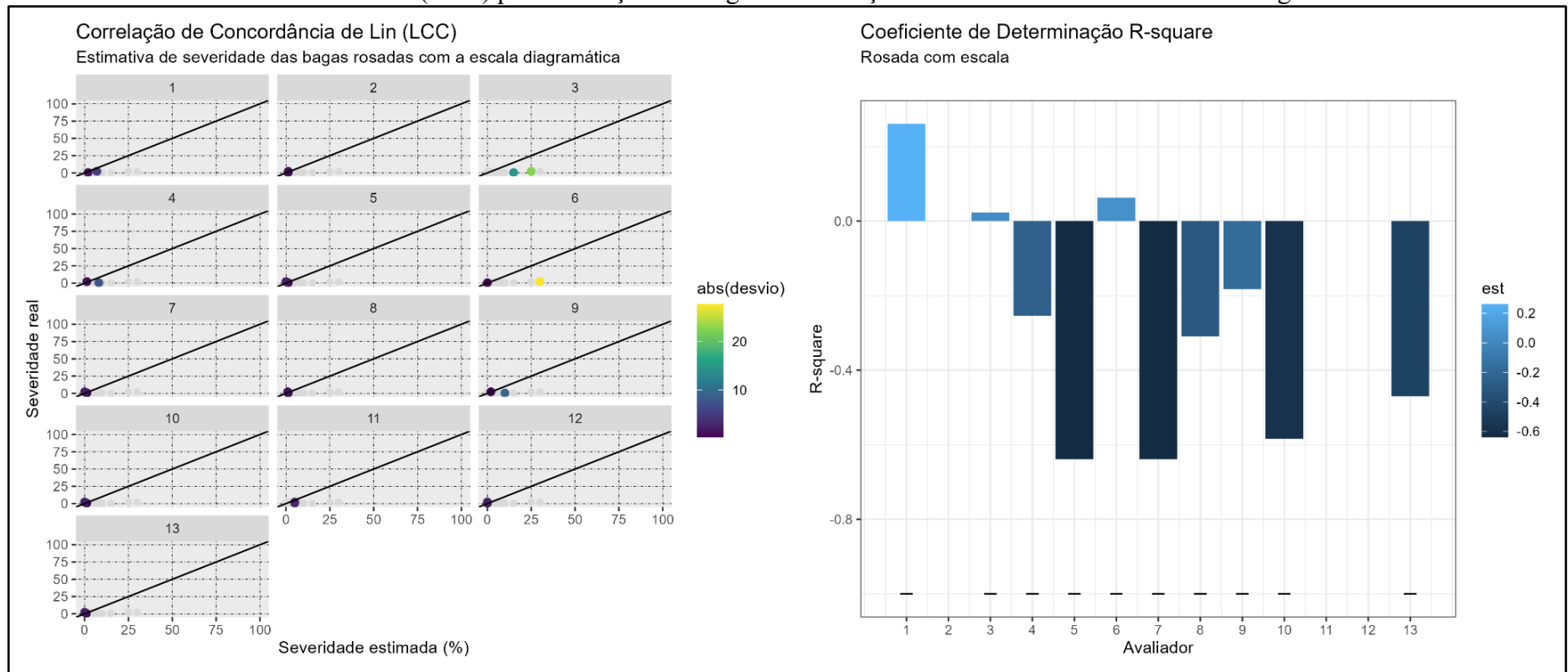
Legenda: Gráfico (à esquerda) de dispersão dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores com o auxílio da escala diagramática, comparando a severidade real e gráfico (à direita) de barras demonstrando o coeficiente de determinação R^2 dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores das variedades tintas com o auxílio da escala diagramática. Fonte: Burin (2024).

Figura 15 - Dispersão dos valores de severidade estimada e coeficiente de determinação R^2 evidenciados na Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração tinta sem o auxílio da escala diagramática



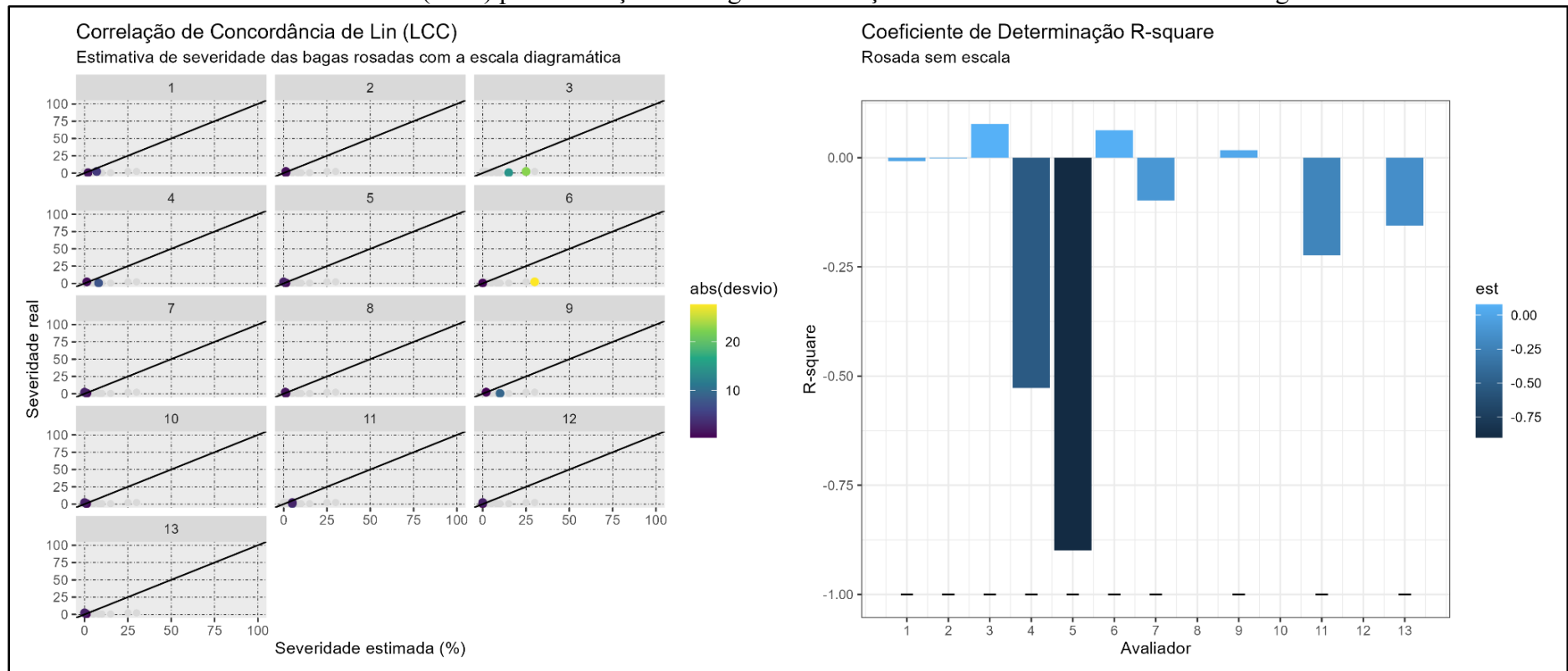
Legenda: Gráfico (à esquerda) de dispersão dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores sem o auxílio da escala diagramática, comparando a severidade real e gráfico (à direita) de barras demonstrando o coeficiente de determinação R^2 dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores das variedades tintas sem o auxílio da escala diagramática. Fonte: Burin (2024).

Figura 16 - Dispersão dos valores de severidade estimada e coeficiente de determinação R^2 evidenciados na Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração rosada com o auxílio da escala diagramática



Legenda: Gráfico de dispersão dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores com o auxílio da escala diagramática, comparando a severidade real e gráfico de barras demonstrando o coeficiente de determinação R^2 dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores das variedades rosadas com o auxílio da escala diagramática. Fonte: Burin (2024).

Figura 17 - Dispersão dos valores de severidade estimada e coeficiente de determinação R^2 evidenciados na Análise de Correlação de Concordância de Lin (CCC) para avaliações de bagas de coloração rosada sem o auxílio da escala diagramática



Legenda: Gráfico (à esquerda) de dispersão dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores sem o auxílio da escala diagramática, comparando a severidade real e gráfico (à direita) de barras demonstrando o coeficiente de determinação R^2 dos valores de severidade estimada (%) dos 13 avaliadores das variedades rosadas sem o auxílio da escala diagramática. Fonte: Burin (2024).

Analisando os resultados do coeficiente de determinação R^2 (Tabela 2) fica evidente que os valores de severidade estimada pelos 13 avaliadores nas variedades brancas com o uso da escala diagramática, foram mais próximos de 1 (0,61 - 0,93) do que sem a escala desenvolvida (0 - 0,88). Além disso, o valor de R^2 nas avaliações com a escala do grupo de bagas brancas, exibiu 53,84% dos valores $>0,80$, representando um bom coeficiente de determinação R^2 , e 38,4% $>0,90$, representando um ótimo valor de R^2 . Já as avaliações sem o auxílio da escala obtiveram 38,46% dos valores $>0,80$ e 0% dos valores $>0,90$. Isso está de acordo com o encontrado por Lenz et al. (2009), que verificou menor precisão nas avaliações sem o auxílio da escala, cujos valores de coeficiente de determinação R^2 estiveram entre 0,34 e 0,73. Tais valores R^2 são similares aos encontrados no presente estudo nas variedades brancas sem o auxílio da escala. Já com o auxílio da ED, o autor verificou valores de R^2 entre 0,89 e 0,96, sendo consideradas avaliações precisas.

Ademais, a análise do coeficiente de determinação R^2 das variedades de coloração tinta, demonstraram que os avaliadores 1, 2, 4, 11 e 13 obtiveram um coeficiente R^2 maior na avaliação sem a escala (Figura 18). É visível que as variedades tintas não alcançaram um valor de R^2 tão alto como as variedades brancas, sendo o avaliador 8 com valor mais alto (0,58), bem abaixo do maior valor de R^2 das variedades brancas sem auxílio da escala, demonstrando que o modelo precisa de ajustes para avaliação da podridão da uva madura em bagas de coloração tinta. Os valores de severidade estimada pelos 13 avaliadores variaram de 0 a 0,58, bem abaixo do grupo de bagas brancas com o auxílio da escala, e de 0 a 0,23 para as estimativas sem o auxílio da escala desenvolvida, não revelando nenhum valor de $R^2 > 0,80$. Esses valores de R^2 são considerados baixos e revelam que o modelo necessita de ajustes quanto à precisão.

Por fim, a análise do coeficiente R^2 das variedades de coloração rosada, demonstraram uma grande quantidade de avaliações com valores de R^2 próximos a 1, tanto com ou sem o auxílio da escala desenvolvida. Este resultado exhibe a necessidade de ajustes ao modelo, para avaliações em bagas de coloração rosada.

Conforme a literatura, os valores de R^2 iguais a 1, representam o cenário ideal de precisão e acurácia. Porém, mesmo representando um valor de 1, a estimativa pode ser superestimada devido a outliers ou pelo pequeno número de amostras. Desse modo, o modelo

de escala diagramática com uvas de coloração rosada, deve ser validada com um número maior de amostras.

Tabela 2: Valores do Coeficiente de Determinação R^2 dos valores de severidade emitidos pelos avaliadores sem e com o uso da escala diagramática (ED)

Avaliador	Brancas		Tintas		Rosadas	
	Com ED	Sem ED	Com ED	Sem ED	Com ED	Sem ED
1	0,90	0,66	0,10	0,23	1	1
2	0,78	0,00	0,00	0,09	0	1
3	0,76	0,30	0,09	0,00	1	1
4	0,61	0,80	0,00	0,18	1	1
5	0,84	0,80	0,23	0,08	1	1
6	0,75	0,78	0,00	0,00	1	1
7	0,76	0,70	0,05	0,02	1	1
8	0,93	0,60	0,58	0,00	1	0
9	0,70	0,53	0,25	0,14	1	1
10	0,87	0,83	0,00	0,00	1	0
11	0,90	0,70	0,00	0,05	0	1
12	0,92	0,84	0,00	0,00	0	0
13	0,90	0,88	0,00	0,16	1	1

Legenda: R^2 das bagas de coloração Branca, Tinta e Rosé. Com ED- R^2 das análises com o auxílio da escala diagramática desenvolvida; Sem ED - R^2 das análises sem o auxílio da escala diagramática desenvolvida. Fonte: Burin (2024)

Em geral, as análises utilizando a escala diagramática desenvolvida, foram mais precisas do que sem a utilização da mesma. Outros estudos, como (Nascimento et al., 2020), também relataram tal cenário, onde sem o uso da escala diagramática, apenas 18,3% dos valores de severidade estimada apresentaram um coeficiente de determinação $R^2 > 0,80$, comparado a

80,8% quando estimados com o auxílio da escala. Isso demonstra que o uso da escala para estimar a severidade da podridão da uva madura, melhorou a fiabilidade (precisão) entre os avaliadores, exibindo a qualidade de ajuste do modelo desenvolvido e a importância de um referencial, que nesse caso foi a escala diagramática desenvolvida.

Tais resultados também foram encontrados por Spósito et al. (2004), onde os avaliadores apresentaram certa precisão sem a escala diagramática, com coeficientes de determinação variando entre 0,85 e 0,91, maiores que os valores encontrados no presente estudo, de 0 a 0,88. Spósito e colaboradores (2004), também relatam que quando os avaliadores fizeram o uso da escala diagramática para a severidade estimada da doença, a precisão aumentou com coeficientes de determinação variando entre 0,89 e 0,96, comparado a 0,61 e 0,93 encontrado no presente estudo. Os mesmos dados foram exibidos por Fischer et al. (2009), onde a severidade estimada sem a escala apresentou baixa precisão, R^2 para as retas de regressão entre severidade real e estimada da média obtida pela regressão conjunta de todos os avaliadores de 0,64.

6.3.2.2 Coeficiente de Correlação Intraclasse

A análise do Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC) demonstra a variância dos dados dentro dos grupos analisados. O grupo de variedades brancas com o auxílio da escala apresentou maior valor de Fiabilidade, seguido pelo grupo de variedades brancas sem o auxílio da escala. Em geral, os grupos de avaliação com a escala apresentaram maior valor de Fiabilidade, exceto o grupo de uvas tintas. Mesmo atingindo maiores valores com a escala, nenhum dos grupos, exceto das variedades brancas, obtiveram bons resultados de fiabilidade, ou seja, próximo de 1 (Tabela 3).

O grupo das variedades brancas exibiram um Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC) de 0,46 sem o uso da escala desenvolvida e 0,75 com o uso da mesma, melhorando significativamente quando utilizaram a escala. Em um estudo de Nascimento e colaboradores (2020) encontraram valores de correlação intraclasse de 0,926 e 0,798, com e sem a ED, respectivamente. Os grupos das variedades rosadas e tintas obtiveram valores negativos de Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC), demonstrando que o modelo não possui precisão e acurácia suficientes para ser validado para estes dois grupos.

Tabela 3: Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC), P valor (PVAL) e limite inferior (II) e superior (UP) de cada grupo de amostras

TIPO	ICC	PVAL	II	UP
Branças com escala	0,81	1.48e-55	0,69	0,92
Branças sem escala	0,50	3.26e-20	0,40	0,73
Rosadas com escala	-0,04	4.99e- 1	-0,07	0,97
Rosadas sem escala	-0,08	9.25e- 1	-0,08	0,38
Tintas com escala	-0,02	7.05e- 1	-0,05	0,12
Tintas com escala	0,01	4.00e- 1	-0,04	0,30

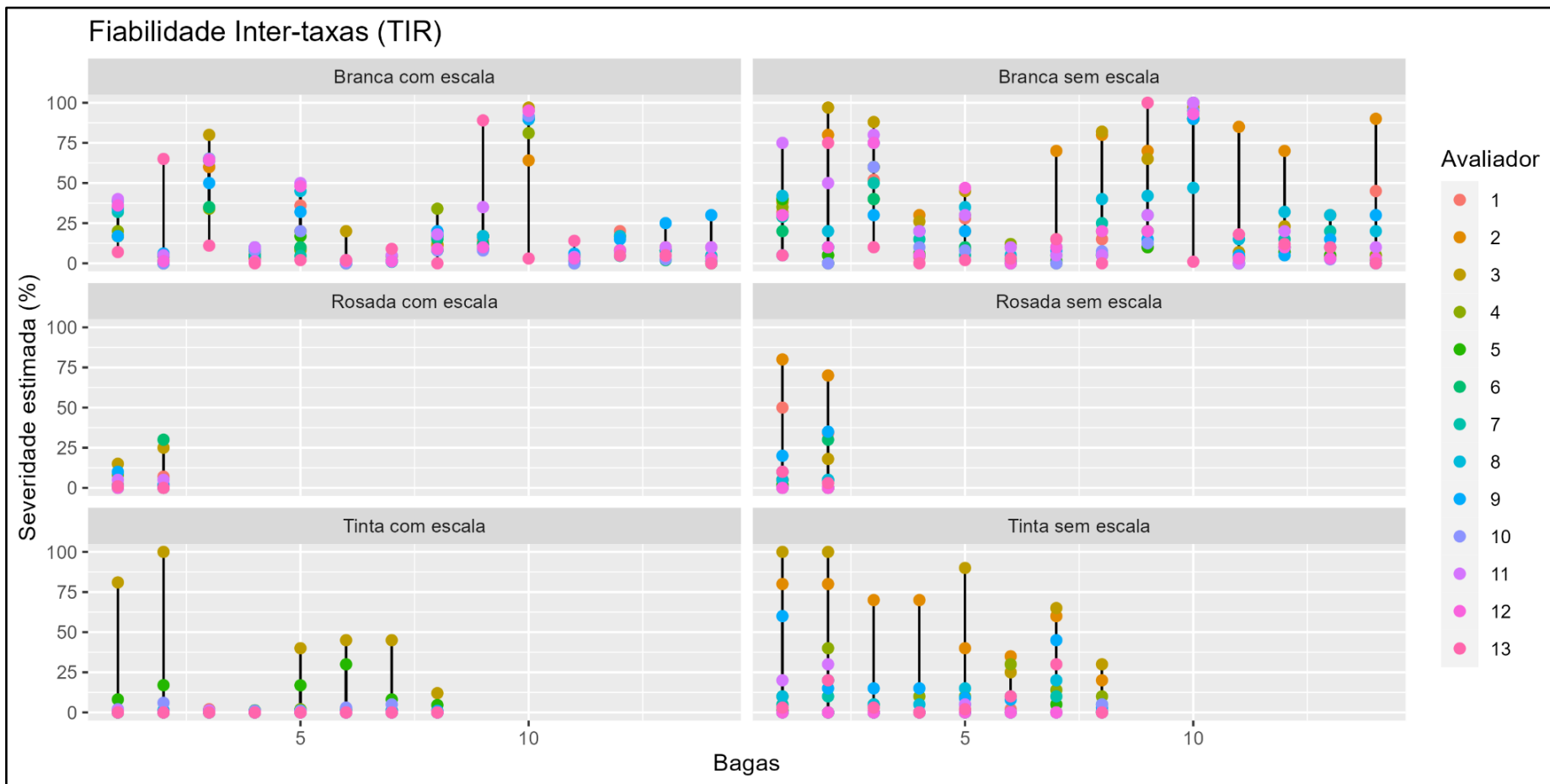
Legenda: TIPO - cada tipo, representa um grupo de coloração de baga e avaliação; ICC - coeficiente de correlação intraclasse; PVAL - valor de P; II - limite inferior do intervalo de confiança; UP - limite superior do intervalo de confiança. Fonte: Burin (2024)

6.3.2.3 Fiabilidade Inter-Taxas

O Índice de Fiabilidade Inter-Taxas é relacionado à amplitude com que os avaliadores conseguem identificar dados diferentes em uma escala de medidas. Com isso é possível observar a tendência das avaliações, bem como a variação entre as avaliações e os erros. No Índice de Fiabilidade Inter-Taxas foi avaliado a amplitude, a tendência, a variação e a medida de erro das avaliações, de bagas tintas, brancas e rosadas, além de cada classe analisada com e sem a escala.

Em geral, a amplitude das análises sem a escala diagramática foi maior que a amplitude das análises com a ajuda da escala diagramática (Figura 18). No grupo das avaliações das bagas brancas com o auxílio da escala diagramática, os avaliadores 8, 11 e 12, demonstraram uma avaliação próxima da severidade real (Tabela 4), na baga 1. Já no grupo das bagas sem o auxílio da escala, os mesmos avaliadores se distanciaram da severidade real. Foi verificado ainda que as avaliações da baga 2, que exibe a severidade real de 0%, e as porcentagens estimadas do grupo das bagas brancas com a escala foram também próximas a 0.

Figura 18 - Análise de Fiabilidade Inter-Taxas (TIR) entre os grupos de bagas de uvas brancas e os avaliadores



Legenda: Números de 1 a 13 indicam cada um dos 13 avaliadores, estão associados a 13 cores, que aparecem nas colunas. As bagas representam cada uma das bagas de uva utilizadas em cada grupo de coloração. Fonte: Burin (2024)

Tabela 4. Porcentagem da Severidade Real da podridão da uva madura nas 24 bagas de diferentes colorações utilizadas na validação da escala diagramática.

Bagas	Área com sintoma (%)		
	Tinta	Branca	Rosada
1	0	42,25	0,55
2	0	0,00	2,27
3	3,69	71,32	-
4	0,22	26,55	-
5	7,33	50,28	-
6	0	0,00	-
7	0	1,37	-
8	1,54	8,79	-
9	-	26,20	-
10	-	91,45	-
11	-	0,00	-
12	-	28,13	-
13	-	10,59	-
14	-	0,68	-

Legenda: Severidade real em porcentagem, em bagas tintas, brancas e rosadas, onde a coluna das bagas mostra o número sequencial de bagas utilizadas para cada coloração. Fonte: Burin (2024)

6.3.2.4 Aderência ao Erro Absoluto

A análise de Aderência ao Erro Absoluto (Tabela 5 e Figuras 19, 20 e 21) demonstra a diferença entre a severidade estimada e a real, deixando visível o erro de análise de cada avaliador, ou seja, a acurácia. A vista disso, a análise de Aderência ao Erro Absoluto das variedades de coloração branca, demonstrou maior erro absoluto nas avaliações das bagas sem o auxílio da escala diagramática. No caso dos avaliadores 2 e 3, a maior precisão nas avaliações ocorreu com a ajuda da escala diagramática (Figura 19). Já na análise com as bagas tintas e rosadas, resultado similar foi constatado, principalmente nos avaliadores 2 e 3. Em geral, as

análises com o auxílio da escala diagramática foram mais precisas que as análises sem o auxílio da mesma.

De maneira geral, houve menor porcentagem de erro absoluto na avaliação das bagas brancas quando a escala diagramática foi utilizada para determinar a severidade, comparativamente às sem escala, 11,2 % e 16,0%, respectivamente. Com o uso da escala diagramática, na variedade de coloração rosada, as avaliações apresentam erro absoluto de 5,33% e sem, 13,75%. Para as bagas de coloração tinta, as avaliações de severidade com escala diagramática desenvolvida exibiram erro absoluto de 4,43% e sem escala, de 14,85%. Contudo, deve-se salientar que mesmo o grupo das bagas tintas e rosadas apresentarem menor porcentagens de erro absoluto que o grupo das bagas de coloração branca, o tamanho amostral das primeiras foi menor.

Os resultados obtidos no presente estudo com a análise do erro absoluto estão de acordo com o encontrado por Nutter e Schultz (1995) e Michereff et al. (2006), que consideram os valores de erro absoluto menores que 10% como ideais e que os maiores valores de erro absoluto nas estimações de severidade real ocorreram próximo a 50%. No estudo de Michereff et al. (2006), as maiores porcentagens de erro absoluto (acima de 50%) ocorreram quando nas avaliações de 0 a 26,20% de severidade real da doença para as avaliações das bagas brancas com e sem escala diagramática. Com a escala, 1,10% das avaliações possuíram um erro absoluto acima de 50% e, sem a escalas, quatro vezes mais amostras apresentaram avaliações com porcentagem de erro acima de 50%.

No presente estudo das bagas rosadas, nenhuma estimativa de severidade alcançou uma porcentagem de erro absoluto de 50%; porém, nas avaliações sem o auxílio da escala, a estimativa de erro absoluto maior de 50% ocorreu em 8% das avaliações, situando-se em bagas com severidade real entre 0,55 e 2,27%, corroborando com o encontrado nas bagas de coloração brancas (Figura 20). Por fim, as avaliações de severidade de bagas de coloração tinta obtiveram, no presente estudo, uma porcentagem de erro absoluto acima de 50% em 2% das avaliações com a escala diagramática e em quase 10% das avaliações sem o auxílio da mesma (Figura 21). Os erros se concentraram em avaliações de severidade em bagas afetadas entre 0 e 7,33% de sintomas. Em geral, as maiores porcentagens de erro absoluto estavam presentes em avaliações dos avaliadores 2, 3 e 13.

A utilização de índices de vegetação, como o NGRDI, em conjunto com a criação de escalas diagramáticas é uma abordagem inovadora e promissora para avaliar doenças em plantas, pois a utilização dessa técnica permite uma avaliação objetiva e padronizada da gravidade da doença, facilitando a comparação entre várias amostras e estudos. Além disso, as escalas diagramáticas podem ajudar a desenvolver métodos de manejo de doenças mais eficazes, pois fornecem informações precisas sobre a intensidade da podridão das uvas maduras e permitem que os produtores tomem decisões mais informadas. No geral, a escala diagramática baseada no índice de vegetação NGRDI é uma ferramenta importante para a pesquisa e a prática agrícola, ajudando a monitorar e avaliar a saúde das plantas e identificando áreas de intervenção para o controle de doenças.

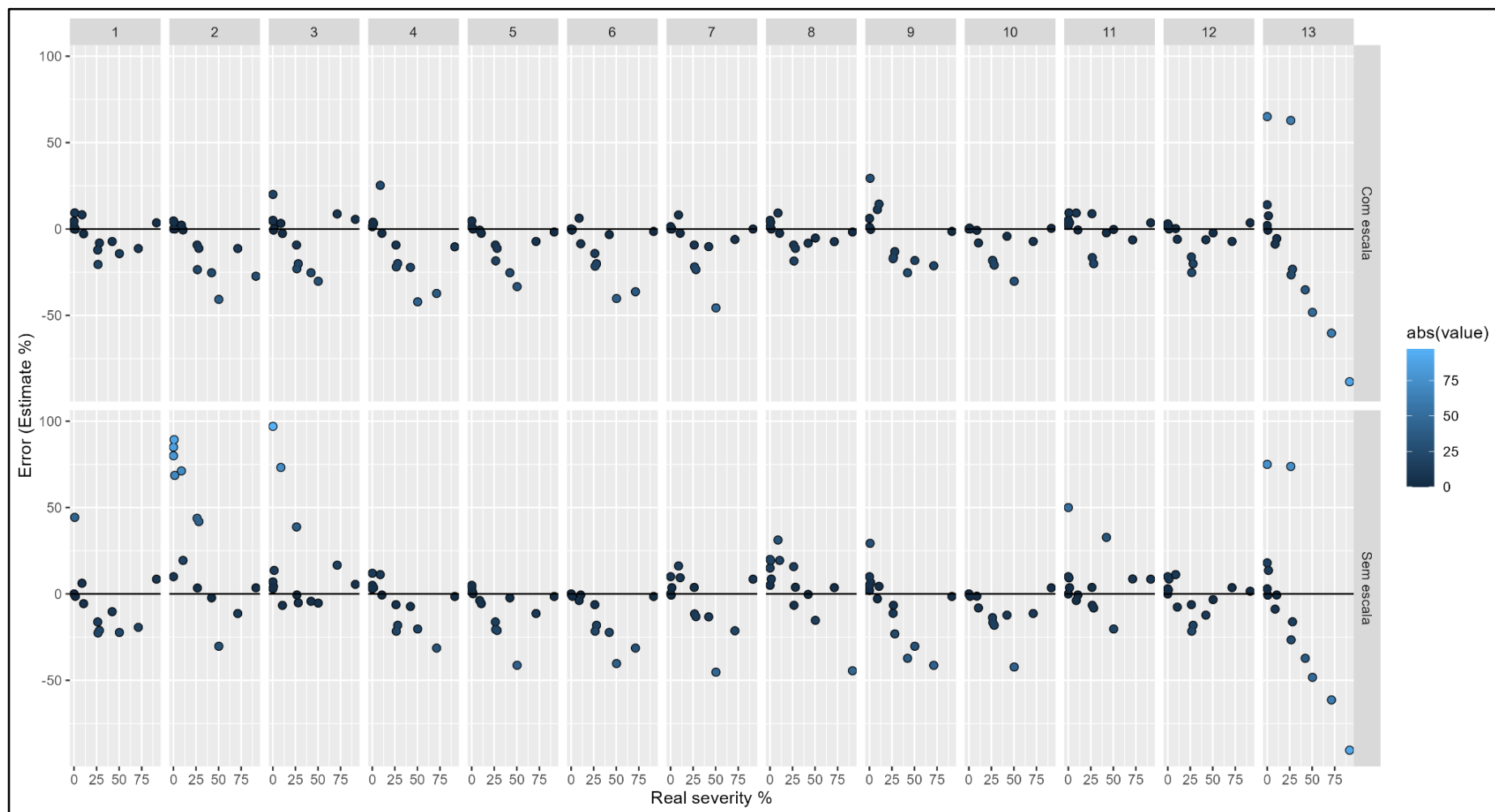
A dificuldade de identificar o inóculo em bagas rosadas, e especialmente tintas, pode ser um grande obstáculo para avaliar a podridão fenotípica da uva madura. Essa dificuldade é causada pelo contraste diminuído entre as cores do inóculo e das bagas nessas variedades. Isso torna mais difícil encontrar e quantificar os sintomas da doença.

Tabela 5: Porcentagem de erro absoluto das avaliações dos grupos de variedades brancas, rosadas e tintas, com e sem o auxílio da escala diagramática

Grupos	Erro (%)
Branças com escala	11,2
Branças sem escala	16,0
Rosadas com escala	4,43
Rosadas sem escala	14,85
Tintas com escala	5,33
Tintas sem escala	13,75

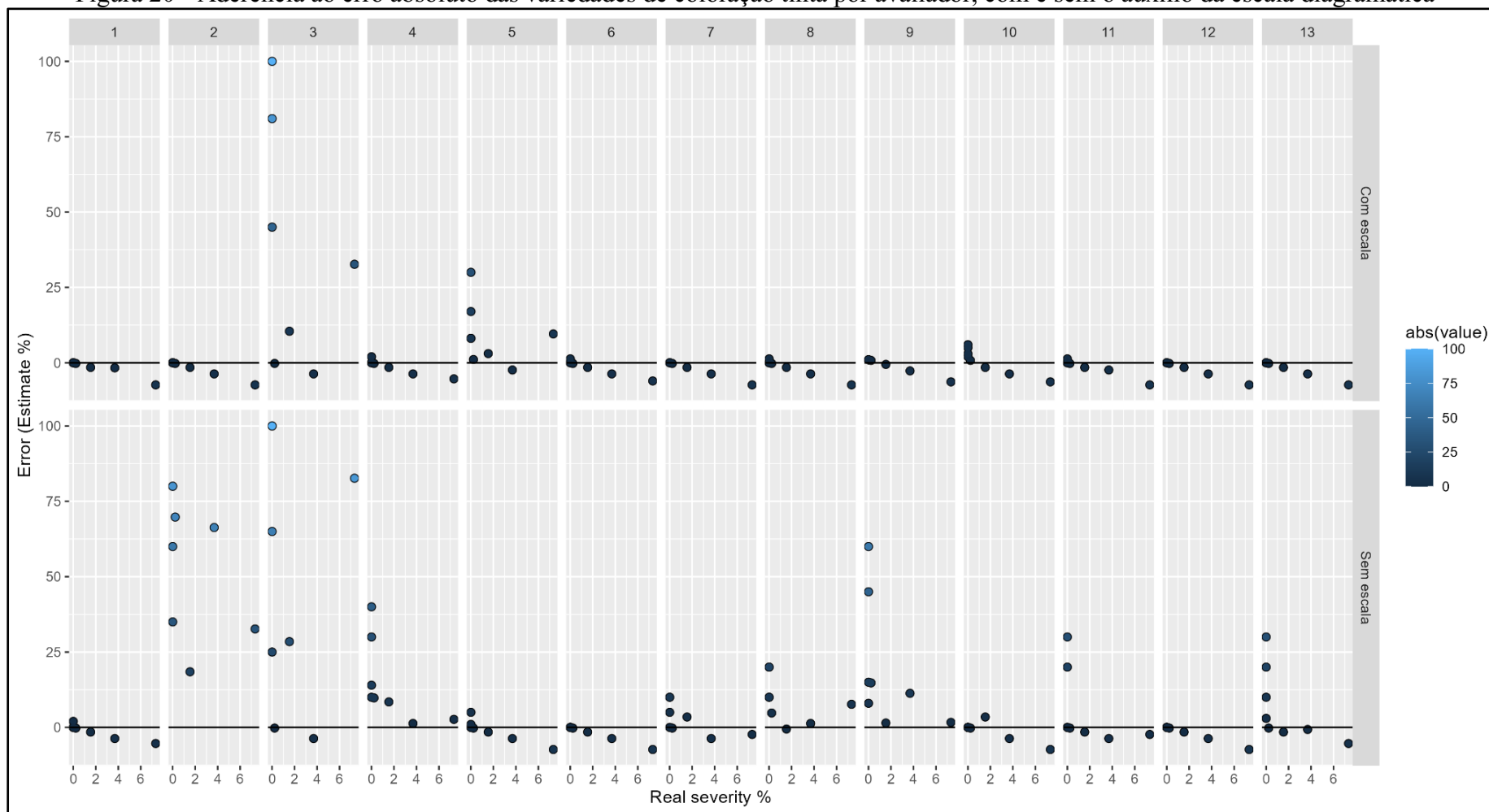
Fonte: Burin (2024)

Figura 19 - Aderência ao erro absoluto das variedades de coloração branca por avaliador, com e sem o auxílio da escala diagramática



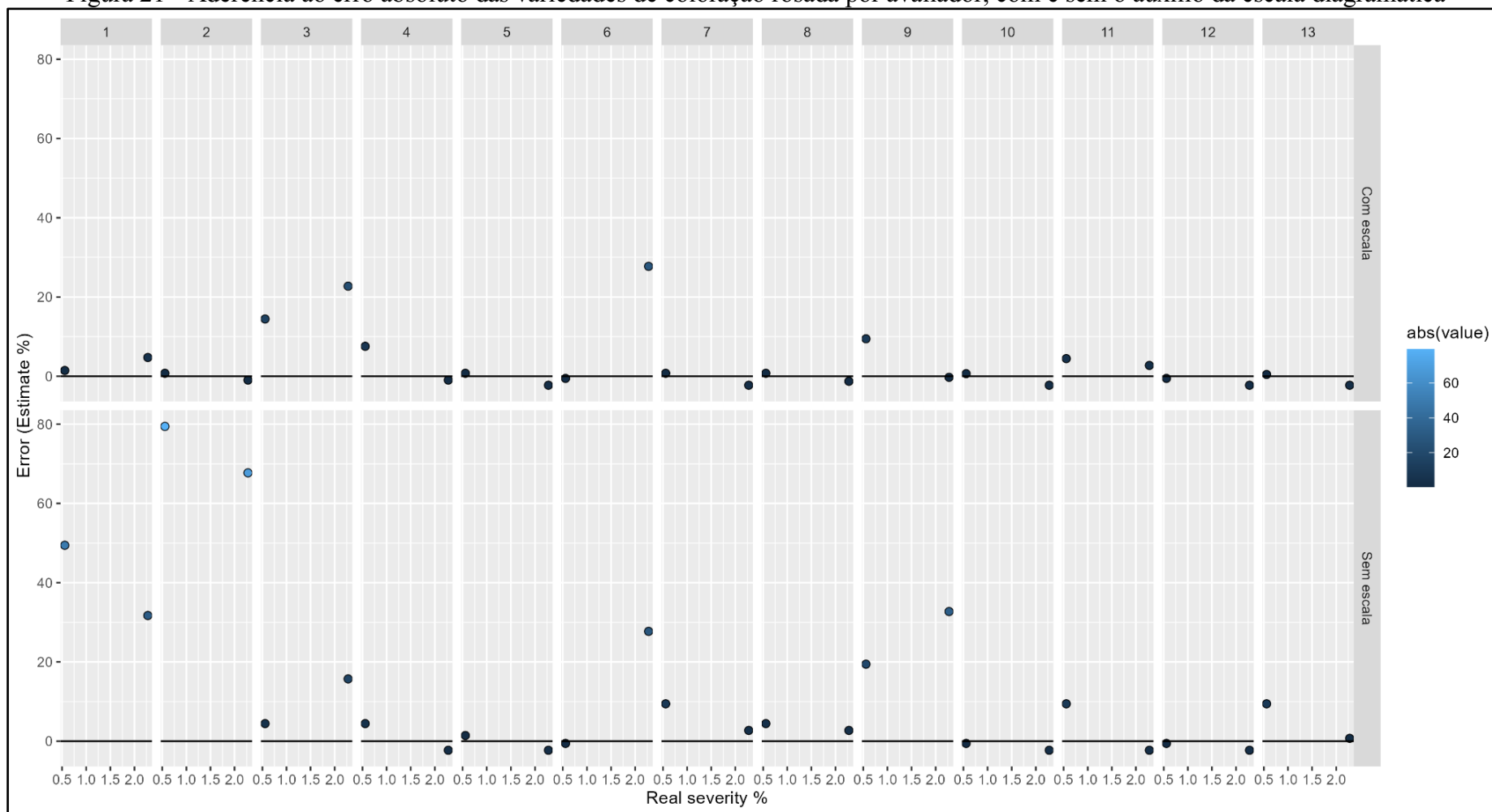
Legenda: Avaliadores de 1-13; Real severity - valor da severidade real do sintoma em porcentagem. Fonte: Burin (2024)

Figura 20 - Aderência ao erro absoluto das variedades de coloração tinta por avaliador, com e sem o auxílio da escala diagramática



Legenda: Avaliadores de 1-13; Real severity - valor da severidade real do sintoma em porcentagem. Fonte: Burin (2024)

Figura 21 - Aderência ao erro absoluto das variedades de coloração rosada por avaliador, com e sem o auxílio da escala diagramática



Legenda: Avaliadores de 1-13; Real severity - valor da severidade real do sintoma em porcentagem. Fonte: Burin (2024)

6.4 CONCLUSÕES

A escala diagramática (ED) foi desenvolvida utilizando o programa R, a partir do índice de vegetação NGRDI (Normalized Green Red Difference Index) e testes de *threshold* para avaliação fenotípica da podridão da uva madura, gerando uma escala de 12 níveis (0 a 91,4%), fornecendo uma plataforma mais granulada para uma análise mais profunda da severidade. O uso da ED nas avaliações fenotípicas de severidade da podridão da uva madura revelou maior precisão e acurácia em bagas de coloração branca, revelando a eficiência do modelo desenvolvido para estes casos, permitindo uma avaliação detalhada e sensível do grau de podridão nas bagas da uva. Revela que o modelo criado para esses casos específicos é eficaz e que a ED pode ser útil e confiável para medir os sintomas da podridão da uva madura, especialmente em variedades de coloração branca.

Diante desse cenário, é necessário fazer ajustes no modelo de avaliação fenotípica para garantir que as variedades de uva com coloração rosada e tinta tenham uma cobertura suficiente. Isso pode incluir alterar os parâmetros do modelo, usar técnicas de detecção diferentes ou criar escalas diagramáticas especificamente para essas variedades.

Por exemplo, é possível estudar técnicas de imagem mais avançadas, como a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR), que pode detectar e quantificar sintomas de podridão em uvas maduras com maior precisão e sensibilidade, independentemente da coloração das bagas. Além disso, um método útil para mostrar e avaliar a gravidade da doença em variedades de uva com coloração mais escura é usar corantes ou marcadores específicos para realçar o contraste entre o inóculo e as bagas.

Por fim, para garantir uma avaliação precisa e confiável da podridão da uva madura em todas as variedades de uvas, incluindo as com coloração rosada e tinta, é necessário ajustar e melhorar os métodos de avaliação fenotípica.

A eficácia da Escala Diagramática (ED) no estudo da podridão da uva madura foi avaliada minuciosamente por meio de análises estatísticas que incluíram a Correlação de Concordância de Lin, o Coeficiente de Determinação R^2 , a Adesão ao Erro Absoluto, a

Correlação Intra Classe e a Fiabilidade Inter-Taxas. Essas técnicas estatísticas são essenciais para avaliar a validade, precisão e fiabilidade de escalas diagramáticas.

Com base nos resultados dessas análises estatísticas, fica claro que a Escala Diagramática é uma ferramenta útil e confiável para avaliar a severidade da podridão da uva madura. Sua aplicação pode fornecer dados consistentes e precisos, que são essenciais para a criação e execução de estratégias de manejo de doenças na viticultura.

REFERÊNCIAS

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; HIROSHI, K.; CAMARGO; L.E.A.; REZENDE, J.A.M. 2011. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. 1990. **Introdução à epidemiologia de doenças de plantas**. Nova Iorque - NY. John Wiley & Sons. 532p.

CIA, P.; BENATO, E.A.; VALENTINI, S.R. de T.; ANJOS, V.D. de A.; PONZO, F.S.; SANCHES, J.; TERRA, M.M. 2009. Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva “niagara rosada”. **Bragantia**, v. 68, n.4, p. 1009–1015. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/brag/a/FNBJS9VKKcR9Tk7pKYNrjJ/#>>. Acesso em: 26/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052009000400022>

DEL PONTE, E.M. 2023. **R para Epidemiologia de Doenças de Plantas (R4PDE)**. Disponível em: <<https://r4pde.net>>. Acesso em: 20/12/23.

FISCHER, I.H.; ALVES, S.A.M.; ALMEIDA, A.M. de; ARRUDA, M.C. de; BERTANI, R.M. de A.; GARCIA, M.J. de M. 2009. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose em frutos de maracujá amarelo. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 3, p. 226-228. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/sp/a/QNh4sLSrFwKdGGvkrBhyqbq/?lang=pt#>>. Acesso em: 01/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052009000300012>

HENRICH, V.; GÖTZE, C.; JUNG, A.; SANDOW, C.; THÜRKOW, D.; GLÄSSER, C. 2009. Development of an online indices-database: motivation, concept and implementation. **Proceedings of the 6th EARSeL imaging spectroscopy sig workshop innovative tool for scientific and commercial environment applications**, p. 16-18. Disponível em: <https://old.earsel.org/workshops/IS_Tel-Aviv_2009/PDF/earsel-PROCEEDINGS/3064%20Henrich.pdf>. Acesso em: 10/11/23.

MODESTO, L.R.; STEINER, D.R.M.; MENON, J.K.; NODARI, R.O.; WELTER, L.J.; SILVA, A.L. da. 2020. Standard area diagram set for anthracnose severity on grapevine bunches and shoots. **Australasian Plant Pathology**, v. 49, n. 6, p. 561-569. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13313-020-00728-2>>. Acesso em: 04/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13313-020-00728-2>

NASCIMENTO, F.A.; DUARTE, H. da S.S.; SOUZA, F.F.; ISHIKAWA, F.H.; CAPUCHO, A.S. 2020. Development and validation of a standard area diagram set to assess powdery mildew severity on watermelon leaves. **Ciência Rural**, v. 50, n. 10. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cr/a/FskmrPQZ8JsmTMhHBL6D7mS/?lang=en#>>. Acesso em: 13/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200281>

R Core Team. 2023. **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**. Vienna. Disponível em: <<https://www.R-project.org>>. Acesso em 07/12/23.

SÓPITO, M.B.; AMORIM, L.; BELASQUE JUNIOR, J.; BASSANEZI, R.B.; AQUINO, R. de. 2004. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da

mancha preta em frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 81-85. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/fb/a/FDhYYH5cccK3kFsrLjWb89h/#>>. Acesso em: 21/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582004000100012>

7. CAPÍTULO 3 – ANÁLISE MORFOANATÔMICA DE BAGAS DE *Vitis* spp.

RESUMO

O capítulo tem como objetivo analisar a morfoanatomia e estimar a espessura da cutícula e epiderme em frutos de videira de distintos genótipos. Foram coletadas amostras de uvas brancas e tintas, incluindo variedades PIWI e PI4407, uma variedade cultivada da espécie silvestre americana *Vitis shuttleworthii*. As amostras foram processadas para análise em Microscopia Óptica (MO) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). No desenho experimental fatorial foram considerados genótipos, tipos de corte da baga e safras distintas. O estudo apresenta o primeiro relato da estimativa da espessura da cutícula e da epiderme de bagas de distintas variedades de videira cultivadas no sul do Brasil. No MEV, a variedade cultivada PI4407 (*V. shuttleworthii*) apresentou a maior espessura de cutícula e de epiderme, seguida por Prior e Bronner, enquanto Regent e Calardis Blanc apresentaram as menores espessuras. Não houve diferença estatística entre as médias da espessura da cutícula nas duas formas de corte da baga, transversal e horizontal. Também nas análises de microscopia óptica, a espessura da cutícula e da epiderme da variedade PI4407 foi maior em todas as safras; porém, as estimativas das espessuras tanto da cutícula quanto da epiderme das demais variedades na MO foram distintas dos valores da literatura encontrada, sugerindo que metodologias distintas para tal análise podem produzir resultados distintos. Por fim, a análise visual das estruturas anatômicas dos frutos destacou a clara definição da camada de cutícula e da epiderme na microscopia eletrônica de varredura e somente a camada da epiderme microscopia óptica. O próximo passo é relacionar os resultados da espessura da epiderme e da cutícula com a severidade da podridão da uva madura e outras doenças em bagas de videiras. Além disso, os resultados obtidos com o presente estudo podem contribuir com a identificação de mecanismos de resistência ou suscetibilidade a doenças que atacam a baga da uva.

Palavras-chave: Cutícula; Epiderme; Histologia vegetal; Resistência; *Vitis*.

ABSTRACT

This chapter aims to analyze the morphoanatomy and estimate the thickness of the cuticle and epidermis in grapevine fruit of different genotypes. Samples of white and red grapes were collected, including varieties PIWI and PI4407, a cultivated variety of the wild American species *Vitis shuttleworthii*. The samples were processed for analysis by Optical Microscopy (OM) and Scanning Electron Microscopy (SEM); the factorial experimental design considered genotypes, types of berry cuts and different harvests. The study presents the first report on estimating the thickness of the cuticle and epidermis of berries from different grapevine varieties. On SEM, the cultivated variety PI4407 (*V. shuttleworthii*) had the thickest cuticle and epidermis, followed by Prior and Bronner, while Regent and Calardis Blanc had the smallest thicknesses. There was no statistical difference between the mean cuticle thickness in the two ways of cutting the berry, transversal and horizontally. Also in the optical microscopy analyses, the thickness of the cuticle and epidermis of the PI4407 variety was greater in all harvests; however, the estimates of the thickness of both the cuticle and the peel of the other varieties in the OM were different from the values found in the literature, suggesting that different methodologies for this analysis may produce different results. Finally, the visual analysis of the fruit's anatomical structures highlighted the clear definition of the cuticle layer and epidermis in scanning electron microscopy and only the epidermis layer in optical microscopy. The next step is to relate the results of the thickness of the epidermis and cuticle to the severity of ripe grape rot and other diseases in grape berries. In addition, the results obtained in this study may help to identify mechanisms of resistance or susceptibility to diseases that attack grape berries.

Keywords: Cuticle; Epidermis; Plant histology; Resistance; *Vitis*.

7.1 INTRODUÇÃO

As plantas utilizam uma série de mecanismos de defesa contra patógenos, como por exemplo barreiras anatômicas e químicas que impedem a entrada e colonização de patógenos. Dessa forma, a morfoanatomia das bagas de uva desempenha um papel importante na proteção contra patógenos (Gabler et al., 2003). Neste aspecto, a cutícula é a camada externa cerosa que reveste muitos tecidos vegetais, como os frutos de videira. Esta camada é classificada como um mecanismo de defesa pré-formado, portanto, não necessita de um estímulo causado pela invasão do patógeno para ser ativado (Commenil et al., 1997; Hill et al., 1998).

Por outro lado, os mecanismos pós-formados são ativados quando a planta é ameaçada por patógenos ou outros estímulos. Esses mecanismos de defesa limitam o crescimento e a propagação de patógenos. O processo conhecido como lignificação ocorre quando as células vegetais depositam lignina em suas paredes celulares, tornando-as mais resistentes e rígidas. Como resultado, as paredes celulares podem ser fortalecidas e os patógenos não podem entrar. A combinação dos mecanismos pós-formados e pré-formados cria uma rede de defesa complexa (Commenil et al., 1997; Hill et al., 1998).

Portanto, as características físicas e morfológicas que variam de acordo com a cultivar, influenciam a suscetibilidade a doenças. Estudos anteriores demonstraram que há uma grande variação na morfoanatomia entre diferentes cultivares de uva (Commenil et al., 1997; Gabler et al., 2003; Herzog et al., 2015; Hill et al., 1998).

Assim, a menor incidência de fungos na cultura da videira pode ser atribuída a alguns mecanismos, como a espessura da epiderme e da cutícula, além da composição da cera. Diante disso, o objetivo deste capítulo é estimar a espessura das camadas de epiderme e cutícula de distintos genótipos de videira.

7.1. METODOLOGIA

7.1.1 Coleta de amostras vegetais

Foram realizadas coletas aleatórias de material vegetal (bagas) de duas variedades PIWI de uvas brancas (Bronner e Calardis Blanc) e duas tintas (Prior e Regent) com background genético de *Vitis vinifera*, bem como da PI4407, variedade cultivada da espécie silvestre americana *V. shuttleworthii*, mantidas em cultivo na Estação Experimental da Epagri em Videira, SC, nas safras 2020/21, 2021/22, totalizando 180 amostras para análise em Microscopia Óptica, e 60 amostras (2020/21) para análise na Microscopia Eletrônica de Varredura. Após a coleta em cada safra, as bagas foram acondicionadas em tubos Falcon devidamente identificados e preenchidos com fixador Karnovsky (paraformaldeído, glutaraldeído, tampão cacodilato de sódio) (Karnovsky, 1965), conforme Anexo 1.

7.1.2 Preparo das amostras para microscopia óptica

Na avaliação em Microscopia Óptica, realizada no Laboratório de Microscopia da UFSC/CCA, foram usadas três bagas por variedade e por safra, retiradas de forma aleatória dentre as bagas mantidas em fixador Karnovsky. Cada baga foi seccionada com um corte transversal, o que possibilitou a utilização de duas áreas da baga, a lateral e a apical.

Após o corte, as bagas foram submetidas ao protocolo de emblocamento adaptado de Berlyn e Miksche (1976) como segue: imersão em álcool nas porcentagens de 10, 20, 30, 50, 70, 80, 90 e 100% durante 30 min, em seguida 30 min imersas em solução de historesina mais pó ativador e álcool na proporção de 1:1, e inseridas no vácuo de cinco a sete dias. Na etapa seguinte substituiu-se a solução anterior por historesina com pó ativador e, após isso, as bagas foram levadas novamente ao aparelho de vácuo pelo mesmo período. Em seguida, as amostras foram emblocadas em formas de silicone contendo historesina e *hardener* na proporção 16 mL de historesina para 1 mL de *hardener*, e levadas ao vácuo até o total endurecimento.

Cada amostra emblocada em resina foi colada e devidamente identificada em blocos de madeira para corte no Micrótomo (modelo Olympus MicroTec Cut 4055). Após os cortes, as amostras foram inseridas em lâminas e coradas com Azul de Toluidina, para visualização da morfologia da epiderme e cutícula e captura de fotos das estruturas em Microscopia Óptica (MO) com amplificação de 40X. De cada baga foram feitas três lâminas de cada corte e tiradas

três fotos aleatórias de cada lâmina. As fotos foram utilizadas para estimar as medidas da epiderme e cutícula no programa Image J.

7.1.3 Preparo das amostras para microscopia de varredura

Na avaliação em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), cada baga foi seccionada com um corte transversal, o que possibilitou a utilização de duas áreas da baga, a lateral e a apical. Após o corte, as bagas foram submetidas ao protocolo adaptado de Berlyn e Miksche (1976) de desidratação em série alcoólica: 10, 20, 30, 50 e 70 durante 30 min, e 80, 90 e 100% por 40 min. Em seguida, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME), localizado no Campus Trindade da UFSC. As amostras foram previamente preparadas com substituição do álcool pelo gás carbônico no equipamento de Ponto Crítico, seguindo um protocolo designado pelos técnicos do LCME. Posteriormente, as amostras foram inseridas em *stubs* e metalizadas com ouro, seguindo o protocolo do LCME. As fotos feitas aleatoriamente foram utilizadas para estimar as medidas da epiderme e cutícula no programa Image J.

7.1.4 Análise dos resultados de microscopia

Os valores obtidos a partir das medições de espessura da epiderme e cutícula em cada um dos equipamentos utilizados, MO e MEV, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste Tukey de comparação das médias a 5% de significância com o uso do *software* RStudio versão 4.3.2 (R Core Team, 2023).

7.1.5 Análise estatística dos dados obtidos na microscopia

O desenho experimental trifatorial foi constituído pelos genótipos (variedades), safras e tipos de corte na avaliação feita no MEV e MO. Em ambos os ensaios, as parcelas, repetidas três vezes, foram tomadas inteiramente ao acaso.

Os valores obtidos a partir das medições de espessura da epiderme e cutícula em cada um dos equipamentos utilizados, MO e MEV, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste Tukey de comparação das médias a 5% de significância com o uso do Programa R versão 4.3.2 (R Core Team, 2023).

7.2 RESULTADOS

Como nas buscas em base de dados não encontramos resultados publicados, o relato dos resultados do presente estudo pode ser considerado o primeiro de estimativa de espessura de cutícula e da epiderme de bagas de distintas variedades de videira realizado no Brasil.

7.2.1 Microscopia eletrônica de varredura

A análise da variância do bifatorial entre as variedades e tipo de corte da baga, apresentou diferenças estatisticamente significativas para as características de espessura da cutícula e espessura da epiderme. Os coeficientes de variação foram de 19,33% e 20,56% para espessura da cutícula e espessura da epiderme, respectivamente.

7.2.1.1 Espessura da cutícula

O teste de Tukey a 5% de probabilidade separou as variedades em três grupos distintos quanto à espessura da cutícula. A variedade PI4407 (*V. shuttleworthii*) exibiu uma maior espessura de cutícula (6 μm), não diferindo estatisticamente das variedades inseridas no segundo grupo, sendo elas Prior, Bronner e Calardids Blanc, com 4,5 μm , 3,7 μm e 2,4 μm respectivamente. No último grupo se encontra a variedade Regent com 1,3 μm de espessura da cutícula (Figura 17). Nesse conjunto de dados não houve diferença estatística entre médias espessura da cutícula obtidas nas duas safras e formas de corte da baga.

No grupo de médias com menor espessura da cutícula foi enquadrada a variedade cuja baga possui coloração tinta (Regent). Da mesma forma ocorreu no grupo intermediário, com a Bronner e Calardis Blanc de bagas brancas e a Prior de bagas tintas. Considerando que esta amostra é pequena, o presente estudo levanta a hipótese de que a espessura da cutícula não está associada à coloração da uva. Contudo, futuros estudos poderão comprovar ou não esta associação entre coloração da baga e espessura da cutícula.

Os resultados obtidos na presente dissertação, referente a espessura da cutícula em microscopia eletrônica, corroboram com o estudo de Manzoni (1971), o qual encontrou espessuras de cutícula de variedades europeias inferiores a 4 μm e superiores a 10 μm em variedades americanas. Mais especificamente, os valores da espessura da cutícula foram 1,5 μm a 3,8 μm em variedades viníferas, 4,1 μm a 4,6 μm em *V. rupestris*, 8,1 μm a 8,5 μm em *V. berlandieri*, alcançando a quase 10 μm na espécie *V. coriacea* (Basiônimo de *V. shuttleworthii*).

O referido estudo indicou que os maiores valores de espessura da cutícula foram encontrados nas espécies silvestres.

As variedades PIWI são consideradas da espécie *V. vinifera* por conter a maioria do background genético (>90%), obtido por sucessivos retrocruzamentos com variedades viníferas após o cruzamento interespecífico. Porém, tais variedades também possuem background genético de variedades silvestres. Exemplo disso é a variedade Calardis Blanc que possui como parentais *V. aestivalis* e *V. rupestris*, cujo F₁ foi retrocruzado com variedades de *V. vinifera*, exibindo valor de espessura da cutícula acima da espécie europeia em si, que é inferior a 4 µm (Maul et al., 2024).

Isso pode ser uma vantagem adaptativa, oferecendo uma maior capacidade de resistir a doenças e fatores ambientais perigosos. Para produzir variedades mais resistentes e adaptáveis, esse método de melhoramento genético combina características favoráveis de várias espécies de uvas. Os melhoristas podem desenvolver cultivares que não só mantenham a qualidade e o sabor desejados, mas também apresentem resistência a doenças e estresse ambiental ao incorporar características de variedades silvestres, que muitas vezes têm defesas naturais mais fortes (Maul et al., 2024). Assim, é fundamental entender o background genético das variedades de uvas cultivadas para entender e explorar as características morfoanatômicas que influenciam sua resistência a patógenos e adaptação a diferentes ambientes. Além disso, é importante conhecer as bases genéticas das características possivelmente envolvidas na expressão fenotípica. Esses conhecimentos podem ser utilizados de forma eficaz no processo de seleção e melhoramento de variedades de uva para a agricultura.

Contudo, a variedade Calardis Blanc apresentou no presente estudo, valores de 2,4µm e 1,3 µm, a menor espessura da cutícula encontrada dentre as variedades avaliadas, embora seja mais aparentada com a espécie vinífera.

Por sua vez, a variedade Regent, que além de apresentar ancestrais de variedades viníferas, também possui traços de genomas de *V. labrusca* e *V. berlandieri* que, segundo Manzoni (1971), possui uma espessura de 8,1 µm a 8,5 µm, valores que diferem dos valores do presente estudo (aproximadamente 4,0 µm). Apesar dessa variedade apresentar background genético da espécie *V. berlandieri*, umas das espécies silvestres com maior valor de espessura

da cutícula (Maul et al., 2024), ela foi retrocruzada diversas vezes com *V. vinifera*, exibindo no presente estudo o segundo menor valor de espessura da cutícula.

As variedades Bronner e Prior possuem valores de espessura da cutícula próximos de um de seus parentais, *V. rupestris*, além de possuírem background genético de *V. amurensis* e *V. aestivalis* (Maul et al., 2024). Por fim, a variedade PI4407, da espécie *V. shuttleworthii*, obteve valor de espessura da cutícula de 6,0 μm , próximo ao valor encontrado por Manzoni (1971), se referindo à *V. coriacea*. Como a espécie silvestre não possui retrocruzamentos com variedades domesticadas, essa possui maior rusticidade contra doenças, provavelmente devido a sua composição genética.

Segundo Chang e Keller (2021), a espessura da cutícula da variedade Merlot (*V. vinifera*) foi de $3,6 \pm 0,13 \mu\text{m}$ e da variedade Concord de *V. labrusca* foi de $9,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$, ambas avaliadas no estágio fenológico de maturação. Isso está de acordo com o encontrado no presente estudo, onde as variedades silvestres ou menos domesticadas do que as variedades viníferas, possuem maior espessura de cutícula.

7.2.1.2. Espessura da epiderme

A análise da variância do trifatorial revelou que a interação variedades e tipos de cortes de baga não foi estatisticamente significativa. Tampouco os tipos de corte não apresentaram diferenças estatísticas entre as médias de espessura da epiderme. Assim, foi realizado o teste Tukey de múltiplas comparações entre médias das variedades, pois o teste F da ANOVA revelou diferença estatisticamente significativa para esse fator (Figura 22).

A variedade Regent exibiu a epiderme mais espessa na safra 20/21, porém, diferindo estatisticamente da safra 21/22. A variedade cultivada PI 4407 de *V. shuttleworthii* exibiu também uma das epidermes mais espessas, não diferindo estatisticamente entre as safras. Em seguida, Bronner, Prior e Calardis Blanc, na safra de 21/22, sendo esta última classificada com menor espessura na respectiva safra. Na safra de 20/21 PI4407 se destaca, seguida de Prior, diferindo estatisticamente das variedades Bronner, e esta das variedades Calardis Blanc e Regent, com menores espessuras na respectiva safra. A exemplo da espessura da cutícula, o genótipo PI4407 (variedade de *V. shuttleworthii*) também possui uma das maiores espessuras da epiderme.

Não há muitos estudos publicados sobre a espessura da epiderme de bagas de uva na literatura. Porém, Chang e Keller (2021) destacam que as células epidérmicas, da variedade Merlot (*V. vinifera*) se encontram achatadas e tangencialmente esticadas no estágio fenológico de maturação. Por outro lado, Fasoli et al. (2016) descrevem que as células epidérmicas da variedade Corvina (*V. vinifera*) é caracterizada por apresentar um formato de telhas retangulares de tamanho pequeno que formam uma camada de células mais espessa que a camada de células localizada abaixo. No presente estudo os tamanhos pequeno e grande da espessura das células epidérmicas foram bem visíveis no microscópio nas amostras avaliadas de todas as variedades. Contudo, o formato e tamanho das células em locais distintos na mesma baga foram variáveis, o que não permitiu inferir sobre padrão varietal específico.

7.2.2 Microscopia óptica

Os dados de microscopia óptica foram oriundos de um delineamento Fatorial Triplo, com parcelas Inteiramente Casualizadas. Os dados primários foram transformados em função logarítmica, quando então apresentaram normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk, homogeneidade pelo teste de Bartlett e independência dos erros pelo teste de Durbin-Watson.

7.2.2.1 Espessura da cutícula

O trifatorial envolvendo safras, tipos de corte de baga e genótipos, apresentou um coeficiente de variação de 1,74%, que é considerado baixo. A análise de variância (ANOVA) revelou interação significativa entre safras e variedades. Na sequência, as médias foram separadas com o uso do teste Tukey de separação de médias a 5% de significância. Considerando a média das duas safras.

PI4407 (população de *V. shuttleworthii*) apresentou maior espessura da cutícula nas duas safras analisadas, porém, foi estatisticamente diferente das demais variedades estudadas, nas duas safras (Figura 22). As demais variedades não apresentaram diferença estatística entre si, sendo classificadas num grupo intermediário de espessura da cutícula, exceto a variedade Regent na safra de 20/21, exibindo um valor inferior de espessura. Assim, os resultados do presente estudo sugerem que as avaliações da espessura da cutícula, com o uso do microscópio óptico, devem ser feitas em mais de uma safra para que sejam representativas.

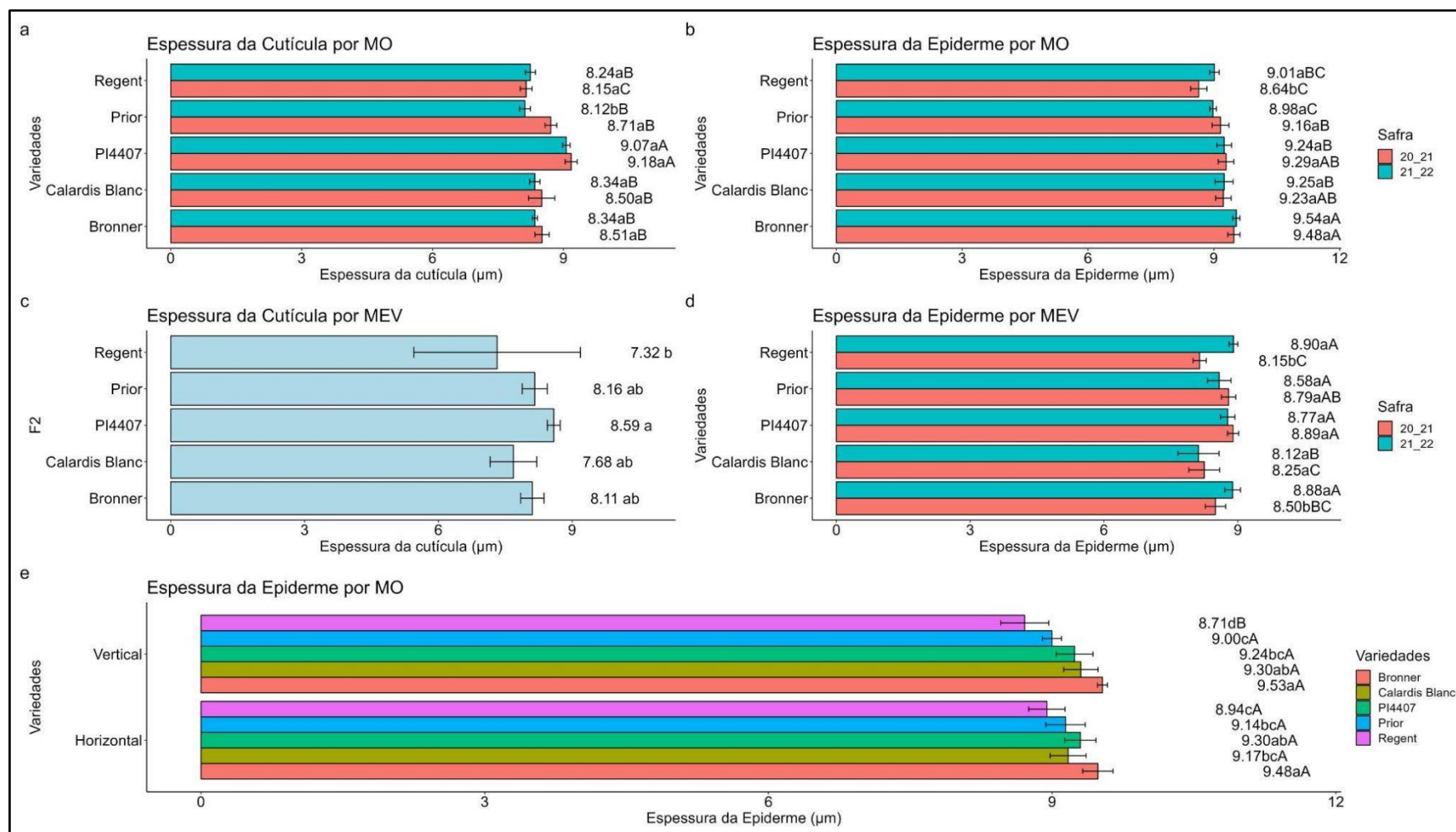
A variedade PI4407 de *V. shuttleworthii* possui uma camada cutícula mais espessa que as outras variedades e a variedade Regent possui uma cutícula mais fina. As variedades intermediárias em espessura da cutícula avaliada em microscopia ótica são Bronner, Calardis Blanc e Prior, apresentando maior desvio padrão entre as variedades.

O tipo de corte da baga não demonstrou efeitos significativos, demonstrando que a maneira de preparar a amostra para análise na microscopia ótica, como a forma de corte, não influencia no valor da espessura da cutícula.

Desse modo, os resultados obtidos referentes a espessura da cutícula por meio da microscopia ótica se diferenciam dos resultados encontrados na microscopia eletrônica de varredura. Além disso, também não corroboram com os valores encontrados na literatura, pois Manzoni (1971) encontrou medidas de espessura da cutícula variável entre espécies, cujos valores foram de 1,5 μm a 3,8 μm em variedades viníferas, 4,1 μm a 4,6 μm em *V. rupestris*, 8,1 μm a 8,5 μm em *V. berlandieri*, alcançando quase 10 μm na espécie *V. coriacea* (Basiônimo de *V. shuttleworthii*).

Porém, o presente estudo também verificou maiores valores de espessura da cutícula na população cultivada da espécie silvestre *V. shuttleworthii* (PI 4407), na microscopia ótica, nas duas safras, e na microscopia eletrônica de varredura somente na safra de 20/21, assim como Chang e Keller (2021), comparativamente às demais. As estimativas da espessura da cutícula do restante das variedades alcançaram valores em torno de 8 μm . Também, a espessura da cutícula da variedade Regent está de acordo com a literatura (Manzoni, 1971), pois exibiu valores de 8,15 μm a 8,24 μm nas distintas safras, para a metodologia de microscopia ótica.

Figura 22 - Valores médios das espessuras de cutícula e epiderme por meio das metodologias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e óptica (MO) nas safras de 20/21 e 21/22 e dois tipos de corte das amostras



Legenda: Médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si nas safras, e letras maiúsculas iguais não diferem entre si nas variedades, para o teste Tukey ($p \leq 0,05$). A) Espessura da cutícula por microscopia óptica (MO), B) Espessura da epiderme por microscopia óptica (MO), C) Espessura da cutícula por microscopia eletrônica (MEV), D) Espessura da epiderme por microscopia eletrônica de varredura (MEV), E) Espessura da epiderme por microscopia óptica (MO). O separador decimal retratado por um ponto “.”, representa uma vírgula “,”. Fonte: Burin (2024)

7.2.2.2 Espessura da epiderme

A espessura da epiderme na microscopia ótica foi baseada na medida da altura das células. A Análise da Variância revelou significância estatística para a interação entre safras e variedades. Dentre os três fatores, houve efeitos significativos entre variedades. O conjunto de dados coletados apresentou um coeficiente de variação de 18,53%, bem maior do que para a espessura da cutícula.

O maior valor de espessura da epiderme com a microscopia ótica foi estimado para a variedade Bronner, seguindo para as variedades Calardis Blanc, PI4407 (*V. shuttleworthii*) e Prior. Por fim, a variedade Regent apresentou a menor camada de epiderme. Esses resultados diferem daqueles encontrados na microscopia eletrônica de varredura (Figura 22), pois a espessura da epiderme estimada das variedades PI4407 e Calardis Blanc apresentaram valores intermediários pela MO, mas valores extremos, o maior e o menor respectivamente, na MEV.

Uma epiderme mais espessa pode impedir que estruturas de infecção, como hifas ou esporos, entrem nas bagas. Isso limita o estabelecimento e propagação dos patógenos. Portanto, para entender os mecanismos de resistência e desenvolver estratégias de manejo de doenças na viticultura, é necessário estabelecer uma relação entre a morfologia da baga da uva e sua suscetibilidade a doenças. O estudo pode fornecer informações importantes sobre quais características morfológicas estão ligadas à resistência ou suscetibilidade a doenças particulares. Isso facilita a identificação de variedades mais resistentes e a criação de métodos de manejo mais eficazes.

7.2.3 Análise visual das estruturas anatômicas dos frutos

A camada de cutícula é bem definida e claramente perceptível na análise da microscopia eletrônica de varredura (Figura 23), apresentando variação nos valores de espessura entre

variedades testadas. A diferença dessa análise para a microscopia óptica (Figura 24) reside no fato de que, além de demandar mais tempo no procedimento de preparo das amostras, a MO é sensível ao manuseio, corte e coloração. Por exemplo, foi verificado que durante a análise das fotos registradas, que as amostras provenientes da microscopia óptica rompiam no ponto de encontro entre a resina e a camada de cutícula (Figura 25, setas), fornecendo dados menos precisos que a microscopia eletrônica de varredura.

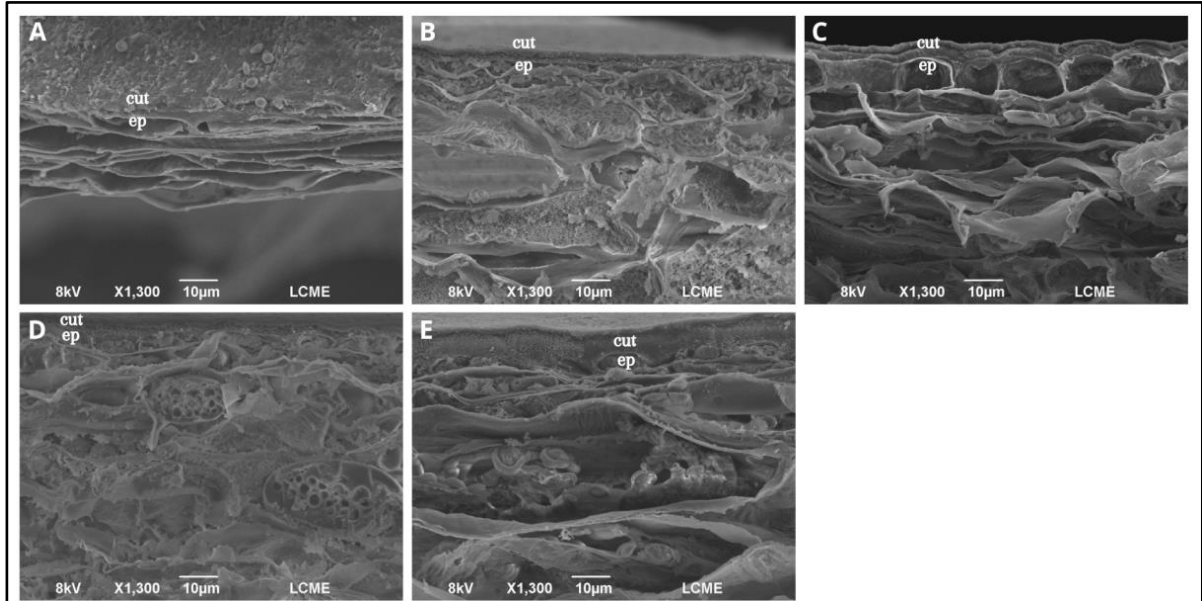
Já a camada epidérmica, a partir do corte transversal, apresentou-se bem definida nos dois métodos de análise microscópicas, o que permitiu visualizar uma camada uniestratificada de células epidérmicas de formatos distintos entre a forma retangular e poucas alargadas lateralmente, assim como encontrado por Monteiro e colaboradores (2013) em folhas de videira e Manzoni (1971) em bagas de videira.

Os esclereídes também foram encontrados no estudo de Esemann-Quadros et al. (2008) em frutos de Feijoa (*Acca sellowiana*), sendo encontradas em grupos ou isoladas em formato isodiamétrico (com diâmetro igual, quadrado). O que corrobora com o encontrado no presente estudo, células encontradas de forma isolada e com formato isodiamétrico. O estudo de Esemann-Quadros et al. (2008) ainda aborda que tais células são comuns em partes macias de muitos frutos. O estudo menciona também que a presença destas células nos frutos imaturos e maduros garante uma proteção contra predadores, devido à presença da lignina.

Pinto e colaboradores (2003) também observaram esclereídes de forma isolada ou em grupos de 2 a 20 células, com paredes espessas, lignificadas e pontuadas. Resultados similares foram encontrados no presente estudo, onde a coloração de azul de toluidina proporcionou uma reação positiva com as regiões lignificadas da parede das células epidérmicas, assim como as esclereídes.

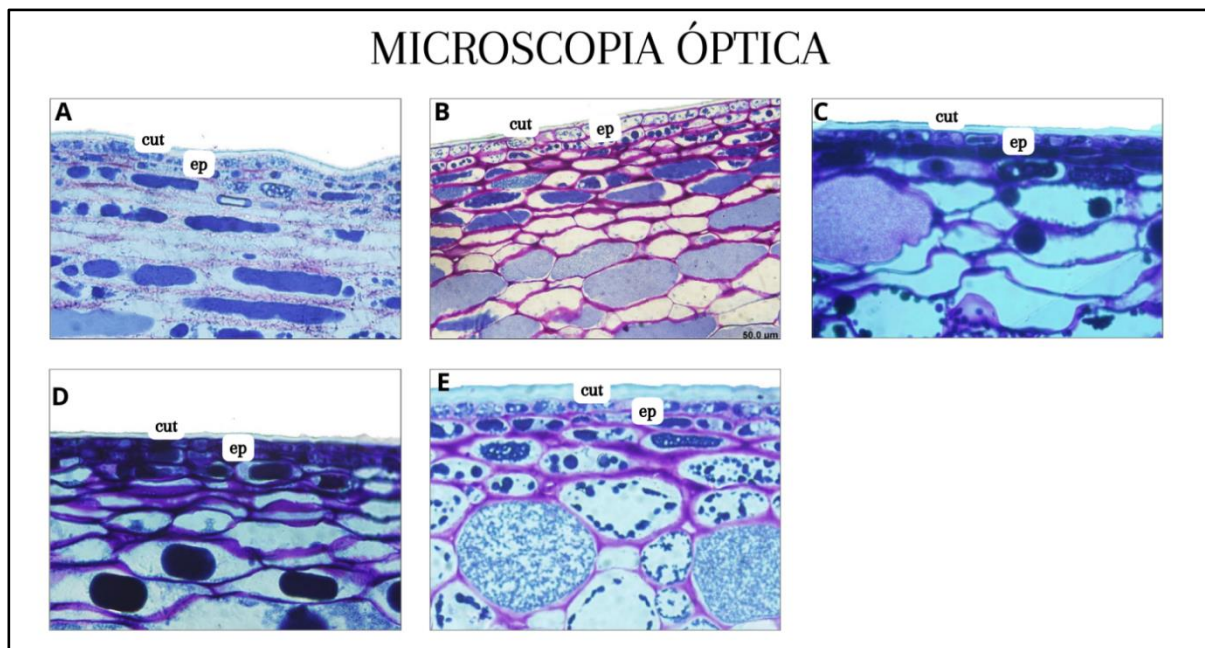
Também foram encontradas diversas células de formato alargado e maiores do que as células epidérmicas, apresentando reação positiva (rosa) ao azul de toluidina. Segundo a literatura, tais células são denominadas de idioblastos e encontradas em tecidos subepidérmicos (Gomes, 2008; Lersten; Curtis, 1995). Em um estudo com folhas de genótipos de *Vitis* spp. foi constatado a presença de idioblastos cristalíferos, confirmando a presença de oxalato de cálcio e compostos fenólicos (Monteiro et al., 2013).

Figura 23 - Fotografias da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das variedades Bronner (A), Calardis Blanc (B), Prior (C), Regent (D) e PI 4407, variedade cultivada da espécie *Vitis shuttleworthii* (E), demonstrando as camadas de cutícula (cut) e epiderme (ep).



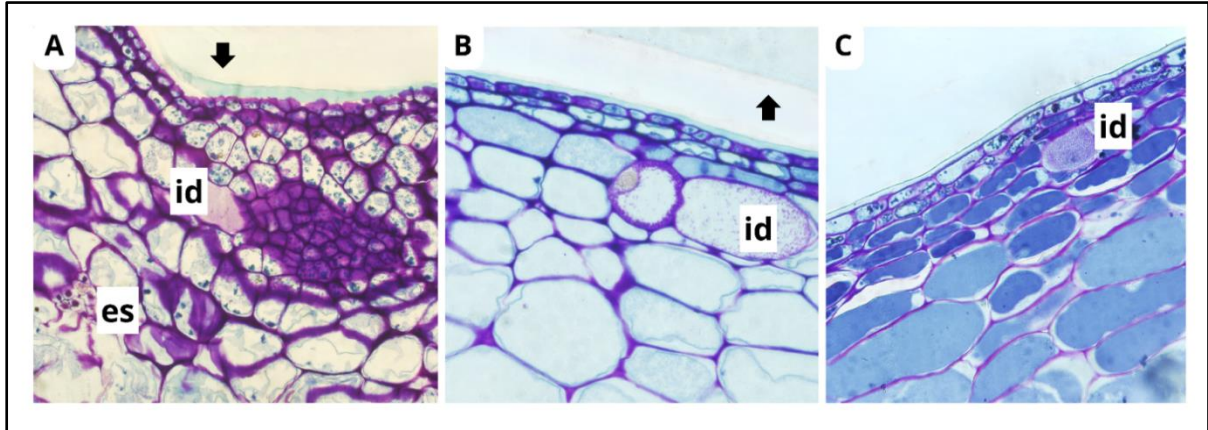
Legenda: Escala de magnificação 1.300X. Fonte: Burin (2024)

Figura 24 - Fotografias da Microscopia Óptica das variedades Bronner (A), Calardis Blanc (B), Prior (C), Regent (D) e PI 4407, variedade cultivada da espécie cultivada *Vitis shuttleworthii* (E), demonstrando as camadas de cutícula (cut) e epiderme (ep)



Legenda: Escala de magnificação 40X. Fonte: Burin (2024)

Figura 25 - Fotografias da Microscopia Óptica das variedades Prior (A), mostrando o idioblasto (id), o esclereíde (es) e a ruptura entre a historesina e a amostra (seta); Prior (B), demonstrando idioblasto (id) duplo com paredes lignificadas e Bronner (C) exibindo o idioblasto (id)



Fonte: Burin (2024)

7.3 CONCLUSÕES

No presente estudo as estimativas da espessura da epiderme e da cutícula de bagas de videira variaram de acordo com o método de observação usado. Em comparação com a microscopia ótica, a microscopia eletrônica de varredura forneceu estimativas mais precisas e menos variáveis. Os resultados mostraram que a espécie cultivada PI4407 (*Vitis shuttleworthii*) possui as maiores espessuras de cutícula entre as variedades estudadas, seguida das variedades Prior, Bronner, Regent e Calardis Blanc.

De forma semelhante, os valores de espessura da epiderme para cada uma das cinco variedades formaram um ranqueamento similar, com Calardis Blanc apresentando um dos menores valores e PI4407 entre as variedades com maiores valores de espessura da epiderme.

Não houve diferença estatística entre as médias da espessura da cutícula avaliadas nas duas formas de corte da baga horizontal e transversal. Isso indica que a espessura da cutícula é homogênea em várias orientações da amostra. Contudo, para a espessura da epiderme houve diferença estatística entre os cortes somente para a variedade Regent.

A observação de que a variedade PI4407 apresentou uma espessura de cutícula maior em todas as safras na microscopia ótica e de varredura e uma das maiores espessuras de epiderme pelas duas metodologias, sugere que ela tenha características morfológicas que a distinguem das outras variedades examinadas. Mas a variação nos valores estimados para as outras variedades sugere que novos estudos são necessários para entender essas diferenças e suas implicações.

É fundamental lembrar que as análises microscópicas, sejam óticas ou eletrônicas, estão sujeitas às condições experimentais e à interpretação do observador. Os resultados podem variar por causa de pequenas alterações na preparação das amostras ou na escolha dos métodos de medição. Como resultado, a uniformização dos procedimentos de análise é essencial, e os resultados devem ser validados comparando-os com outras técnicas ou estudos independentes. Essa observação destaca a complexidade da caracterização morfológica das uvas e a necessidade de abordagens metodológicas uniformes para garantir que os dados obtidos sejam precisos. A integração de diferentes técnicas de análise e a replicação de estudos podem contribuir para uma compreensão mais abrangente e precisa das características morfológicas das uvas e seu impacto na resistência a doenças e na qualidade do fruto.

REFERÊNCIAS

- BERLYN, G.; MIKSCHE, J. 1976. Botanical Microtechnique and Cytochemistry. **Systematic Botany**, v. 1, n. 2, p. 200. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/2418781>>. Acesso em: 10/01/24. DOI: <https://doi.org/10.2307/2418781>
- CHANG, B.-M.; KELLER, M. 2021. Cuticle and skin cell walls have common and unique roles in grape berry splitting. **Horticulture Research**, v. 8, n. 168. Disponível em: <<https://academic.oup.com/hr/article/doi/10.1038/s41438-021-00602-2/6446782>>. Acesso em: 17/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00602-2>
- ESEMANN-QUADROS, K.; MOTA, A.P.; KERBAUY, G.B.; GUERRA, M.P.; DUCROQUET, J.P.H.J.; PESCADOR, R. 2008. Estudo anatômico do crescimento do fruto em *Acca sellowiana* Berg. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 30, n. 2, p. 296-302. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbf/a/3TSxfsWvhnPw4NmVypygDq/?format=html#>>. Acesso em: 26/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000200005>
- FASOLI, M.; DELL'ANNA, R.; DAL SANTO, S.; BALESTRINI, R.; SANSON, A.; PEZZOTTI, M.; MONTI, F.; ZENONI, S. 2016. Pectins, Hemicelluloses and Celluloses Show Specific Dynamics in the Internal and External Surfaces of Grape Berry Skin During Ripening. **Plant and Cell Physiology**, v. 57, n. 6, p. 1332–1349. Disponível em: <<https://academic.oup.com/pcp/article/57/6/1332/2461195?login=false>>. Acesso em: 11/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw080>.
- GOMES, S.M. 2008. Morfo-anatomia de frutos secos em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. **Acta Bot. Bras.**, v. 22, n. 2, p. 521-534. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/abb/a/Rk7GFJ4JjRqj6QCHfR5v8dM/#>>. Acesso em: 18/01/24. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062008000200019>
- KARNOVSKY, M.J. 1965. Um fixador formaldeído-glutaraldeído de alta osmolalidade para uso em microscopia eletrônica. **Jornal de Biologia Celular**, 27, 137-138A.
- LERSTEN, N.R.; CURTIS, J.D. 1995. Two Foliar Idioblasts of Taxonomic Significance in *Cercidium* and *Parkinsonia* (Leguminosae: Caesalpinioideae). **American Journal of Botany**, v. 82, n. 5, p. 565-570. Disponível em: <<https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.1537-2197.1995.tb11500.x>>. Acesso em: 05/01/24. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1995.tb11500>.
- MANZONI, L. **Anatomia della vite**. 1971. 297p.
- MAUL *et al.* 2024. **Vitis International Variety Catalogue**. Disponível em:<www.vivc.de>. Acesso em: 10/02/24.
- MONTEIRO, A., TEIXEIRA, G., LOPES, C.M. 2013. Comparative leaf Micromorphoanatomy of *Vitis vinifera* spp. Vinifera (Vitaceae) red cultivars. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 28, n. 1, p. 19-28. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10400.5/6374>>. Acesso em: 02/12/23.
- PINTO, D.D.; MOURIO, K.S.M.; SOUZA, L.A. de; MOSCHETA, I.S. 2003. Morfo-anatomia do Fruto e da Semente em Desenvolvimento de Guarea Macrophylla Vahl.

(Meliaceae). **Acta Científica Venezolana**, v. 54, n. 4, p. 238-46. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/7825974_Morphology_and_anatomy_of_the_fruit_and_seed_in_development_of_Guarea_Macrophylla_Vahl_Meliaceae>. Acesso em 10/12/23.

R Core Team. 2023. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Disponível em: <<https://www.R-project.org>>. Acesso em 07/12/23.

ANEXO

Anexo 1. Fixador karnovsky

Primeiramente, 2 g de paraformaldeído em pó são dissolvidos em 25 ml de água por aquecimento a 60-70°C e agitação. Uma a três gotas de 1 NaOH são adicionadas com agitação até que a solução limpe. A solução é resfriada, 5 ml de glutaraldeído 50% são adicionados, e o volume é feito para 50 ml com 0,2 M tampão cacodilato ou fosfato, pH 7,4-7.6. O pH final é de 7,2. Se cacodilato é usado, 25 mg CaCl₂ anidro é adicionado. Os tecidos de 3 a 4 mm são fixados à temperatura ambiente por 20 a 30 minutos e depois são cortados em cubos em pequenos blocos. A fixação é contínua à temperatura ambiente por 2 a 5 Horas.

8. CAPÍTULO 4 – SEVERIDADE DO *Colletotrichum* spp. EM VARIEDADES DE UVA E CORRELAÇÃO COM AS BARREIRAS MECÂNICAS DA FRUTA.

RESUMO

Após o reconhecimento do patógeno pela planta, múltiplos mecanismos de defesa são ativados, incluindo barreiras físicas pré-formadas. Os processos induzidos seguem uma sequência lógica, tornando a resistência a regra, e a susceptibilidade uma exceção. A resistência do hospedeiro é definida como sua capacidade de atrasar ou evitar a infecção, usando mecanismos como barreiras estruturais pré-formadas como a camada de epiderme e cutícula. Dessa forma, visando analisar o efeito destas barreiras na susceptibilidade de variedades a podridão da uva madura, foram realizados testes de severidade com o isolado GL_VI_19 em bagas de uvas das variedades Bronner, Calardis Blanc, Prior, Regent e PI4407 (*Vitis shuttleworthii*), coletadas aleatoriamente no estágio fenológico de colheita e a análise de correlação entre a espessura da epiderme e cutícula e as variáveis dependentes de diâmetro do sintoma (mm) e período de incubação (PI - dias). Os resultados da ANOVA revelaram significância nos dados de severidade da doença, indicando pelo menos uma média significativamente diferente das demais. A variedade Bronner mostrou os maiores diâmetros do sintoma, juntamente com a variedade Prior, evidenciando maior sensibilidade ao patógeno testado, enquanto Calardis Blanc e PI4407 (variedade cultivada de *V. shuttleworthii*) demonstraram maior resistência. Regent apresentou um diâmetro do sintoma intermediário. A análise do período de incubação destacou novamente a resistência da variedade PI4407, seguida da Prior, Bronner, Calardis Blanc e Regent. A análise de correlação foi positiva entre a espessura da epiderme, cutícula e o tipo de amostra para a variável diâmetro do sintoma, e linear fraca entre a espessura da cutícula e o período de incubação. Tais dados sugerem que as barreiras físicas da espessura da camada de epiderme e cutícula, atrasam o desenvolvimento do sintoma, ocasionando em uma menor severidade da podridão da uva madura, e que as barreiras mecânicas estão correlacionadas com as distintas variedades testadas. Por fim, a ausência de literatura sobre a correlação entre as variáveis mencionadas e a podridão da uva madura destaca a importância da análise realizada neste estudo, fornecendo insights valiosos sobre a resistência de diferentes variedades ao patógeno *Colletotrichum* spp.

Palavras chave: Cutícula; Epiderme; Podridão; Resistência; *Vitis*.

ABSTRACT

After the pathogen is recognized by the plant, multiple defense mechanisms are activated, including pre-formed physical barriers. The induced processes follow a logical sequence, making resistance the rule and susceptibility the exception. Host resistance is defined as its ability to delay or avoid infection, using mechanisms such as pre-formed structural barriers like the epidermis layer and cuticle. Therefore, to analyze the effect of these barriers on the susceptibility of grape varieties to grape ripe rot, severity tests were carried out with isolate GL_VI_19 on grape berries from the Bronner, Calardis Blanc, Prior, Regent and PI 4407 (*Vitis shuttleworthii*) varieties, collected randomly at the phenological stage of harvest and the correlation analysis between the thickness of the epidermis and cuticle and the dependent variables of symptom diameter (mm) and incubation period (PI - days). The ANOVA results revealed significance in the disease severity data, indicating at least one mean that was significantly different from the others. The Bronner variety showed the largest symptom diameters, along with the Prior variety, showing greater sensitivity to the pathogen tested, while Calardis Blanc and PI 4407 showed greater resistance. Regent had an intermediate symptom diameter. Analysis of the incubation period again highlighted the resistance of the *V. shuttleworthii* variety, followed by Prior, Bronner, Calardis Blanc and Regent. The correlation analysis was positive between the thickness of the epidermis and cuticle and the type of sample for the symptom diameter variable and weak linear between cuticle thickness and incubation period. These data suggest that the physical barriers of the thickness of the epidermis and cuticle layer delay the development of the symptom, resulting in a lower severity of the grape ripe rot and that the mechanical barriers are correlated with the different varieties tested. Finally, the lack of literature on the correlation between the mentioned variables and grape ripe rot highlights the importance of the analysis carried out in this study, providing valuable insights into the resistance of different varieties to the *Colletotrichum* spp. pathogen.

Keywords: Cuticle; Epidermis; Rot; Resistance; *Vitis*.

8.1 INTRODUÇÃO

No processo evolutivo, as plantas foram incorporando mecanismos de defesa que as tornam mais resistentes, algumas até imunes, a patógenos. Quando a planta é desafiada por um patógeno, esses mecanismos podem ser ativados rapidamente, o que lhes proporciona a resistir à infecção (Camili et al., 2007). Os mecanismos de defesa das plantas incluem respostas imunes induzidas, como a produção de proteínas antimicrobianas, fitoalexinas e metabólitos secundários, que impedem, por exemplo, o crescimento ou a propagação dos patógenos. Além disso, os diversos mecanismos estruturais pré-formados das plantas, como tricomas, estômatos e cutícula, impedem ou dificultam a entrada e colonização dos patógenos (Gururani et al., 2012; Parlevliet, 1997).

É importante observar que, embora a maioria das plantas tenha resistência às infecções, existe variação genética entre cultivares e entre espécies. Devido a variações genéticas, ambientais, climáticas ou interações com outros organismos, as distintas plantas de uma mesma espécie podem reagir diferentemente a um mesmo patógeno, desde a completa vulnerabilidade até a alta resistência ou mesmo, imunidade. Portanto, é necessário entender os mecanismos de resistência das plantas e como elas interagem com patógenos para desenvolver ou aperfeiçoar as práticas de manejo que se tornem eficientes contra os agentes causadores de doenças de importância agrícola. A escolha ou desenvolvimento de variedades mais resistentes, o uso de práticas de manejo que melhoram a saúde das plantas e a criação de novas tecnologias para combater doenças podem ser exemplos disso (Gururani et al., 2012; Parlevliet, 1997).

Processos bioquímicos, moleculares (genéticos e epigenéticos) e fisiológicos estão envolvidos na complexa interação entre a planta e o agente patogênico, que resulta na resistência das plantas a patógenos. Uma cascata de eventos é desencadeada quando a planta reconhece o patógeno. Isso inclui a ativação de vários genes e a ativação de vários mecanismos de defesa. Esses processos ocorrem sequencialmente e de forma coordenada, usando uma variedade de rotas de sinalização intracelular para organizar a resposta imune da planta. A produção de fitoalexinas, proteínas antimicrobianas, enzimas que degradam patógenos, resposta de hipersensibilidade e outras estratégias de defesa podem fazer parte disso (Gururani et al., 2012).

No entanto, com o tempo, os patógenos também evoluíram para superar esses mecanismos de defesa das plantas, o que pode resultar em suscetibilidade dos hospedeiros. Os patógenos podem se esconder para não serem reconhecidos pela planta, quebrar suas respostas de defesa ou explorar certas vulnerabilidades da planta. Como resultado, embora a resistência seja predominante, a suscetibilidade pode surgir em determinadas circunstâncias, quando os patógenos conseguem superar ou contornar os mecanismos de defesa da planta. Para criar métodos eficientes para controlar doenças e garantir a segurança e a produtividade dos cultivos agrícolas, é necessário entender essas interações entre plantas e patógenos (Amorim et al., 2011).

Neste aspecto, a resistência de um hospedeiro a um patógeno é definida como a capacidade do hospedeiro em atrasar ou evitar a infecção pelo patógeno, utilizando-se de seus mecanismos, por exemplo, os estruturais pré-formados, como a camada de cutícula e epiderme.

Dessa forma, o objetivo deste capítulo é avaliar a severidade dos sintomas da podridão da uva madura e o período de incubação de dois isolados de *Colletotrichum* spp., por meio do teste de separação de médias e pela epidemiologia temporal, correlacionando-os com as espessuras da camada da epiderme e da cutícula de frutos, de distintas variedades de videira, a fim de investigar o papel destas barreiras mecânicas no mecanismo de defesa da planta contra o referido patógeno.

8.2 METODOLOGIA

8.2.1 Coleta das amostras

Foram coletadas no vinhedo da estação experimental de Videira, durante o estágio fenológico de colheita e de forma aleatória, bagas de uvas das variedades Niágara Rosada, Poloskey Muscotaly, Concord, Helios, Calardis Blanc, Felícia, Sauvignon Blanc, Souvignier Gris, Bronner, Prior, Regent, Sibera, Couderc 13, Couderc Tinta e PI4407 (*Vitis shuttleworthii*).

8.2.2 Implementação do ensaio experimental

O ensaio foi realizado no Laboratório de Estudos da Uva e do Vinho (NEUVIN/UFSC), com os isolados GL_VI_19, do Complexo Acutatum, isolado da variedade Felícia (PIWI),

cultivada no vinhedo da EPAGRI, Videira - SC e o isolado GL_VI_47, do Complexo Gloeosporioides, isolado da variedade Calardis Blanc (PIWI), cultivada no vinhedo da Fazenda Experimental da UFSC.

As bagas de uva dos distintos genótipos foram desinfectadas por assepsia em ambiente esterilizado, utilizando hipoclorito de sódio (NaClO) 0,5 % por 10 min, imersão em álcool etílico 70% por um minuto e em água esterilizada por três vezes, seguindo o protocolo de (Cia et al., 2009). Posteriormente, as bagas foram secas por 30 min em temperatura ambiente.

Na sequência, as bagas foram inoculadas com uma gota da suspensão de conídios, realizada na concentração de esporos de 10^6 conidia/mL com o auxílio da câmara de Neubauer e de um microscópio óptico, previamente preparado, e inseridas em ambiente controlado com temperatura em torno de 25 °C, 80% de umidade e fotoperíodo de 12 h. O experimento contou com cinco repetições de cada variedade.

8.2.3 Análise da severidade da podridão da uva madura

Cada amostra foi monitorada, fotografada em lupa estereoscópica, no aumento de 40x diariamente com a ajuda de um paquímetro digital, tomadas as medidas de diâmetro do sintoma durante dez dias. Os dados foram compilados para análise do diâmetro do sintoma no último dia de avaliação para estimar a severidade máxima (Smax) e o período de incubação do patógeno (PI).

As análises de sensibilidade das variedades de uva ao fungo *Colletotrichum* spp. foram realizadas no *software* R (R Core Team, 2023). As características analisadas foram o período de incubação do fungo na baga (PI) e o diâmetro do sintoma da doença na baga de uva, no último dia de avaliação (dia 10). Os dados de diâmetro foram transformados em \log_{10} e avaliados em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC). Para essa análise foi necessária a instalação dos pacotes *agroR*, *Esp.Des.pt*, *stats*, e *dplyr* no *software* R. Os dados foram submetidos à ANOVA e ao teste Tukey de comparação de médias a 5% de significância.

8.3. RESULTADOS

A ANOVA revelou significância nos dados de diâmetro do sintoma (mm) da doença, havendo pelo menos uma média significativamente diferente das demais. Para o isolado GL_VI_19 as variedades foram separadas em três grupos distintos (Tabela 6). A variedade Merlot apresentou os maiores valores de diâmetro do sintoma em milímetros da podridão da uva madura no último dia de avaliação, seguida das variedades Prior e Bronner, representando o último grupo, com as maiores médias, quase cobrindo a superfície da baga, sendo as variedades mais sensíveis ao patógeno testado.

Em seguida, o grupo intermediário de diâmetro do sintoma engloba as variedades Sauvignon Blanc, Souvignier Gris, Regent, Calardis Blanc, Helios e Couderc Tinta. Por fim, o grupo considerado superior em termos de resistência, com os menores valores de diâmetro de sintoma foram as variedades Poloskey Muscotaly, Felicia, PI4407, Sibera, Couderc 13, Niágara Rosada e a variedade Concord, apresentando menor severidade da referida doença.

No caso do isolado GL_CU_47, o teste de separação de médias Scott Knott ($p < 0,05$) detectou diferença estatística e separou as variedades em quatro grupos (Tabela 6). As variedades Merlot, Prior, Bronner, Sauvignon Blanc e Souvignier Gris exibiram o maior diâmetro do sintoma podridão da uva madura, seguida das variedades Regent, Calardis Blanc, Helios, Couderc Tinta e Felicia, que formaram o grupo intermediário, com valor de diâmetro do sintoma da doença reduzido comparativamente às variedades mais suscetíveis, indicando uma reação intermediária de sensibilidade e diferindo estatisticamente das demais variedades. Igualmente com diferenças estatisticamente significativas o terceiro grupo de variedades formado por PI4407 e Sibera. Os menores valores de diâmetro do sintoma foram revelados pelas variedades Couderc 13, Niágara Rosada e Concord.

É relevante destacar que na comparação entre os isolados, as variedades Sibera, Felicia e Poloskey Muscotaly apresentaram diferenças estatísticas. No entanto, a maioria das variedades avaliadas, Niágara Rosada, Concord, Helios, Calardis Blanc, Sauvignon Blanc, Souvignier Gris, Bronner, Prior, Regent, Couderc 13, Couderc Tinta e PI 4407 (*V. shuttleworthii*), não apresentou diferenças estatísticas na severidade da podridão da uva madura, quando inoculadas por distintos isolados. Este resultado é mais uma evidência de que também em Santa Catarina, mais do que uma espécie de *Colletotrichum* está envolvido nos sintomas da podridão da uva madura.

Os resultados do experimento de severidade da podridão da uva madura em genótipos de *Vitis* spp. têm semelhanças com o estudo realizado por Hilha e colaboradores (2024), onde as bagas de PI4407 comportaram-se como altamente resistentes, porém, diferentemente do referido estudo, no presente estudo parece não haver correlação entre a coloração da baga e a severidade da doença, assim como a coloração da baga não obteve correlação com a espessura da cutícula, referida acima.

No presente estudo, realizado em laboratório, a variedade Bronner revelou-se ser uma das variedades mais suscetíveis à podridão da uva madura, dentre as testadas. Resultado similar já havia sido obtido a campo tanto para Bronner, como para as variedades Regent, Calardis Blanc e Prior que também apresentaram um nível inferior e intermediário de susceptibilidade a podridão da uva madura em condições de pomar a campo (Hilha et al., 2024).

De acordo com Shiraishi et al. (2007), híbridos interespecíficos entre *V. labrusca* e *V. vinifera*, apresentaram maior resistência ao *Colletotrichum acutatum* do que as variedades viníferas. Isso pode ser devido a sua rusticidade genética, permitindo mecanismos de defesa contra patógenos, como por exemplo uma maior espessura da camada de cutícula e epiderme do que as variedades domesticadas. Oliver (2016) também observou que as variedades viníferas, nesse estudo Chardonnay, Cabernet Franc e Cabernet Sauvignon, apresentam maior susceptibilidade ao *Colletotrichum* spp. pela medição da porcentagem de bagas infectadas por cacho. No estudo de Steel et al. (2007) a variedade Riesling foi susceptível ao *Colletotrichum* spp. e a *Greeneria uvicola*, após 12 dias de inoculação.

Por outro lado, os estudos da literatura científica, como o de Hsieh et al. (2023), relatam que as espécies silvestres de videiras orientais como *V. amurensis*, *V. heyneana*, *V. quinquangularis*, e *V. davidi*, são altamente resistentes aos patógenos causadores da podridão da uva madura, assim como uvas de mesa e materiais de melhoramento genético do leste asiático, tais como as variedades provenientes do melhoramento interespecífico entre *V. vinifera* e *V. labruscana*, 'Shine Muscat', 'Oriental Star', entre outras, sendo altamente resistentes ao *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, assim como 'Bailey Alicante A' e 'Muscat Bailey A'.

Por outro lado, poucos estudos foram encontrados na literatura quanto à resistência de genótipos PIWI e variedades de *V. labrusca* à podridão da uva madura, assim como sobre as

variedades cultivadas da videira silvestre americana, *V. shuttleworthii*. O catálogo internacional de variedades de *Vitis* spp. (*Vitis* International Variety Catalogue - VIVC) contém uma lista de descritores para a doença em questão, utilizando de níveis de resistência baixo, elevado (*V. amurensis*) e muito elevado (variedade de *Vitis labrusca* - Isabel). O catálogo ainda informa sobre os genes de resistência introduzidos por cruzamentos entre espécies americanas e asiáticas das variedades Bronner, Calardis Blanc, Prior e Regent (todas PIWIs), possuindo graus de resistência ao míldio e ao oídio. Porém, a espécie silvestre não cultivada descrita no catálogo com o código 13608, apresenta artigos publicados relacionando-a com graus de resistência à antracnose (*Elsinoë ampelina*), podridão negra (*Guignardia bidwellii*), oídio (*Erysiphe necator*), entre outras doenças, não sendo relatado graus de resistência à podridão da uva madura.

Tabela 6: Comparação das médias de diâmetro da lesão (mm), causada pelos isolados GL_VI_19 (*Colletotrichum* spp., Species Complex *Acutatum*) e GL_CU_47 (*Colletotrichum* spp., Species Complex *Gloeosporioides*) nas variedades listadas abaixo, após 10 dias de inoculação

DIÂMETRO DA LESÃO (mm)		
VARIEDADE	GL VI 19	GL CU 47
Concord	0,3 a A	0,3 a A
Niágara Rosada	0,3 a A	0,3 a A
Couderc 13	0,4 a A	0,3 a A
Sibera	0,3 a A	0,6 b B
PI4407	0,4 a A	0,5 a B
Felicia	0,3 a A	0,8 b C
Poloskey Muscotaly	0,3 a A	1,1 b D
Couderc Tinta	0,9 a B	0,7 a C
Helios	0,9 a B	0,9 a C
Calardis Blanc	0,9 a B	1,0 a C

Regent	0,9 a B	0,9 a C
Souvignier Gris	1,0 a B	1,0 a D
Sauvignon Blanc	1,0 a B	1,0 a D
Bronner	1,1 a C	1,1 a D
Prior	1,2 a C	1,1 a D
Merlot	1,2 a C	1,2 a D
CV	21,1%	

Legenda: Médias seguidas de mesmas letras minúsculas iguais não diferem entre si nas colunas, e letras maiúsculas iguais não diferem entre si nas linhas, para o teste Scott Knott ($p \leq 0,05$). Os dados primários foram transformados em \log_{10} . Fonte: Burin (2024)

Em termos do período de incubação (PI) dos isolados GL_VI_19 e GL_CU_47, a ANOVA revelou significância estatística entre os tratamentos. O coeficiente de variação foi de 27,4%. O resultado mais relevante nessa análise é o longo período de incubação das variedades Concord, Felicia, Poloskey Muscotaly e Sibera para o isolado GL_VI_19 e as variedades Concord, Couderc 13 e Niágara Rosada para o isolado GL_CU_47, apresentando o valor máximo de período de incubação, 10 dias (Tabela 7).

As variedades Calardis Blanc, Souvignier Gris e PI4407 (*V. shuttleworthii*), também apresentaram períodos longos de incubação, beirando o valor máximo, reafirmando uma maior resistência desses genótipos aos patógenos testados. No nível intermediário estão dispostas as variedades Bronner, Helios, Sauvignon Blanc, Prior, Regent, Merlot e Couderc Tinta para o isolado GL_VI_19 e as variedades Bronner, Sibera, Sauvignon Blanc, Regent, Merlot e Couderc Tinta para o isolado GL_CU_47. O menor PI foi verificado para variedade Couderc Tinta quando inoculada com o isolado GL_VI_19 e para Regent quando inoculada com o isolado GL_CU_47. Entretanto, cabe ressaltar que houve diferença estatística nas médias das variedades Sibera e Couderc Tinta entre os dois isolados.

Em tese, as variedades com maior PI, sugerindo maior potencial de retardamento do sintoma, também exibem menores danos causados pelo patógeno. De fato, no presente estudo as variedades Concord, Niágara Rosada, Sibera, Poloskey Muscotaly, Couderc 13 e PI4407,

que apresentaram os maiores períodos de incubação e tiveram os menores diâmetros do sintoma da podridão da uva madura. Esse resultado corrobora com os resultados encontrados por Hilha et al. (2024), onde a variedade cultivada PI4407, obteve menor valor de PI e de diâmetro do sintoma. Em conjunto, os resultados sugerem que as variedades acima mencionadas neste parágrafo possuem barreiras mecânicas, tais como a maior espessura da epiderme e da cutícula do fruto, o que contribui para o retardamento da entrada e colonização do patógeno.

No outro extremo, as variedades com menores valores de PI, como por exemplo Regent e Couderc Tinta, demonstraram serem frágeis à entrada e a colonização do patógeno (Tabela 6). Entretanto, as duas variedades citadas devem ter acionados mecanismos de retardamento da evolução da doença após a infecção, já que, na análise de diâmetro do sintoma da doença no último dia de avaliação, revelaram valores intermediários de sensibilidade a podridão da uva madura (Tabela 6). De forma geral, o período de incubação não deve ser tomado como indicativo definitivo de resistência ou suscetibilidade à podridão da uva madura.

Tabela 7. Médias do período de incubação (PI) em dias, dos isolados GL_VI_19 (*Colletotrichum* spp., Species complex *Acutatum*) e GL_CU_47 (*Colletotrichum* spp. Species complex *Gloeosporioides*)

PERÍODO DE INCUBAÇÃO (dias)		
VARIEDADE	GL VI 19	GL CU 47
Concord	10,0 a B	10,0 a B
Felicia	10,0 a B	8,4 a B
Poloskey Muscotaly	10,0 a B	8,2 a B
Sibera	10,0 b B	6,8 a A
Couderc 13	9,4 a B	10,0 a B
Calardis Blanc	9,0 a B	8,4 a B
Souvignier Gris	8,7 a B	7,6 a B
Niágara Rosada	8,6 a B	10,0 a B
PI4407	8,4 a B	8,6 a B

Bronner	6,4 a A	5,0 a A
Helios	6,2 a A	7,4 a B
Sauvignon Blanc	5,8 a A	5,4 a A
Prior	5,6 a A	7,2 a B
Regent	5,6 a A	4,0 a A
Merlot	4,2 a A	5,0 a A
Couderc Tinta	3,8 a A	6,8 b A
CV		27,4%

Legenda: Médias seguidas de mesmas letras minúsculas não diferem entre si na coluna, e médias de mesmas letras maiúsculas não diferem entre si nas linhas para o teste Scott Knott a $p < 0,05$ de significância. Fonte: Burin (2024)

Por meio da análise de epidemiologia temporal das variedades e isolados estudados no presente estudo, é possível complementar os dados apresentados pelo teste Scott Knott de separação de médias. A variedade Merlot apresentou visualmente os sintomas da podridão da uva madura de forma muito precoce, antes mesmo que qualquer outra variedade estudada (Figura 26). Do mesmo modo, os sintomas evoluíram com grande rapidez, atingindo o máximo de incremento da doença no quarto dia (Figura 27), com um incremento de mais de 10 mm com o isolado GL_VI_19, metade deste valor para o isolado GL_CU_47 (Tabela 8), logo após estabilizando os sintomas, ou seja, englobando toda a baga. Também se percebe uma maior agressividade do fungo GL_VI_19 sobre a variedade em questão.

Também, a variedade Prior, iniciou os maiores incrementos de sintoma a partir do quinto dia (Figura 26), atingindo seu pico máximo em torno do sétimo dia para o isolado GL_VI_19, que atingiu incremento maior e em menos tempo, mostrando-se mais agressivo para esta variedade do que o outro isolado (Figura 27). Da mesma forma, os sintomas e o pico máximo de sintoma foram rápidos, sugerindo uma susceptibilidade da planta em relação aos patógenos.

Do mesmo modo, a variedade Bronner foi extremamente suscetível, atingindo um dos maiores diâmetros de sintoma da doença, e em menor tempo. Já a variedade Helios, apesar de iniciar os sintomas com precocidade, estes evoluíram de forma mais lenta que as já citadas

acima para o isolado GL_CU_47. Contudo, o isolado GL_VI_19 não apresentou agressividade na variedade Helios.

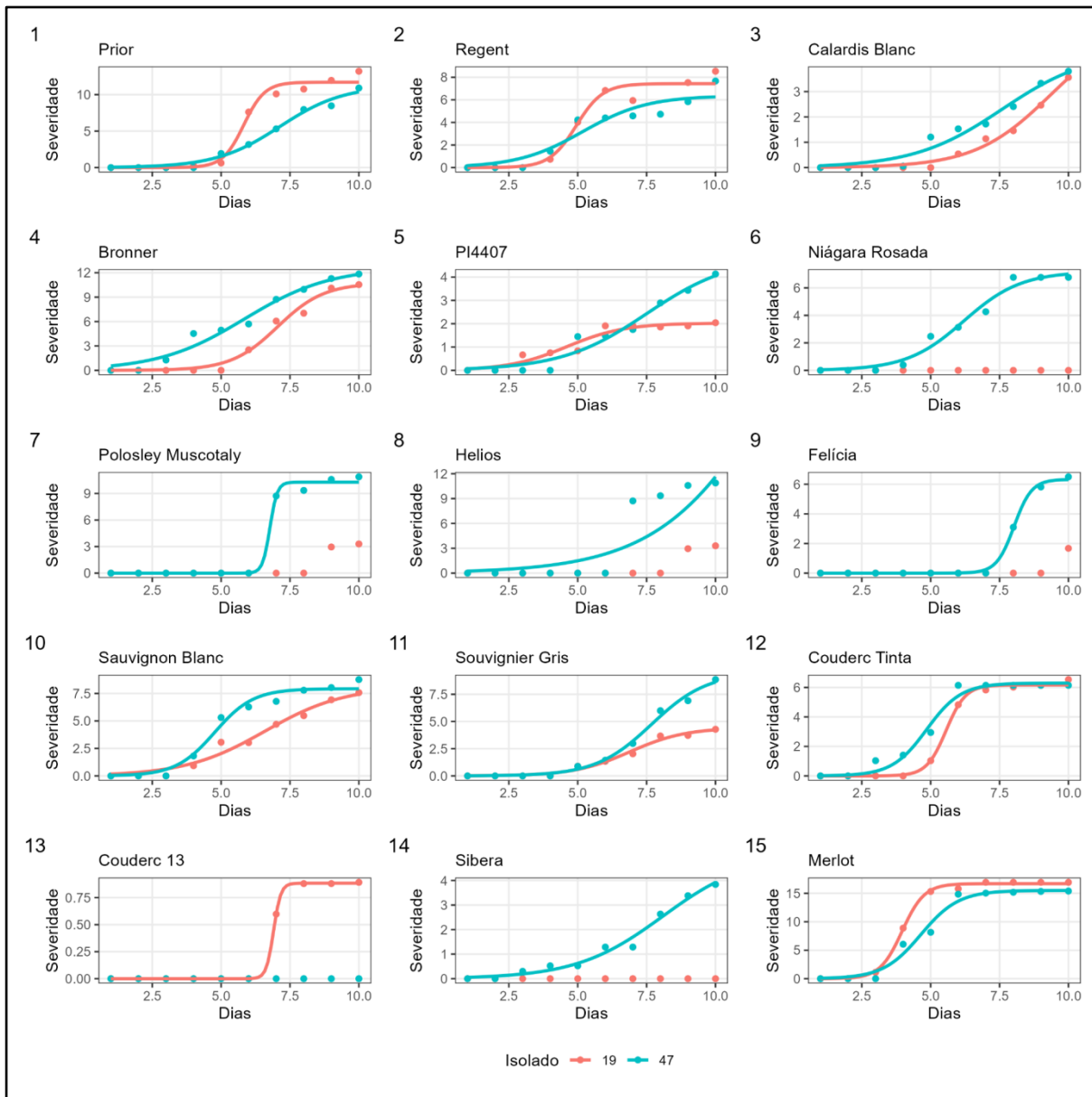
As variedades Felicia e Poloskey Muscotaly apresentaram os sintomas mais tardiamente, em torno do sétimo dia; porém, em torno do nono dia de avaliação, as bagas obtiveram seu maior valor de incremento da doença, ambas para o isolado GL_VI_47, estabilizando logo em seguida.

Por outro lado, na variedade PI4407, que estabilizou os sintomas de forma rápida, logo após o início do mesmo, o sintoma ocorreu de forma mais lenta, demonstrando possuir mecanismos de resistência e controle da doença, principalmente para o isolado GL_VI_19. Os maiores incrementos da doença ocorreram pelo oitavo dia para o isolado GL_CU_47 e pelo quinto dia para o isolado GL_VI_19.

Seguindo neste contexto, a variedade Sibera, que apresentou sintomas somente para o isolado GL_CU_47, também exibiu menores incrementos de diâmetro dos sintomas e menores valores de assíntota, assim como a variedade Couderc Tinta.

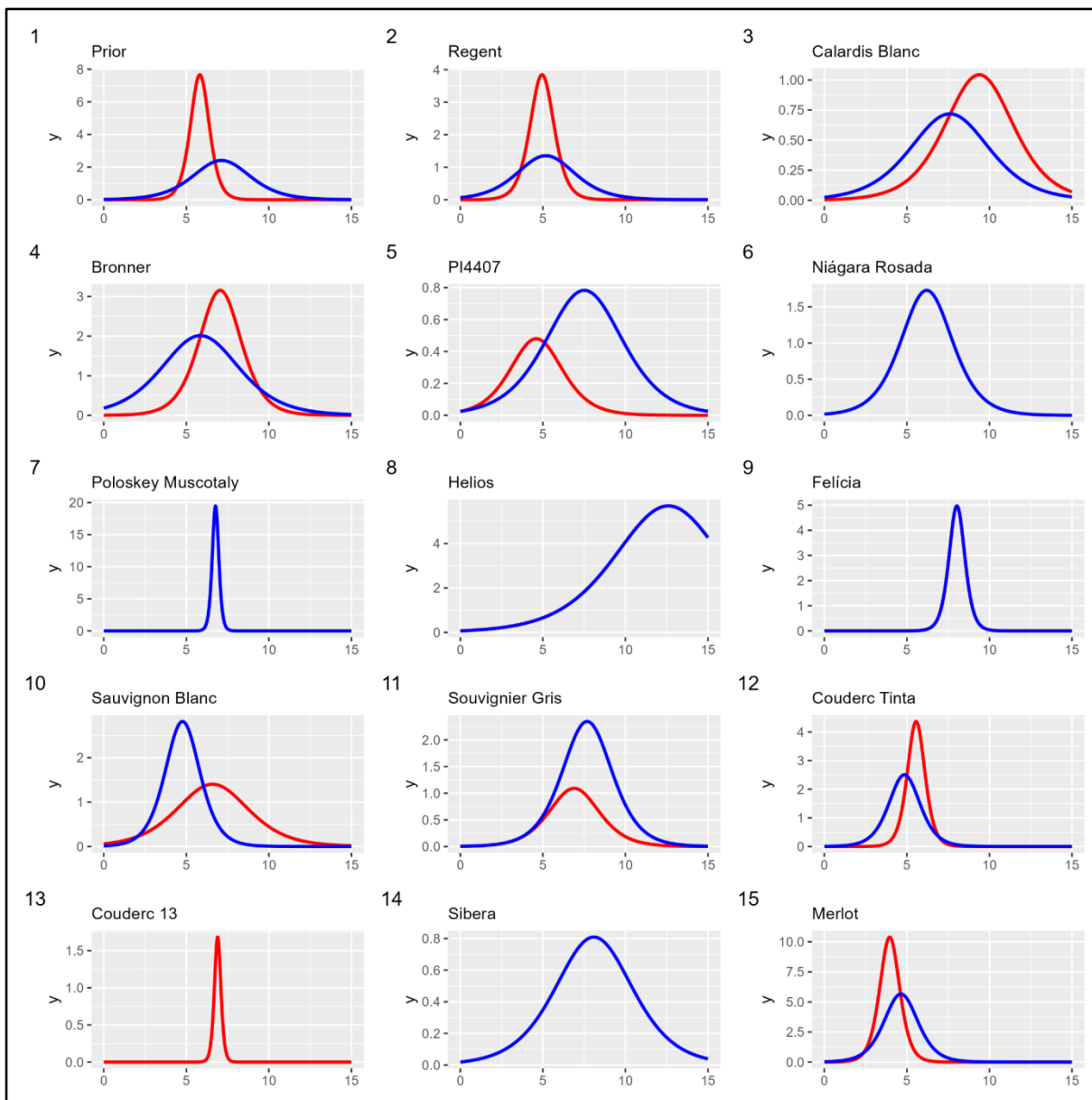
A variedade Sauvignon Blanc iniciou os sintomas precocemente, pelo segundo dia de infecção, pois o isolado GL_CU_47 ascendeu com rapidez e ao décimo dia de avaliação estabilizou-se. Já o isolado GL_VI_19 ascendeu com menor velocidade e de forma mais homogênea e menos agressiva, não estabilizando ao décimo dia (Figura 26). Isso indica que o isolado GL_VI_19 é menos agressivo para esta variedade. Além disso, o isolado mais agressivo apresentou uma assíntota ao quinto dia de avaliação, representando um incremento de 2,9 mm de diâmetro do sintoma por dia, em comparação com a assíntota mais branda entre o sexto e sétimo dia no isolado GL_VI_19, com metade do incremento de sintomas (Figura 27, Tabela 8).

Figura 26 - Curva de epidemiologia temporal da podridão da uva madura causada pelos isolados GL_VI_19 e GL_CU_47 nas variedades de videira



Legenda: O separador decimal retratado por um ponto “.”, representa uma vírgula “,”. Fonte: Burin (2024)

Figura 27 - Epidemiologia temporal da podridão da uva madura causada pelos isolados GL_VI_19 e GL_CU_47 em distintas variedades de videira



Legenda: O separador decimal retratado por um ponto “.”, representa uma vírgula “,”. Fonte: Burin (2024)

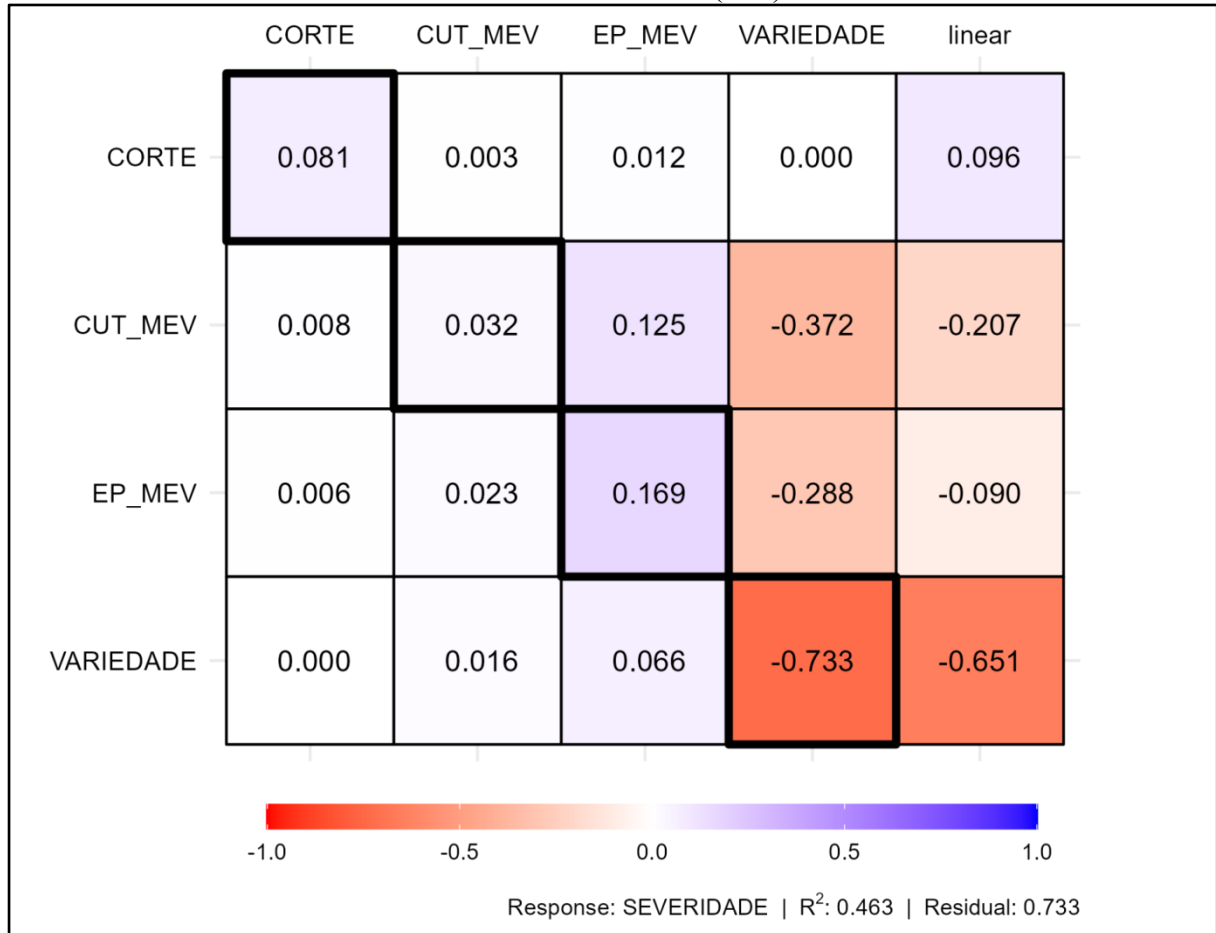
Tabela 8. Valor dos incrementos diários de sintoma da podridão da uva madura na assíntota máxima, nas diversas variedades de videira inoculadas com dois isolados distintos

Variedades	Incrementos (mm)	
	GL_VI_19	GL_CU_47
Prior	7,7	2,4
Regent	3,9	1,3
Calardis Blanc	1	0,7
Bronner	3,1	2,0
PI4407	0,5	0,8
Niágara Rosada	-	1,7
Poloskey Muscotaly	-	19,4
Helios	-	5,7
Felícia	-	5,0
Sauvignon Blanc	1,4	2,9
Souvignier Gris	1,1	2,3
Couderc Tinta	4,3	2,50
Couderc 13	1,7	-
Sibera	-	0,9
Merlot	10,4	5,6

Fonte: Burin (2024)

Os resultados da análise de correlação de trilha entre os efeitos diretos e indiretos das variáveis independentes sobre a variável dependente de diâmetro do sintoma da podridão da uva madura (mm), podem ser visualizados nas Figuras 28, 29, 30 e 31.

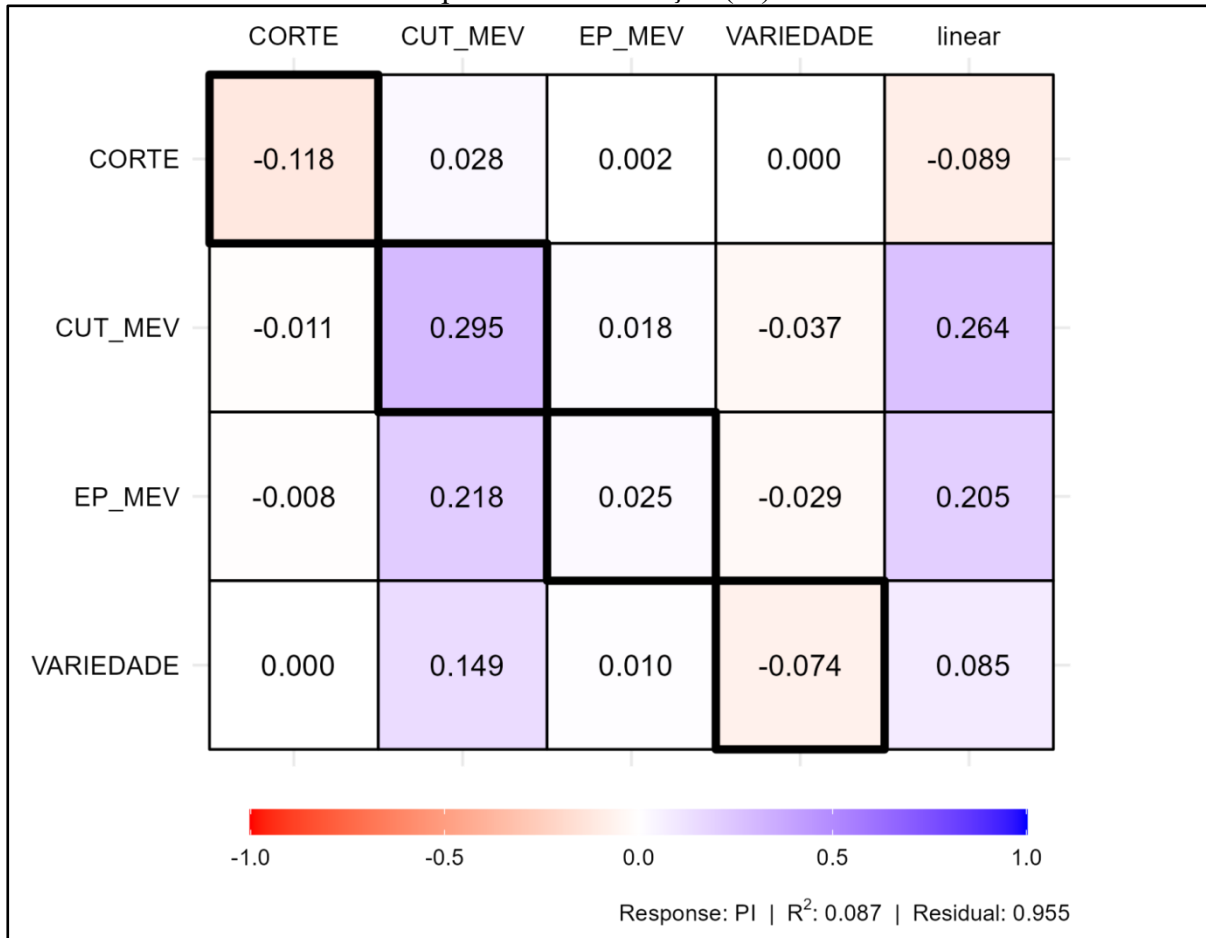
Figura 28 - Análise de trilha entre as variáveis de tipos distintos de variedades (VARIEDADE), tipos de corte histológico (CORTE), espessura da cutícula com microscopia eletrônica de varredura (CUT_MEV) e espessura da epiderme com microscopia eletrônica (EP_MEV), apresentando as correlações diretas (linear) e indiretas com a variável resposta ‘diâmetro do sintoma (mm)’



Legenda: O separador decimal retratado por um ponto “.”, representa uma vírgula “,”. Fonte: Burin (2024)

A análise dos efeitos diretos e indiretos sobre o diâmetro do sintoma da podridão da uva madura na baga (mm), estimada a partir da microscopia eletrônica de varredura (Figura 28), exibiu um coeficiente de determinação R^2 de 0,46, o que explica aproximadamente 46% da variação fenotípica total encontrada nos sintomas da podridão da uva madura. Entretanto, nenhuma correlação direta positiva foi significativa. No entanto, a interação entre a espessura da cutícula e da epiderme obteve uma correlação fraca indireta (0,125) com o diâmetro do sintoma da doença.

Figura 29 - Análise de trilha entre as variáveis de tipos distintos de variedades (VARIEDADE), tipos de corte histológico (CORTE), espessura da cutícula com microscopia eletrônica de varredura (CUT_MEV) e espessura da epiderme com microscopia eletrônica (EP_MEV), apresentando as correlações diretas (linear) e indiretas com a variável resposta 'período de incubação (PI)'



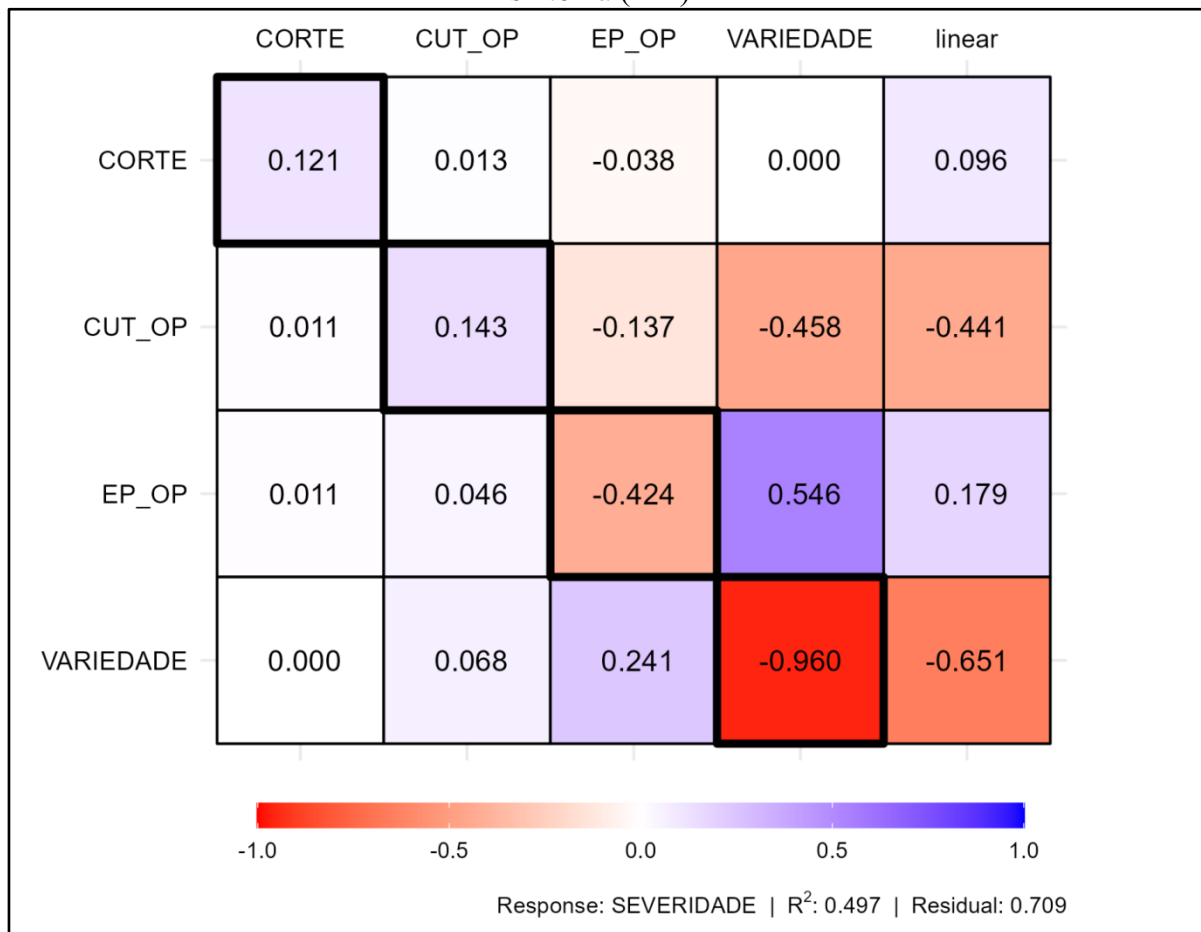
Legenda: O separador decimal retratado por um ponto “.”, representa uma vírgula “,”. Fonte: Burin (2024)

A correlação entre o período de incubação do isolado GL_VI_19 (PI), estimada a partir da microscopia eletrônica de varredura (MEV) exibiu um Coeficiente de determinação R^2 de 0,087, ainda mais baixo que a interação com o diâmetro do sintoma da doença (Figura 29). Dito de outra forma, a influência das características avaliadas afetaram pouco os resultados obtidos, que foram pouco menos de 9% da variação fenotípica total. Porém, nesta análise a espessura da cutícula estimada no MEV, revelou coeficiente de correlação positivo e direto com o PI, de 0,264. Também foi verificado a existência de coeficientes de correlação positivos das características espessura da epiderme e da cutícula com o PI, de forma indireta, e da espessura da epiderme com PI, de forma direta (0,218 e 0,205, respectivamente). Por fim, foi encontrado

o coeficiente de correlação positivo e indireto entre variedades e espessura da cutícula no MEV de 0,149.

Os resultados sugerem que existe controle genético tanto para a espessura da cutícula como para a epiderme. Além disso, os resultados indicam que a cutícula está envolvida no retardamento da infecção pelo *Colletotrichum* spp. Da mesma forma, os genótipos contribuem com a expressão dos sintomas da podridão da uva madura.

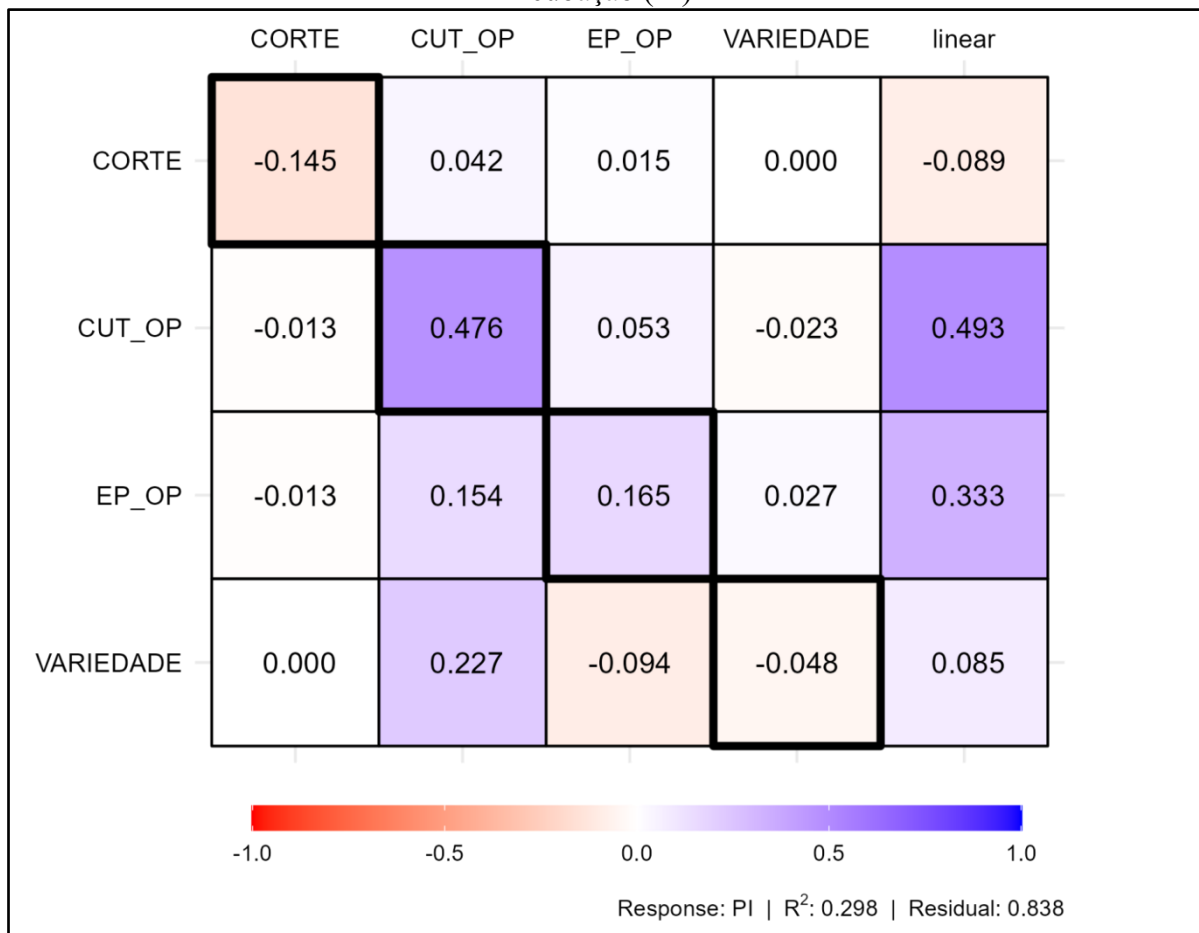
Figura 30 - Análise de trilha entre as variáveis de tipos distintos de variedades (VARIEDADE), tipos de corte histológico (CORTE), espessura da cutícula com microscopia óptica (CUT_OP), espessura da epiderme com microscopia óptica (EP_OP), apresentando os coeficientes de correlações diretos (linear) e indiretos com a variável resposta ‘diâmetro do sintoma (mm)’



Legenda: O separador decimal retratado por um ponto “.”, representa uma vírgula “,”. Fonte: Burin (2024)

A análise dos efeitos diretos e indiretos sobre o diâmetro do sintoma da podridão da uva madura na baga (mm), estimada a partir da microscopia óptica, exibiu um coeficiente de determinação R^2 de 0,49, o que explica aproximadamente 49% da variação (Figura 30). A característica espessura da epiderme medida na microscopia óptica (OP) exibiu coeficiente de correlação positivo com as variedades e correlação indireta com o diâmetro da lesão do sintoma da doença (0,546). Além disso, a análise exibiu coeficientes de correlação diretos entre a espessura da epiderme e o diâmetro da lesão do sintoma da podridão da uva madura (0,179), e entre variedade e espessura da epiderme (0,241).

Figura 31 - Análise de trilha entre as variáveis de tipos distintos de variedades (VARIEDADE), tipos de corte histológico (CORTE), espessura da cutícula com microscopia óptica (CUT_OP), espessura da epiderme com microscopia óptica (EP_OP), apresentando coeficientes de correlação diretos (linear) e indiretos com a variável resposta ‘período de incubação (PI)’



Legenda: O separador decimal retratado por um ponto “.”, representa uma vírgula “,”. Fonte: Burin (2024)

Por fim, a análise de correlação entre as variáveis independentes de espessura da cutícula (CUT_OP), espessura da epiderme (EP_OP), ambas por meio da microscopia óptica, variedades distintas de *Vitis* spp. e o tipo de corte da baga com a característica período de incubação do fungo (PI) (dependente) revelou 0,298 para coeficiente de determinação R^2 , o que equivale dizer, que elas explicam praticamente 30% da variação fenotípica encontrada (Figura 31).

Os valores da característica espessura da cutícula obtidos da microscopia ótica produziram o coeficiente de correlação direto de 0,493 com o PI, valor similar ao revelado pela espessura da epiderme (0,333). Também foram encontrados coeficientes de correlação menores e indiretos entre espessura da cutícula e espessura da epiderme (0,154) e entre variedades e espessura da cutícula (0,227).

Em geral, o diâmetro da lesão do sintoma da podridão da uva madura foi correlacionado positivamente com a variável variedade, que representa graus de resistência distintos, como já mencionado anteriormente. Além de exibir correlação positiva, entre as estimativas de espessura da epiderme e cutícula existe também o período de incubação. O maior valor para coeficiente de correlação decorreu do efeito direto entre a espessura da epiderme medido na microscopia óptica e as variedades, considerando o diâmetro da lesão do sintoma como variável dependente (Figura 31).

Comparando os coeficientes de correlação evidenciados nas duas metodologias de quantificação de espessura, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia óptica (MO), é visível que a metodologia de MO apresentou os maiores valores; exemplo disso são os valores de correlação entre a espessura da epiderme e variedades, na variável dependente diâmetro do sintoma (Figuras 28 e 30). Com os dados obtidos no MEV, o valor do coeficiente de correlação foi de -0,288 (correlação negativa), já com a MO o valor foi positivo e maior (0,546). Um segundo exemplo é a interação direta entre a espessura da cutícula obtida no MEV com a variável dependente, período de incubação. Na metodologia de microscopia eletrônica de varredura os coeficientes de correlação foram 0,205, valor menor que aquele obtido com dados da microscopia óptica (0,333). Contudo, estudos de validação destas metodologias devem ser realizados e em particular, para identificar o porquê dos diferentes valores para a mesma variedade.

Estudos já relataram que a cutícula constitui a principal barreira física contra a entrada e colonização de fitopatógenos (Percival et al., 1993), estando correlacionada com a quantidade destas no aumento da resistência das variedades a podridão do cacho (*Botrytis cinerea*), por exemplo, assim como Rosenquist e Morrison (1989); Herzog et al. (2022) e Gabler et al. (2003) relataram que bagas de espécies de videiras americanas apresentaram espessura da cutícula entre 4 a 10 μm e maior resistência ao *Botrytis cinerea* do que as variedades viníferas com espessura de até 3,8 μm .

Resultados similares aos da literatura para botrytis também foram constatados no presente estudo, pois a espécie cultivada PI4407 da espécie silvestre americana *V. shuttleworthii* demonstrou estatisticamente por meio duas metodologias de análise, maiores valores de espessura da cutícula e epiderme, exceto na espessura da epiderme obtida em microscopia eletrônica de varredura. Também exibiu maior resistência à inoculação do isolado fúngico GL_VI_19, de *Colletotrichum* spp. avaliada em termos de menor diâmetro da lesão na baga e maior período de incubação. Contudo, comparando os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que os mecanismos que atuam contra *Botrytis cinerea* podem ser distintos em natureza e efeito daqueles envolvidos com a podridão da uva madura, notadamente a espessura da epiderme e cutícula.

A análise de trilha também foi realizada para avaliar a correlação entre as mesmas variáveis independentes mencionadas acima, sendo o período de incubação (PI), do isolado causador de podridão da uva madura, GL_VI_19, a variável dependente (Figura 31). O coeficiente de determinação R^2 foi 0,39; portanto, 39% da variação fenotípica total é explicada pelas características analisadas. Este valor é levemente menor daquele revelado para a estimativa do R^2 com diâmetro da lesão do sintoma (mm). Contudo, das variáveis avaliadas, a cutícula obtida na MO exibiu coeficiente de correlação positivo e direto com o período de incubação (PI), indicando que a espessura da cutícula atrasa o desenvolvimento dos sintomas da podridão da uva madura e auxilia como barreira física contra a entrada e desenvolvimento do patógeno.

A ausência de literatura sobre a correlação entre as variáveis mencionadas e a podridão da uva madura destaca ainda mais a relevância da análise realizada neste estudo.

8.4 ASSOCIAÇÃO DA SEVERIDADE DA PODRIDÃO DA UVA MADURA COM AS CARACTERÍSTICAS DA BAGA

A severidade da podridão da uva madura demonstra estar de certa forma associada com espessura das camadas de epiderme e cutícula, pois, exceto as estimativas de espessura da epiderme geradas a partir da microscopia óptica, a variedade PI4407 exibiu maiores valores de espessura da cutícula e epiderme, e maior período de incubação do fungo (PI) com a menor severidade (diâmetro da lesão do sintoma) da doença.

Da mesma forma, foi verificado nas variedades de nível intermediário das espessuras, Regent e Calardis Blanc, que exibiram um período de incubação do fungo menor e níveis de severidade intermediárias, exceto a variedade Calardis Blanc, que mesmo com um PI intermediário, foi capaz de exibir uma severidade da doença menor, inferior somente à variedade PI4407.

A variedade Bronner, permaneceu no nível intermediário de espessuras de cutícula e epiderme e incubação do patógeno; porém, apresentou a maior severidade da podridão da uva madura. Por fim, a variedade Prior exibiu altos valores de espessuras da cutícula e da epiderme e período de incubação, menores somente que os exibidos pela PI 4407, porém, apresentou a segunda maior severidade da doença.

Embora os resultados obtidos no presente estudo indicam haver certa associação entre a medida de espessura das barreiras físicas de epiderme e cutícula, e a severidade da doença, porém, é notável a grande influência do genótipo nos níveis de severidade, indicando que o fator genético está altamente correlacionado com a severidade da doença, controlando a expressão de certos alelos de resistência que estão no background genético das variedades testadas. Contudo, o fato das variedades com menor espessura de cutícula e de epiderme serem mais resistentes à podridão da uva madura, merece ser investigada.

8.5 CONCLUSÕES

Os resultados mostram que as características genéticas de uma variedade de uva afetam a intensidade da podridão das uvas maduras. Para entender a resistência ou suscetibilidade de uma variedade às infecções por patógenos, como os que causam a podridão da uva, é fundamental entender essa relação entre a susceptibilidade à doença e as características genéticas das plantas. É relevante destacar que as variedades Bronner e Prior apresentaram

graus de doença mais severos. Isso indica que eles são mais vulneráveis à infecção por *Colletotrichum* spp. Por outro lado, as variedades Calardis Blanc e PI4407 foram resistentes à podridão da uva madura. Essas descobertas sugerem que a capacidade de uma variedade de resistir à infecção por *Colletotrichum* spp. pode ser influenciada por variações genéticas. Existem várias razões para essas variações, como a existência de genes específicos de resistência, a expressão de genes relacionados à defesa e características morfológicas que influenciam a penetração e colonização do patógeno. Além disso, distintos isolados causaram respostas distintas do mesmo hospedeiro. Como resultado, entender as bases genéticas da resistência às doenças nas plantas é fundamental para criar variedades mais resistentes e para o manejo eficaz de doenças na agricultura.

Em comparação com outras variedades, a PI4407 apresentou um período de incubação do fungo mais longo. Isso indica que ela é mais resistente à podridão da uva madura. A demora no início dos sintomas pode ser uma característica importante que os programas de melhoramento genético podem explorar. O tempo de incubação mais longo pode indicar que a planta tem mecanismos de defesa melhores que impedem que o patógeno se desenvolva após a infecção. Existem várias características que impedem a colonização e disseminação do fungo, como respostas imunes mais rápidas e fortes e uma produção maior de compostos antimicrobianos. É importante lembrar que o período de incubação não deve ser o único sinal que indica a resistência ou suscetibilidade da uva madura à podridão.

A intensidade dos sintomas, a capacidade da planta de se recuperar da infecção e a estabilidade da resistência ao longo do tempo são considerações adicionais que devem ser levadas em consideração. Para obter uma compreensão completa de sua resistência a doenças, é necessário realizar uma avaliação completa das características genéticas, morfológicas, fisiológicas e moleculares das plantas. A análise da expressão de genes relacionados à defesa, a localização de marcadores genéticos relacionados à resistência e a avaliação do desempenho da planta no campo podem fazer parte disso. Portanto, embora o período de incubação prolongado possa ser um indicador de resistência, é necessária uma abordagem integrada e multifacetada para entender a resistência das plantas à podridão da uva madura e outras doenças.

A análise de trilha forneceu informações importantes sobre a relação entre as características estudadas e a severidade da podridão da uva madura. Além disso, fornece informações sobre os efeitos diretos e indiretos do sintoma na baga. Aproximadamente 46% da

variação na severidade da doença pode ser atribuída às características analisadas, de acordo com o coeficiente de determinação (R^2) de 0,46. Isso enfatiza a importância desses elementos na resistência das plantas à infecção por *Colletotrichum* spp. A análise revelou que a espessura da cutícula, a epiderme e as variedades (os distintos genótipos) tiveram um impacto indireto. A variedade foi particularmente significativa no que diz respeito à lentidão do desenvolvimento dos sintomas. Isso implica que essas características morfológicas das bagas e o período de incubação desempenham um papel importante na resistência das plantas à podridão da uva madura. Isso afeta indiretamente a intensidade da doença. A análise enfatiza a influência da genética neste caso, embora exista uma correlação entre as espessuras da cutícula e da epiderme, o período de incubação e a severidade da doença. Isso significa que as características morfológicas e fisiológicas das uvas e os fatores genéticos influenciam a expressão da resistência à podridão.

O presente estudo ainda confirma a hipótese de mais de uma espécie de *Colletotrichum* está associada aos sintomas da podridão da uva madura nos vinhedos de Santa Catarina, conforme já evidenciado em estudos anteriores em outras localidades.

Portanto, as características do hospedeiro avaliadas no estudo, como espessura da cutícula e da epiderme e período de incubação, bem como de distintos isolados do patógeno podem ser usadas como critérios de seleção em programas de melhoramento genético para produzir plantas mais resistentes à podridão da uva madura. Essas descobertas fornecem uma base sólida para o desenvolvimento de métodos de manejo de doenças na viticultura, que resultarão em uvas mais saudáveis e de alta qualidade.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde a morfologia das bagas até a resistência genética das plantas, o presente estudo examinou um conjunto de fatores relacionados à resistência de genótipos de videira à podridão da uva madura. Assim podemos ressaltar os seguintes aspectos importantes desta dissertação que podem contribuir para o desenvolvimento de estudos futuros:

A utilização de novas metodologias de análise de dados e interpretação de resultados, a partir do software R, proporcionaram análises mais profundas dos resultados, assim como o desenvolvimento de uma escala diagramática de doze níveis usando o índice de vegetação NGRDI, sendo este um grande avanço na avaliação fenotípica da podridão da uva madura. Essa escala fornece uma maior precisão e acurácia na quantificação da severidade da doença, particularmente para as variedades de uva com coloração branca. Assim, os trabalhos laboratoriais serão facilitados e os resultados serão obtidos com precisão.

Porém, para garantir uma cobertura adequada na avaliação da severidade da doença, é necessário fazer ajustes nos modelos de avaliação. A dificuldade de visualizar o inóculo em variedades cuja coloração da baga é tinta é um fator importante.

Também, vale ressaltar que a partir das análises dos resultados apresentados na presente dissertação, a resistência à podridão da uva madura pode ser significativamente influenciada pela espessura da cutícula e da epiderme dos distintos genótipos. Tais características morfológicas auxiliam na defesa dos genótipos de videira analisados, contra os isolados estudados. Contudo, os resultados precisam de validação com o uso de outras variedades.

Dessa forma, a análise estatística mostrou que a severidade da podridão da uva madura foi afetada direta e indiretamente pela espessura da cutícula, pela epiderme e pelo período de incubação. Para criar variedades mais resistentes à doença, essas características podem ser utilizadas como critérios de seleção em programas de melhoramento genético.

Os resultados da seguinte pesquisa têm implicações significativas para o melhoramento genético, incluindo o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes, a identificação de variedades mais resistentes à podridão da uva madura e o incentivo de uma vitivinicultura nacional mais sustentável e de alta qualidade.

No geral, esta pesquisa abordou aspectos morfológicos de distintos genótipos de videira e criou uma ferramenta de avaliação fenotípica de severidade à esta doença. Isso representa um avanço significativo no entendimento e na abordagem da podridão da uva madura, fornecendo insights úteis para pesquisadores, produtores e profissionais da vitivinicultura.

REFERÊNCIAS

- CAMILI, E.C.; BENATO, E.A.; PASCHOLATI, S.F.; CIA, P. 2007. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva ‘Itália’ contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 215-221. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/sp/a/SnM344NpQVRVBXBgvNSmvmQ/?lang=pt#>>. Acesso em: 12/01/24. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052007000300001>
- CIA, P.; BENATO, E.A.; VALENTINI, S.R. de T.; ANJOS, V.D. de A.; PONZO, F.S.; SANCHES, J.; TERRA, M.M. 2009. Radiação ultravioleta no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em uva “niagara rosada”. **Bragantia**, v. 68, n.4, p. 1009–1015. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/brag/a/FNBJS9VKKcR9Tk7pKYNrjJ/#>>. Acesso em: 26/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052009000400022>
- GABLER, F.M.; SMILANICK, J.L.; MANSOUR, M.; RAMMING, D.W.; MACKEY, B.E. (2003). Correlations of Morphological, Anatomical, and Chemical Features of Grape Berries with Resistance to *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, v. 93, n. 10, p. 1263–1273. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO.2003.93.10.1263>>. Acesso em: 23/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.10.1263>
- GURURANI, M.A.; VENKATESH, J.; UPADHYAYA, C.P.; NOOKARAJU, A.; PANDEY, S.K.; PARK, S.W. 2012. Plant disease resistance genes: Current status and future directions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 78, p. 51-65. Disponível em <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0885576512000033>>. Acesso em: 21/12/23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.01.002>
- HERZOG, K.; SCHWANDER, F.; KASSEMAYER, H.-H.; BIELER, E.; DÜRRENBARGER, M.; TRAPP, O.; TÖPFER, R. 2022. Towards Sensor-Based Phenotyping of Physical Barriers of Grapes to Improve Resilience to *Botrytis* Bunch Rot. **Front. Plant Sci.**, v. 12, n. 808365. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2021.808365/full#supplementary-material>>. Acesso em: 07/01/24. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.808365>
- HILHA, A.; ANDRADE, C.E.L.; BURIN, M.R.; MEDEIROS, R.F.; ALMEIDA, M.P.; ORLANDI, F.B.; FREITAS, F.R.; DALBÓ, M.A.; SOUZA, A.L.K. de; MAY-DE-MIO, L.L.; NODARI, R.O. 2024. *Vitis* species and varietal resistance of mature berries against inoculation of an isolate of the *Colletotrichum acutatum* complex that causes grape ripe rot. **Acta Hortic** **1385**, 95-102. Disponível em: <https://www.actahort.org/books/1385/1385_13.htm>. Acesso em: 05/12/23 DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2024.1385.13>
- HSIEH, T.-F.; SHEN, Y.-M.; HUANG, J.-H.; TSAI, J.-N.; LU, M.-T.; LIN, C.-P. 2023. Insights into Grape Ripe Rot: A Focus on the *Colletotrichum gloeosporioides* Species Complex and Its Management Strategies. **Plants**, v. 12, n. 15, p. 2873. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2223-7747/12/15/2873>>. Acesso em: 07/01/24. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12152873>
- MAUL *et al.* 2024. **Vitis International Variety Catalogue**. Disponível em:<www.vivc.de>. Acesso em: 10/02/24.

OLIVER, C. 2016. Investigation of Wine Grape Cultivar and Cluster Developmental Stage Susceptibility to Grape Ripe Rot Caused by Two Fungal Species Complexes, *Colletotrichum gloeosporioides*, and *C. acutatum*, and the Evaluation of Potential Controls. **Tese (Master of Science in Life Science in Plant Pathology, Physiology and Weed Science)** - Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg - VA. Disponível em: <<https://vtechworks.lib.vt.edu/server/api/core/bitstreams/fe01099-64c5-4cb5-9f8e-f49c2b385fea/content>>. Acesso em: 05/12/23.

PARLEVLIET, J.E. Durable resistance. In: HARTLIEB, H.; HEITFUSS, R.; HOPPE, H.H. **Resistance of crop plants against fungi**. 1997. p. 238-253.

PERCIVAL, D.C.; SULLIVAN, J.A.; FISHER, K.H. 1993. Effect of cluster exposure, berry contact and cultivar on cuticular membrane formation and occurrence of bunch rot (*Botrytis cinerea* PERS.: FR.) with 3 *Vitis vinifera* L. cultivars. **Vitis**, v. 32, n. 2, p. 87-97. Disponível em: <<https://ojs.openagrar.de/index.php/VITIS/article/view/5184>>. Acesso em: 23/11/23. DOI: <https://doi.org/10.5073/vitis.1993.32.87-97>

ROSENQUIST, J.K.; MORRISON, J.C. 1989. Some factors affecting cuticle and wax accumulation on grape berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 40, n. 4, p. 241-244. Disponível em: <<https://www.ajevonline.org/content/40/4/241.short>>. Acesso em: 10/11/23. DOI: <https://doi.org/10.5344/ajev.1989.40.4.241>

SHIRAISHI, M.; KOIDE, M.; ITAMURA, H.; YAMADA, M.; MITANI, N.; UENO, T.; NAKAUNE, R.; NAKANO, M. 2007. Screening for resistance to ripe rot caused by *Colletotrichum acutatum* in grape germplasm. **Vitis**, v. 46, n. 4, p. 196-200. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/264875548_Screening_for_resistance_to_ripe_rot_caused_by_Colletotrichum_acutatum_in_grape_germplasm>. Acesso em: 11/01/24.

STEEL, C.C.; GREER, L.A.; SAVOCCHIA, S. 2007. Studies on *Colletotrichum acutatum* and *Greeneria uvicola*: Two fungi associated with bunch rot of grapes in sub-tropical Australia. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 13, n. 1, p. 23-29. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1755-0238.2007.tb00068.x>>. Acesso em: 14/11/23. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2007.tb00068.x>