



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL de LONDRINA

---

RENATA KOYAMA

**ÉPOCAS DE APLICAÇÃO E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO  
ABSCÍSICO NO INCREMENTO DA COR DE UVAS  
APIRENAS**

---

Londrina  
2017

RENATA KOYAMA

**ÉPOCAS DE APLICAÇÃO E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO  
ABSCÍSICO NO INCREMENTO DA COR DE UVAS  
APIRENAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Ruffo Roberto.

Coorientador: Dr. Matthew W. Fidelibus

Coorientador: Pesq. Dr. Reginaldo Teodoro de Souza

Londrina  
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Koyama, Renata.

Épocas de aplicação e concentrações de ácido abscísico no incremento da cor de uvas apirenas / Renata Koyama. - Londrina, 2017.  
122 f. : il.

Orientador: Sergio Ruffo Roberto. Coorientador: Matthew W. Fidelibus.

Coorientador: Reginaldo Teodoro de Souza.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2017.

Inclui bibliografia.

1. S-ABA - Tese. 2. Regulador vegetal - Tese. 3. Antocianinas - Tese.  
4. Expressão gênica - Tese. I. Ruffo Roberto, Sergio. II. W. Fidelibus, Matthew. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

RENATA KOYAMA

**ÉPOCAS DE APLICAÇÃO E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO  
ABSCÍSICO NO INCREMENTO DA COR DE UVAS APIRENAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Sergio Ruffo Roberto  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Coorientador: Pesq. Dr. Reginaldo Teodoro de  
Souza  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -  
EMBRAPA

---

Prof. Dr. Fábio Yamashita  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Inês Cristina de Batista Fonseca  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Dr. Clandio Medeiros da Silva  
Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR

---

Dr. Eduardo Fermino Carlos  
Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR

Londrina, 21 de fevereiro de 2017

Dedico aos meus pais, Teobaldo  
Koyama e Elvira Murate Koyama

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Londrina.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia por todo suporte durante o Curso.

Ao CNPq, pelo apoio à pesquisa e pela bolsa de estudos concedida.

À CAPES, pela bolsa concedida pelo Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sergio Ruffo Roberto, pela atenção, confiança e orientação no decorrer deste trabalho.

Ao Dr. Matthew W. Fidelibus pelo apoio e suporte durante o doutorado sanduíche.

À Dr<sup>a</sup>. Barbara Blanco-Ulate, Prof. Dr. Dario Cantu, Dr<sup>a</sup> Rosa Figueroa-Balderas, Prof. Dr. Andrew L. Waterhouse, Dr<sup>a</sup>. Mauri J. Anderson da University of California, Davis, pelos ensinamentos, paciência e auxílio nas análises realizadas.

À Sumitomo Chemical e Valent BioSciences.

Aos meus amigos e colegas de laboratório da Universidade Estadual de Londrina Wellington Fernando Silva Borges, Ronan Carlos Colombo, Giovanna Bernardo Silva, Luciane Gomes Barros, Beatriz Barreira, Carolina Tironi, Ibrar Hussain e Muhammad Shahab pela contribuição nas análises de campo e de laboratório.

Ao Dr. Reginaldo Teodoro de Souza pela contribuição ao trabalho. Ao Antônio Peres (Sr. Toninho) pela cessão da área experimental, colaboração e paciência.

À Dr<sup>a</sup>. Profa. Sandra Helena Prudêncio pelas sugestões e concessão do uso do Lab. de Análise Sensorial do Depto. de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Ao Ronan Carlos Colombo, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilian Yukari Yamamoto, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriane Marinho de Assis e Dr<sup>a</sup>. Leticia Sayuri Murate, pela contribuição e enriquecimento na fase de conclusão do trabalho.

Aos membros da comissão examinadora, pela disponibilidade e contribuição desprendida ao trabalho.

Aos meus pais, Teobaldo Koyama e Elvira Murate Koyama e a toda a minha família por todo o apoio, paciência e amor dedicados a mim.

A todos que de uma forma ou de outra colaboraram para a execução deste trabalho.

KOYAMA, Renata. **Épocas de aplicação e concentrações de ácido abscísico no incremento da cor de uvas apirenas**. 2017. Tese de Doutorado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento fenológico e produtivo da uva apirena Seleção Embrapa 21, bem como o efeito de aplicações do regulador de crescimento (S)-*cis*-ácido abscísico (S-ABA) nas propriedades físico-químicas das bagas, no perfil das antocianinas e na expressão dos genes envolvidos na sua biossíntese. As avaliações foram realizadas em área comercial com 4 anos de idade, sendo as videiras enxertadas sobre o porta-enxerto 'IAC 766 Campinas', conduzidas em latada e sombrite 18% em espaçamento 2,5 x 2,5 m, localizada em Marialva, PR, Brasil. Os experimentos foram realizados durante as safras regular de 2013 e fora de época de 2014 e 2015. Foi caracterizado o comportamento fenológico e produtivo da uva apirena Seleção Embrapa 21, sob o sistema de dupla safra anual. Foram avaliados os efeitos dos tratamentos: Controle, S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> aos sete dias após *veraison* (DAV); S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV+ 200 mg L<sup>-1</sup> 21DAV e S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV+ 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV; sobre os atributos de cor, características físico-químicas das bagas, emissão de ramos e cachos nos ciclos posteriores e aceitação pelos consumidores em relação à aparência das bagas. Além disso, foram avaliados os efeitos dos tratamentos sobre as antocianinas e polifenóis totais, e os melhores tratamentos foram posteriormente avaliados quanto à determinação das antocianinas individuais e expressão dos genes envolvidos na rota biossintética das antocianinas. Foi possível constatar que a videira Seleção Embrapa 21 apresenta características fenológicas e produtivas dentro dos padrões exigidos pelos mercados interno e externo, ciclo médio de 130 dias e produtividade de 23,85 t ha<sup>-1</sup>, sendo possível o seu cultivo sob dupla poda anual. Aplicações exógenas de S-ABA resultaram em melhores atributos de cor dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21, principalmente 400 mg L<sup>-1</sup> em duas aplicações, aos 7DAV e aos 21DAV, com maior aceitação pelos consumidores quanto à cor, aparência e intenção de compra, sem efeito sobre a emissão de ramos e de cachos nas safras seguintes à sua aplicação. O S-ABA exógeno propiciou maior o acúmulo de antocianinas totais na casca das bagas e melhorou significativamente os atributos de cor da uva apirena Seleção Embrapa 21, sendo que duas aplicações de 400 mg L<sup>-1</sup>, aos 7DAV e aos 21DAV, resultam em aumento da concentração das antocianinas delphinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo, e eleva a expressão dos genes estruturais *CHI*, *F3H*, *DFR* e *UFGT* e dos fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*.

**Palavras-chave:** S-ABA. Regulador vegetal. Antocianinas. Expressão gênica.

KOYAMA, Renata. **Application timing and concentration of abscisic acid improve color of seedless grape**. 2017. Tese de Doutorado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the phenological and yield behavior, as well the effect of (*S*)-*cis*-abscisic acid (*S*-ABA) application on physico-chemical properties, color, anthocyanins and gene expression of anthocyanin biosynthesis of Seleção Embrapa 21 seedless grape. The trials were carried out at a commercial vineyard located in Marialva, PR, Brazil, during the regular 2013 season and 2014 and 2015 off-seasons. The vines were trained in overhead trellis system with mash cover (18%) and spaced at 2.5 x 2.5 m. The phenological and yield behavior of Seleção Embrapa 21 seedless grape, under annual two cropping system was characterized. The effect of the treatments: Control, *S*-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> at seven days after veraison (DAV); *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7 DAV; *S*-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7 DAV + 200 mg L<sup>-1</sup> 21 DAV and *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7 DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21 DAV was evaluated regarding the color attributes and physiochemical characteristics of berries, the acceptance of clusters by the consumers and the number of shoots and bunches emitted in the seasons after the applications. Moreover, was evaluated regarding the total anthocyanins and polyphenols, and the best two treatments were selected for the evaluation of individual anthocyanins identification and expression of genes involved in the anthocyanin biosynthesis route. It was verified that Seleção Embrapa 21 presents phenological and productive characteristics appropriate to the standards required by the internal and external markets, cycle of 130 days and yield of 23.85 t ha<sup>-1</sup>, being feasible its cultivation under two-crop system. Exogenous applications of *S*-ABA resulted in better color attributes of Seleção Embrapa 21 seedless grape, mainly 400 mg L<sup>-1</sup> in two applications, at 7DAV and 21DAV, with higher acceptance by consumers considering the color, appearance and purchase intention, with no effect on sprouting and number of clusters in the subsequent seasons. The exogenous *S*-ABA provided a higher accumulation of total anthocyanins in the berries skin and improved the color attributes of Seleção Embrapa 21 grape. Two applications of 400 mg L<sup>-1</sup>, at 7DAV and 21DAV, increased the concentration of individual anthocyanins delphinidin, cyanidin, petunidin and peonidin 3 -glucoside, and extended the increase of structural gene expression *CHI*, *F3H*, *DFR* and *UFGT* and the transcription factors *VvMYBA1* and *VvMYBA2*.

**Key words:** *S*-ABA. Growth regulator. Anthocyanins. Gene expression.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1.1</b> - Cacho da videira apirena Seleção Embrapa 21.....	21
<b>Figura 2.3.1</b> - Estruturas moleculares das principais antocianidinas da uva.....	24
<b>Figura 2.4.1</b> - Via biossintética dos flavonoides com destaque para a formação das antocianidinas. CHS – chalcona sintase; CHI – chalcona isomerase; F3H – flavanona 3-hidroxilase; F3'H – flavonoide 3'-hidroxilase; F3',5'H - flavonoide 3', 5'-hidroxilase; DFR – dihidroflavonol redutase; LDOX – leucoantocianidina dioxigenase; UFGT - enzimas UDP glicose: flavonoide 3-O-glicosiltransferases; MT – metiltransferases. Adaptado de Rinaldo et al. (2015).....	25
<b>Figura 2.5.1</b> - Estruturas químicas ( <i>S</i> )- <i>cis</i> -ABA (A) e <i>R</i> - <i>cis</i> -ABA (B) .....	28
<b>Figura 3.3.1</b> - Fases do desenvolvimento fenológico da uva apirena Seleção Embrapa 21. (A): Gema-algodão; (B): Início da brotação; (C): Aparecimento da inflorescência; (D): Florescimento; (E): Início da maturação; (F): Colheita. Marialva, PR.....	44
<b>Figura 3.4.1</b> - Duração em dias dos estádios fenológicos da videira Seleção Embrapa 21 em Marialva, PR. Safras regular de 2013 (A) e fora de época de 2014 (B). Poda (PO); Gema-algodão (GA); Brotação (BR); Aparecimento da Inflorescência (AI); Florescimento (FL); Início da Maturação (IM); e Colheita (CO) .....	48
<b>Figura 4.3.1</b> - Cronograma das aplicações de S-ABA na uva apirena Seleção Embrapa 21 na safra regular de 2013 e na safra fora de época de 2014. Marialva, PR .....	66
<b>Figura 4.4.1</b> - Características dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 no momento da colheita. Marialva, PR. (A) Controle; (B) S-ABA 200 mg L <sup>-1</sup> aos 7 dias após <i>veraison</i> (DAV); (C) S-ABA 400 mg L <sup>-1</sup> 7DAV; (D) S-ABA 200 mg L <sup>-1</sup> 7DAV + 200 mg L <sup>-1</sup> 21DAV; e (E) S-ABA 400 mg L <sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L <sup>-1</sup> 21DAV .....	71

- Figura 5.3.1.1** - Cronograma das coletas das amostras das bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras 2013 e 2014, e Safra 2015. Marialva, PR .....91
- Figura 5.4.1.1** - Características dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 no momento da colheita, Marialva, PR. (A): Controle: sem aplicação; (B): 200 mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 7 dias após o *veraison* (DAV); (C): 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA aos 7DAV; (D): 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA aos 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV; (E): 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV. ....101
- Figura 5.4.2.1** - Luminosidade ( $L^*$ ), saturação ( $C^*$ ), tonalidade ( $h^\circ$ ) e índice de cor (IC) de bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safra 2015. Marialva, PR. Controle: sem aplicação; 400: 400 mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 7 dias após o *veraison* (DAV); 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV. Médias dos tratamentos seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). *ns*: não significativo .....109
- Figura 5.4.2.2** - Efeito do tratamento com S-ABA exógeno sobre os fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*, na casca das bagas da uva Seleção Embrapa 21 durante a maturação. Safra 2015. Os asteriscos indicam diferenças significativas em relação ao controle, detectadas pelo teste *t* (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ). Controle: sem aplicação; 400: 400 mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 7 dias após o *veraison* (DAV); 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV .....111
- Figura 5.4.2.3** - Efeito do tratamento com S-ABA exógeno sobre os níveis de transcrição dos genes estruturais *CHI*, *F3H*, *DFR*, *LDOX* e *UFGT*, envolvidos na via biossintética das antocianinas na casca das bagas da uva Seleção Embrapa 21 durante a maturação. Safra de 2015. Os asteriscos indicam diferenças

significativas em relação ao controle, detectadas pelo teste *t* (\**p*<0,05; \*\**p*<0,01; \*\*\**p*<0,001). Controle: sem aplicação; 400: 400 mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 7 dias após o *veraison* (DAV); 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV .....112

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.4.1</b> - Exigência térmica em graus-dia (GD) e desvio-padrão para cada subperíodo fenológico da uva apirena Seleção Embrapa 21 cultivada sob sistema de dupla safra anual. Marialva, PR. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014.....	49
<b>Tabela 3.4.2</b> - Características físicas da uva apirena Seleção Embrapa 21 cultivada sob sistema de dupla safra anual. Marialva, PR. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014.....	50
<b>Tabela 3.4.3</b> - Características químicas da uva apirena Seleção Embrapa 21 cultivada sob sistema de dupla safra anual. Marialva, PR. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014.....	54
<b>Tabela 4.4.1</b> - Luminosidade ( $L^*$ ) e saturação ( $C^*$ ) das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.....	69
<b>Tabela 4.4.2</b> - Tonalidade ( $h^\circ$ ) e diferença de cor residual ( $\Delta E$ ) das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.....	70
<b>Tabela 4.4.3</b> - Intensidade e tipo da cor das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.....	72
<b>Tabela 4.4.4</b> - Massa e diâmetro das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR .....	73
<b>Tabela 4.4.5</b> - Massa e comprimento dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetidos a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR .....	73

<b>Tabela 4.4.6</b> - Sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e relação SS/AT das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR .....	74
<b>Tabela 4.4.7</b> - Notas hedônicas utilizadas na análise sensorial-visual quanto à aparência, cor e intenção de compra de compra da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a tratamentos com S-ABA. Safra fora de época de 2014. Londrina, PR .....	75
<b>Tabela 4.4.8</b> - Número de ramos emitidos por vara e número de cachos por ramo da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a tratamentos com S-ABA na safra anterior. Safras regular e fora de época de 2014. Marialva, PR .....	76
<b>Tabela 5.3.3.1</b> - Sequência dos <i>primers</i> utilizados nas reações de PCR em Tempo Real .....	98
<b>Tabela 5.4.1.1</b> - Antocianinas totais, índice de cor (IC) e cobertura da cor do cacho da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras 2013 e 2014. Marialva, PR .....	99
<b>Tabela 5.4.1.2</b> - Polifenóis totais e firmeza das bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras 2013 e 2014. Marialva, PR.....	102
<b>Tabela 5.4.2.1</b> - Quantificação de antocianinas totais e individuais da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safra 2015. Marialva, PR .....	105

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHS	Chalcona sintase
CHI	Chalcona isomerase
F3H	Flavanona 3-hidroxilase
F3'H	Flavonoide 3'-hidroxilase
F3',5'H	Flavonoide 3', 5'-hidroxilase
DFR	Dihidroflavonol redutase
LDOX	Leucoantocianidina dioxigenase
UGT	UDP glicose: flavonoide 3-O-glicosiltransferases
MT	Metiltransferases

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	18
2.1	CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA VIDEIRA E UVAS APIRENAS .....	18
2.2	VITICULTURA NO MUNDO E NO BRASIL .....	21
2.3	FLAVONOIDES: ANTOCIANINAS.....	22
2.4	BIOSSÍNTESE DAS ANTOCIANINAS EM UVAS .....	25
2.5	REGULADORES VEGETAIS: O ÁCIDO ABCSÍCICO.....	27
2.6	REFERÊNCIAS .....	32
<b>3</b>	<b>ARTIGO A - CARACTERIZAÇÃO FENOLÓGICA E PRODUTIVA DA UVA APIRENA DE MESA SELEÇÃO EMBRAPA 21</b> .....	41
3.1	RESUMO E ABSTRACT.....	41
3.2	INTRODUÇÃO .....	42
3.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
3.5	CONCLUSÃO .....	56
3.6	REFERÊNCIAS .....	56
<b>4</b>	<b>ARTIGO B - ÉPOCAS DE APLICAÇÃO E CONCENTRAÇÕES DO ÁCIDO ABCSÍCICO NAS CARACTERÍSTICAS DE COR E ACEITAÇÃO DOS CACHOS DA UVA APIRENA SELEÇÃO EMBRAPA 21</b> .....	63
4.1	RESUMO E ABSTRACT.....	63
4.2	INTRODUÇÃO .....	65
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	66
4.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	71
4.5	CONCLUSÃO .....	79
4.6	REFERÊNCIAS .....	80

<b>5</b>	<b>ARTIGO C - APLICAÇÃO EXÓGENA DE ÁCIDO ABSCÍSICO PROMOVE A BIOSÍNTESE DE ANTOCIANINAS E AUMENTO DA EXPRESSÃO DOS GENES ENVOLVIDOS NA SÍNTESE DE FLAVONOIDES EM UVA DE MESA APIRENA.....</b>	<b>88</b>
5.1	RESUMO E ABSTRACT.....	88
5.2	INTRODUÇÃO .....	90
5.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	92
5.3.1	ÁREA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	92
5.3.2	EXPERIMENTOS DAS SAFRAS 2013 E 2014 .....	94
5.3.3	EXPERIMENTO DA SAFRA 2015 .....	96
5.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	101
5.4.1	EXPERIMENTOS DAS SAFRAS 2013 E 2014 .....	101
5.4.2	EXPERIMENTO DA SAFRA 2015 .....	106
5.5	CONCLUSÃO .....	118
5.6	REFERÊNCIAS .....	119

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, por ser uma atividade lucrativa, a produção de uva de mesa apresenta importância econômica e social, garantindo a sustentabilidade de pequenas propriedades rurais. Além disso, por demandar intensa mão-de-obra, é geradora de emprego e renda, tornando-se uma atividade rentável tanto para a agricultura familiar como empresarial. A uva é uma das principais frutas de clima temperado produzidas no Brasil, cujo mercado encontra-se em plena ascensão. Dessa forma, evidencia-se a necessidade de rigoroso controle qualitativo na produção dessa planta frutífera, no intuito de se obter matéria prima com elevado teor de açúcar, acidez equilibrada e boa sanidade, além de alto teor de compostos fenólicos e adaptadas às condições climáticas brasileiras (MELLO, 2016; PROTAS; 2016).

As cultivares de uvas sem sementes ou apirenas são atualmente as mais procuradas pelos consumidores tradicionais, na Europa e nos Estados Unidos. Desta forma, visando atender o mercado exterior, na década de 1990, foram introduzidas no Brasil as uvas apirenas 'Superior Seedless', 'Catalunha', 'Thompson Seedless' e 'Crimson Seedless', porém todas advindas do clima temperado, e por esta razão, com dificuldades para a obtenção de alta produtividade. Ao mesmo tempo, a Embrapa Uva e Vinho, iniciou em 1997, o Programa de Melhoramento Genético de Uvas visando o desenvolvimento de cultivares de mesa apirenas adaptadas às condições tropicais do Brasil e que oferecesse a qualidade requerida pelo mercado internacional (NACHTIGAL, 2005; COLOMBO et al., 2011).

Em 2003 foram lançadas as primeiras cultivares de uva de mesa apirenas: BRS Morena, BRS Clara e BRS Linda. Tratam-se de uvas que apresentam alta fertilidade natural nas condições tropicais do Brasil, possibilitando inclusive a produção fora de época em regiões de clima subtropical. Mais recentemente foram lançadas as uvas 'BRS Vitória' e 'BRS Isis' em 2012 e 2013, respectivamente, as quais são tolerantes ao míldio, uma das principais doenças da videira em regiões de verão úmido (NACHTIGAL, 2005; COLOMBO et al., 2011; MAIA et al., 2012; RITSCHER et al., 2013). Outras seleções de uvas apirenas desenvolvidas pela Embrapa encontram-se em fase final avaliação, como a Seleção Embrapa 21, que apesar de bem adaptada às condições edafoclimáticas brasileiras, seus cachos

levemente rosados apresentam carência de pigmentação, o que resulta em deficiência e desuniformidade de cor das bagas.

A cor das uvas exerce grande influência no valor comercial do produto devido ao aspecto visual, influenciando no processo de escolha dos consumidores, sendo responsável pela qualidade comercial do fruto (ABE et al., 2007; LIANG et al., 2008; MATTIUZ et al., 2009). A intensidade da cor da baga está relacionada à concentração de antocianinas, pigmentos que conferem cor aos frutos, e seu acúmulo se inicia no *veraison* (início da maturação) e parece ser regulado, pelo menos em parte, pelo ácido abscísico (ABA) (HIRATSUKA et al., 2001; BAN et al., 2003; OWEN et al., 2009). Nas décadas de 80 e 90, demonstrou-se que a aplicação exógena de ABA em uvas híbridas, como a 'Kyoho' e a 'Olimpia' (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*) podem incrementar a concentração de antocianinas na sua casca (LEE; TOMANA, 1980; KATAOKA; SUGIURA; UTSUNOMIYA, 1982; HAN et al., 1996). Entretanto, o custo para a síntese de ABA pelas companhias químicas era demasiadamente elevado e não justificava sua utilização na agricultura. Posteriormente, foi desenvolvido um método de produção biológica de (S)-*cis*-ácido abscísico (S-ABA), um isômero específico do ABA, por meio de fungos, que tornou o método de produção economicamente viável, possibilitando seu uso na agricultura (SIEWERS et al., 2006; OWEN et al., 2009).

Nesse sentido, o efeito do S-ABA em uvas de mesa tem sido mais amplamente investigado, uma vez que aplicações exógenas desse regulador propiciam aumento na concentração de antocianinas na casca das uvas, demonstrando seu potencial de uso na cultura (ROBERTO et al., 2012, 2013; EL-SAYED, 2013; LEÃO et al., 2014; FERRARA et al., 2013, 2015). Além do efeito direto do S-ABA sobre a cor das uvas, a análise da expressão do gene *UFGT* (UDP glicose: flavonoide 3-O-glicosiltransferases), que controla a síntese de antocianinas, pode ajudar a determinar com maior exatidão a melhor época e concentração da aplicação desse regulador em uvas de mesa (PEPPI, WALKER; FIDELIBUS, 2008), dando suporte tecnológico para que seleções de uvas de programas de melhoramento, como a Embrapa 21, possam ser lançadas como novas cultivares.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de aplicações exógenas em diferentes épocas e concentrações do regulador de crescimento S-ABA nas propriedades físico-químicas, na cor, no perfil das antocianinas e na expressão dos

genes envolvidos na biossíntese das antocianinas da uva apirena Seleção Embrapa 21, visando incrementar e uniformizar a cor das bagas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA Videira e Uvas Apirenas

O centro de origem genética da videira é a Groelândia, há aproximadamente 300.000 anos, durante a Era Cenozoica do Período Terciário, surgiu a primeira espécie, que se dispersou em duas direções: américo-asiático e euro-asiático. As espécies ancestrais colonizaram novas áreas e foram diferenciando-se em novas espécies, considerando-se atualmente três centros de dispersão da videira: Europa, Ásia e América. No Brasil, a videira foi introduzida em 1532, quando Martim Afonso de Sousa trouxe as primeiras vinhas para a capitania de São Vicente (BOLIANI; CORRÊA, 2001; SOUSA, 1996).

A videira é uma planta perene, lenhosa, caducifólia e sarmentosa, pertence à família Vitaceae e ao gênero *Vitis*. A família Vitaceae compreende 1.000 espécies atribuídas a 17 gêneros, porém, apenas os gêneros *Vitis* L. e *Muscadinia* (Planch.) Small têm importância econômica e alimentar. O gênero *Vitis* ocorre predominantemente nas zonas de clima temperado e subtropical do Hemisfério Norte. Este gênero provavelmente é constituído por 60 a 70 espécies (acrescido de até 30 espécies fósseis e 15 espécies duvidosas), distribuídos principalmente na Ásia e América do Norte (KISHINO; CARVALHO; ROBERTO, 2007; SOUZA; LORENZI, 2005; KELLER, 2015).

As uvas podem ser divididas em dois grandes grupos: as americanas ou rústicas (*Vitis labrusca* L.), cujas representantes mais famosas no Brasil são as cultivares Isabel, Niágara e Concord, e as europeias ou finas (*Vitis vinifera* L.), sendo representado principalmente por cultivares como a Rubi, Benitaka e Brasil, Red Globe, Red Meire e as sem sementes (Centennial Seedless, Superior Seedless ou Festival, Thompson Seedless, Perlette, Catalunha e Crimson Seedless) (LAZZAROTTO; FIORAVANÇO, 2012). A produção de uvas finas de mesa se desenvolveu no Brasil com base em uvas com sementes como a uva 'Itália' e suas mutações, entretanto, devido à demanda do mercado internacional, houve a necessidade da produção uvas sem sementes ou apirenas (JUNIOR; CAMARGO; SILVA, 2006). As uvas apirenas possuem uma característica que confere maior

qualidade ao fruto, principalmente se destinado ao consumo em fresco, apresentando melhor aceitação pelos consumidores (MIRA; CARVALHO; VIOLA, 2015).

A apirenia é resultante de dois processos biologicamente distintos, a partenocarpia estimulativa e estenospermocarpia. Na partenocarpia estimulativa não ocorre a fecundação das flores e, portanto, os frutos são pequenos e sem vestígio de semente. A principal representante é a uva 'Black Corinth', que apesar de possuir pólen de alta fecundidade, o desenvolvimento de óvulos após o florescimento não ocorre devido à má-formação do saco embrionário e à degeneração dos núcleos. O desenvolvimento do fruto depende de um estímulo ao aumento do conteúdo de auxinas através de incisão anelar ou aplicação de reguladores vegetais (POMMER; TERRA; PIRES, 2003; GIOVANNINI, 2014).

A ausência de sementes também pode advir da esternospermocarpia, quando ocorre a polinização e a fecundação e conseqüente formação inicial da semente, porém, em seguida, ocorre um colapso do endosperma, tornando as sementes inviáveis, porém o conteúdo de auxinas é suficiente para o desenvolvimento normal do fruto. Embora os óvulos abortados e os tegumentos com pouco ou nenhum esclerênquima possam ser observados por meio de sementes-traço ou vestigiais, elas permanecem quase sempre tenras e não detectáveis ao mastigar. A quase totalidade das cultivares apirenas no mundo são do tipo estenospermocárpico, uma vez que os frutos crescem mais do que os puramente partenocárpico e são mais responsivos aos tratamentos para aumentar seu tamanho, tornando-os economicamente mais interessantes (POMMER; TERRA; PIRES, 2003).

As uvas apirenas 'Thompson Seedless', 'Catalunha', 'Superior Seedless' e 'Crimson Seedless' são as mais tradicionais no Brasil, porém a instabilidade da produção em ciclos sucessivos, especialmente quando são praticados dois ciclos anuais de produção, a susceptibilidade às doenças fúngicas, especialmente ao míldio, causado por *Plasmopara viticola* (Berk e Curt) Berl; a sensibilidade ao rachamento de bagas, causado pela ocorrência de chuvas no período de maturação; a necessidade do uso de altas doses de reguladores de crescimento para o aumento do tamanho de bagas, fracionadas em várias aplicações e a conseqüente demanda por mão de obra intensiva para o manejo da

copa e dos cachos, dificultam a expansão da sua produção (CAMARGO et al., 1997; CAMARGO, 2003, JUNIOR; CAMARGO; SILVA, 2006).

Para atender o mercado externo, surgiu a necessidade de desenvolver cultivares de uvas apirenas adaptadas às condições das regiões produtoras do país. Em 1997 a Embrapa Uva e Vinho iniciou o Programa de Melhoramento Genético, visando a criação de cultivares de uva de mesa apirenas. Em 2003, foram lançadas as primeiras cultivares: BRS Morena, BRS Clara e BRS Linda, as quais apresentam alta fertilidade nas condições tropicais do Brasil, possibilitando inclusive a produção na safra fora de época em regiões de clima subtropical. A cultivar BRS Vitória, de bagas negras, foi lançada em 2012, apresentando excelente adaptação às diferentes regiões do país como Vale do Submédio São Francisco, Noroeste e Centro de São Paulo e Norte dos Estados do Paraná e Minas Gerais, além disso, possui alta fertilidade e tolerância ao míldio (NACHTIGAL, 2005; COLOMBO et al., 2011; MAIA et al., 2012).

Em 2013 foi lançada a cultivar BRS Isis, uva de bagas vermelhas, tolerante ao míldio e com boa adaptação às condições de clima tropical do Brasil, com alta fertilidade de gemas, bagas aderentes ao engajo, de textura firme e sabor neutro (RITSCHER et al., 2013). Entretanto, outras seleções de uvas apirenas desenvolvidas pelo Programa de Melhoramento Genético de uvas da Embrapa, encontram-se em avaliação final para serem posteriormente lançadas no mercado, como a Seleção Embrapa 21 (Figura 2.1.1.). Trata-se de uma espécie híbrida interespecífica, e assim como as uvas 'BRS Vitória' e 'BRS Isis', são resultantes do cruzamento entre CNPUV 681-29 [Arkansas 1976 x CNPUV 147-3 ('Niágara Branca' x 'Vênus')] x 'BRS Linda', realizado em 2004, na Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Viticultura Tropical (EVT), em Jales, SP. Apesar de ser adaptada às condições edafoclimáticas brasileiras, seus cachos, levemente rosados, apresentam carência de pigmentos, o que resulta em cachos com deficiência em cor. Dessa forma, o desenvolvimento de tecnologias que visem o incremento da cor de suas bagas podem permitir que essa seleção seja lançada como cultivar, tornando-a muito competitiva nos mercados interno e externo de uvas apirenas.



**Figura 2.1.1** - Cacho da videira apirena Seleção Embrapa 21.

## 2.2 VITICULTURA NO MUNDO E NO BRASIL

Considerada uma das principais plantas frutíferas cultivada no mundo, a produção anual de uvas em 2013 foi de 77,2 milhões de t, das quais 11,5 milhões de t foram produzidas na China, o que representa 15% da produção mundial. Outros países, tais como Itália, Estados Unidos, Espanha e França juntamente com a China, produziram 52% do total mundial (FAOSTAT, 2016).

No cenário internacional, a vitivinicultura brasileira ocupou a 13ª colocação em produção de uva no ano de 2015, apresentando aumento de 34,9% em relação ao ano de 2003, respondendo por 2% da produção mundial de uvas, com cultivares adaptadas aos vários tipos de solo e clima (IBGE, 2016; FAOSTAT, 2016).

Em 2015, a área destinada ao cultivo da videira no Brasil foi de 78,0 mil ha, com produção total de 1,5 milhão de t. A região Sul é a maior produtora de uva, com cerca de 960 mil t, correspondente a 67,7% da produção nacional. Os principais produtores são Rio Grande do Sul (49.733 ha), São Paulo (7.803 ha), Pernambuco (6.814 ha), Santa Catarina (4.843 ha), Paraná (4.459 ha) e Bahia (2.861 ha). A produção nacional de uva está voltada, basicamente, a dois mercados com características peculiares, sendo que 52% da produção total da safra de 2015 foi destinada ao consumo em fresco e 48% ao processamento (IBGE, 2016; MELLO, 2016).

No Paraná destacam-se duas regiões importantes, a metropolitana de Curitiba, localizada no sul do Estado, tradicionalmente conhecida pela elaboração de vinhos de mesa, principalmente com a cultivar Bordô, e a região de Maringá, com produção de uvas finas de mesa, principalmente as cultivares Benitaka, Rubi, Itália e Brasil. O município de Marialva, região de Maringá, contribuiu com 29,1% da produção de uvas em 2015; a cultura envolve 795 produtores e aproximadamente 1.000 famílias em sua produção, sendo que 70% das propriedades com viticultura utilizam a mão de obra familiar. Além do município de Marialva, outros como Uraí, Rosário do Ivaí e Assaí apresentam representatividade na produção de uvas de mesa (ALMEIDA; SERRA, 2013; IBGE, 2016; MELLO, 2016; PROTAS; CAMARGO, 2011).

Um diferencial na produção de uvas finas de mesa na região norte paranaense é a obtenção de duas safras anuais, devido à tecnologia desenvolvida com dupla poda anual e uso de reguladores vegetais. Desta forma, além da safra regular obtida em novembro a janeiro, tem-se a fora de época que ocorre na entressafra (maio a junho), período em que a oferta de uvas de mesa é baixa ou inexistente em outras regiões do Brasil (KISHINO; CARVALHO; ROBERTO, 2007).

### 2.3 FLAVONOIDES: ANTOCIANINAS

Os flavonoides (C6-C3-C6) constituem a maior classe de compostos fenólicos, com mais de 9000 moléculas conhecidas. As diferentes combinações com diversos grupos de substituição diversificam as estruturas químicas, propriedades e funções biológicas e resultam em pelo menos nove subgrupos principais:

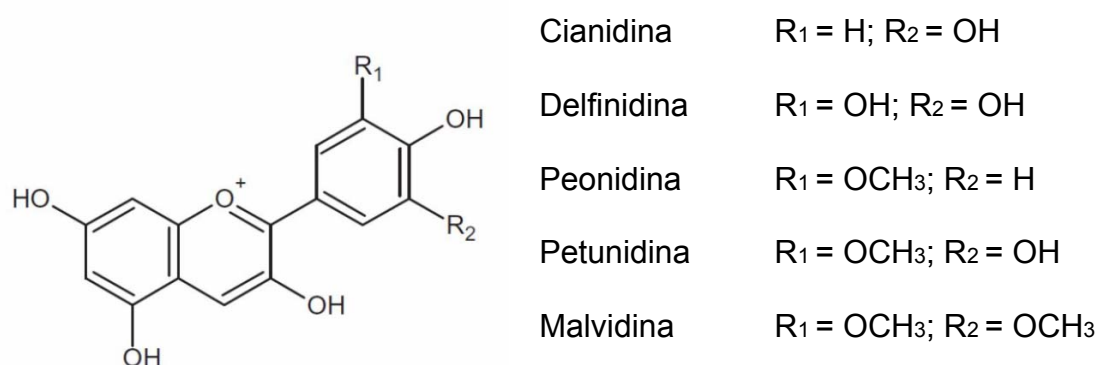
antocianinas (antocianidinas), taninos condensados (proantocianidinas), flavonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonas, chalconas, auronas e flobafenos. Dentre estes, somente as antocianinas podem fornecer um espectro completo de cores visíveis com a modificação de grupos de substituição, mudança de valores de pH e presença de íons metálicos (CHEN, 2015).

O acúmulo de antocianinas nas bagas se inicia no *veraison*, porém as condições precisas que iniciam a síntese são desconhecidas. Acredita-se que o acúmulo de açúcar fornece o substrato necessário para iniciar o processo, uma vez que além de suprir as necessidades imediatas do tecido, favorece frequentemente a síntese de metabolitos secundários, como antocianinas e outros compostos fenólicos (JACKSON, 2008). A síntese de antocianinas em células de uva podem ser induzidas por meio dos potenciais osmóticos elevados, dessa forma, o acúmulo de açúcar pode agir indiretamente sobre o potencial osmótico das células da casca (JACKSON, 2008). Além disso, o acúmulo de açúcar está relacionado ao ácido abscísico (ABA), visto que, os açúcares estimulam a síntese do ABA, regulador vegetal que desempenha um importante papel na ativação de genes envolvidos na biossíntese das antocianinas (KELLER, 2015).

As antocianinas são sintetizadas no retículo endoplasmático e armazenadas nos vacúolos, atuando na proteção dos cloroplastos contra os efeitos adversos do excesso de luz, atenuação da radiação UV-B e atividade antioxidante (BAN et al., 2007; ORAK, 2007). As antocianinas possuem estrutura planar, contendo dois anéis benzênicos separados pelo anel heterocíclico. Aproximadamente 600 antocianinas são conhecidas, sendo encontradas na forma heterosídica. A forma aglicona é denominada de antocianidina, sua estrutura fundamental é o núcleo flavilium (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Entre as 20 antocianidinas conhecidas, que ocorrem naturalmente, apenas seis são mais frequentes: cianidina, delphinidina, pelargonidina, malvidina, petunidina e peonidina. Dentre essas, a pelargonidina não é encontrada em uvas. A diferença na estrutura química entre elas se verifica nas posições 3' e 5' do anel B, podendo ser acilado com os ácidos ferúlico, caféico e *p*-cumarico (ARAÚJO, 2011). As diferenças entre as várias antocianinas estão no número de grupos hidroxílicos, no grau de metilação destes grupos, na natureza e no número de açúcares ligados à molécula e na posição dessas ligações, bem como na natureza e no número de

ácidos alifáticos e/ou aromáticos ligados ao açúcar na molécula (COSTANTINI et al., 2015). Sendo assim, cada espécie ou cultivar tem um conjunto distinto de antocianinas, as quais são responsáveis pelas cores vermelha, roxa ou azul das cascas das uvas tintas (FERRARA et al., 2015; JU et al., 2016; KATAYAMA-IKEGAMI et al., 2016).



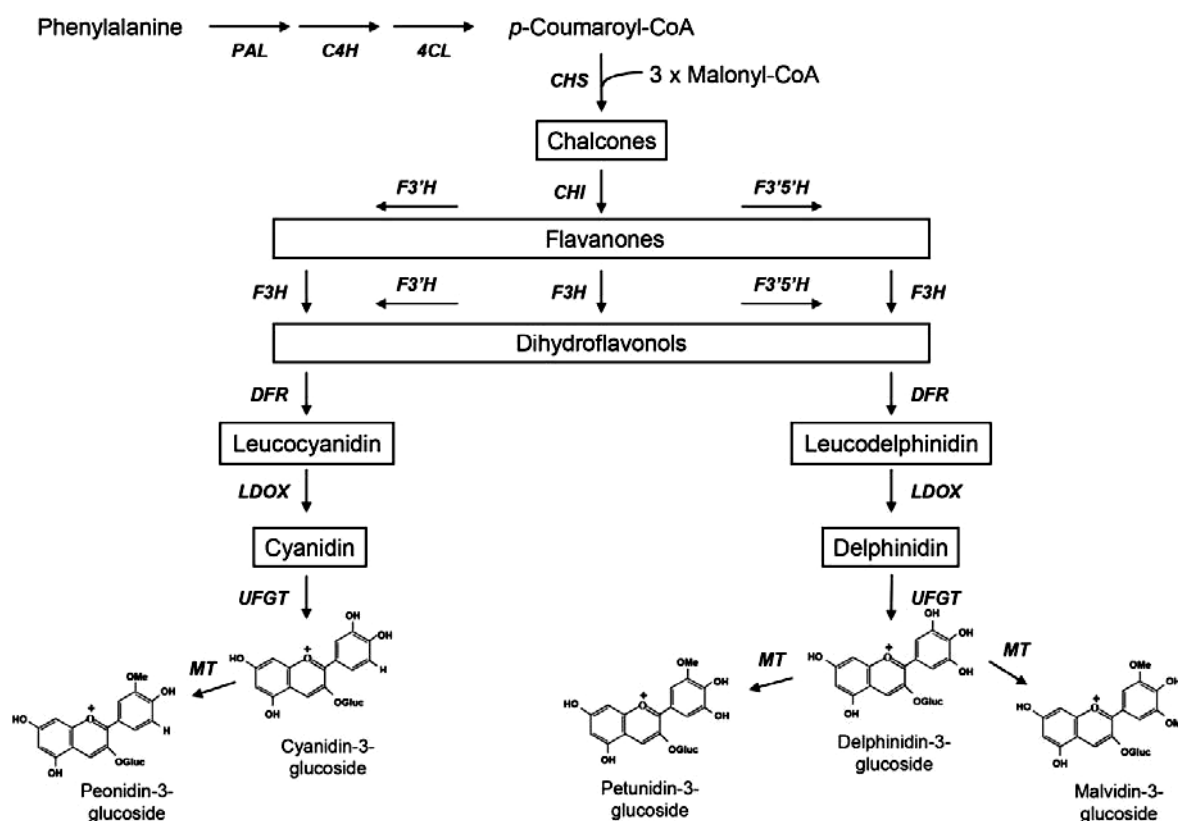
**Figura 2.3.1** - Estruturas moleculares das principais antocianinas da uva.

Como regra geral, as antocianinas de cultivares de *V. vinifera* estão ligadas a uma molécula de glicose (3-glicosídeos), e apenas traços de antocianinas ligadas a duas moléculas de glicose (3,5-diglicósidos) estão por vezes presentes (LIANG et al., 2009; 2012). Em contraste, nas cultivares de *V. labrusca* assim como nas de *V. rotundifolia*, as antocianinas predominantes são as caracterizadas como 3,5-diglicósidos (MIZUNO; HIRANO; OKAMOTO, 2006; SANDHU et al., 2011). Em uvas híbridas, os dois tipos de antocianinas são encontradas, tanto 3-glicosídeos como 3,5-diglicósidos (YAMAMOTO et al., 2015a).

Por serem responsáveis pela cor, a quantidade e a composição das antocianinas nas bagas das uvas no fim da maturação estão entre os indicadores da qualidade do fruto. Para estimular a biossíntese de antocianinas em uvas de mesa, tem-se utilizado o etefom no *veraison*, um agente de liberação de etileno (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007b). Mais recentemente, também se demonstrou que a aplicação de ácido abscísico (S-ABA) no *veraison* ou após, estimula o acúmulo de antocianinas e promove a cor das bagas de uvas (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006; ROBERTO et al., 2012; 2013; YAMAMOTO et al., 2015b).

## 2.4 BIOSÍNTESE DAS ANTOCIANINAS EM UVAS

A rota que conduz à produção de flavonoides tem natureza ramificada, com os passos iniciais produzindo compostos intermediários que atuam como precursores para muitos tipos de moléculas relacionadas, como flavonas, flavonóis e isoflavonas (Figura 2.4.1) (ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2009).



**Figura 2.4.1** - Via biossintética dos flavonoides com destaque para a formação das antocianidinas. CHS – chalcona sintase; CHI – chalcona isomerase; F3H – flavanona 3-hidroxilase; F3'H – flavonoide 3'-hidroxilase; F3'5'H - flavonoide 3', 5'-hidroxilase; DFR – dihidroflavonol redutase; LDOX – leucoantocianidina dioxigenase; UFGT - UDP glicose: flavonoide 3-O-glicosiltransferases; MT – metiltransferases. Adaptado por Rinaldo et al. (2015)

A biossíntese das antocianinas implica na rota fenilpropanóide, via flavonas. Para a formação das antocianinas, a enzima chalconasintase (CHS) catalisa a reação de condensação de três moléculas de malonil-CoA com uma

molécula de *p*-coumaroil-CoA, para produzir naringenina chalcona (tetrahidroxichalcona), o primeiro flavonoide formado em muitas plantas. Reações enzimáticas subsequentes de CHS para naringenina são catalisadas pela chalcona isomerase (CHI) (HE et al., 2010).

A hidroxilação da naringenina na posição 3 por flavanona 3-hidroxilase (F3H) produz dihidrokaempferol, um dihidroflavonol, que pode ser hidrolisado na posição 3' ou 5' do anel B pela flavonoide 3- hidroxilase (F3'H) ou flavonoide 3'5' hidroxilase (F3',5'H), produzindo dihidroquercetina e dihidromiricetina, respectivamente. Um passo importante é realizado pela enzima dihidroflavonol 4-redutase (DFR), a qual converte os precursores de antocianidinas produzindo as leucoantocianidinas não coloridas, provendo estrutura para biossíntese de antocianinas (GOULD; DAVIES; WINEFIELD, 2009).

A conversão de leucoantocianidinas em antocianidinas é realizada por consecutivas reações catalisadas por leucoantocianidina dioxigenase (LDOX). O último passo na biossíntese de antocianinas é realizado pela enzima UDP glicose: flavonoide 3-O-glicosiltransferase (UFGT), as quais realizam as modificações de antocianidinas para as diferentes antocianinas (ALI et al., 2011; GOULD; DAVIES; WINEFIELD, 2009; HE et al., 2010). Evidências sugerem que, em algumas espécies de plantas, apenas a última enzima na via de biossíntese de antocianina, a UFGT, atua especificamente para a produção de antocianinas (ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2009).

A herança da cor de fruto ou a produção de antocianina na videira não são totalmente compreendidos, apesar da evidência de que a determinação primária da produção de antocianinas em bagas seja controlada por um único gene dominante em *V. vinifera*, sendo o fruto branco de caráter recessivo (RIAZ et al., 2004).

Embora a cor da baga da uva seja frequentemente caracterizada como um traço qualitativo, existe variação quantitativa dentro das populações segregantes para a antocianina total e para o perfil das antocianinas. A herdabilidade é tipicamente alta para o teor de antocianina total, e a maioria da variação fenotípica deve-se aos fatores de transcrição MYB (CHEN, 2015). Os fatores de transcrição VvMYBA1 e VvMYBA2 ativam a biossíntese de antocianinas

na videira (*V. vinifera*) e não são funcionais em cultivares de uvas brancas (RINALDO et al., 2015).

Em cultivares pigmentadas, o gene *VvMYBA1* é expresso somente após o *veraison*, sendo um dos responsáveis por regular a biossíntese de antocianinas, controlando a expressão de genes biossintéticos, particularmente o *UFGT*. Outras evidências sugerem que o *VvMYBA1* não é expresso nas folhas jovens, gavinhas ou caule de videiras, sendo específico aos tecidos das bagas, enquanto a expressão dos genes *VvMYBA1-2* mostrou induzir a expressão de muitos dos genes dentro da via biossintética dos flavonoides (JEONG et al., 2004; KOBAYASHI; YAMAMOTO; HIROCHIKA, 2005).

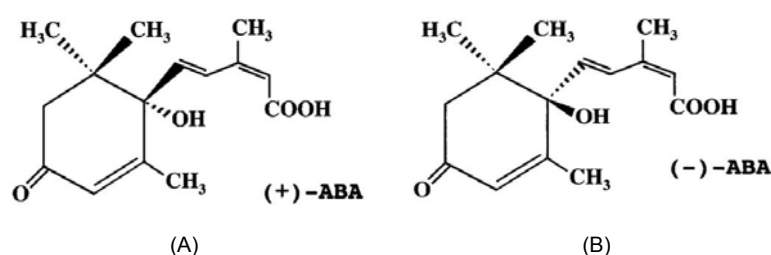
## 2.5 REGULADORES VEGETAIS: O ÁCIDO ABCSÍCICO

Os reguladores vegetais, tais como auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico (ABA) são compostos naturais ou sintéticos que podem ser aplicadas exogenamente nas plantas, com a finalidade de incrementar a produção e melhorar a qualidade dos frutos (DAVIES, 2004; MCDONALD; KHAN, 1983). Tais compostos influenciam o metabolismo das plantas, podendo, por exemplo, aumentar a taxa de síntese de enzimas envolvidas no processo de germinação das sementes, no enraizamento, na floração, na frutificação e na senescência de órgãos (CASTRO; VIEIRA, 2001).

Na viticultura, os reguladores vegetais podem atuar de maneira diferenciada sobre os órgãos da videira. Seus efeitos variam em função de fatores, como concentração, modo de aplicação, cultivar, estágio fenológico e condições ambientais (LEÃO; POSSÍDIO, 2000).

O ABA é composto por 15 carbonos e pertence à classe dos terpenóides, e pode apresentar-se nas configurações *cis* ou *trans* dependendo da orientação do grupo carboxila ligado ao carbono 2 de sua cadeia lateral. O isômero *cis*-ABA é a única forma que apresenta atividade biológica e corresponde a quase toda totalidade do ABA produzido pelos tecidos vegetais. O isômero *trans*-ABA, por sua vez, é inativo, mas pode ser convertido na forma *cis* por isomeração espontânea (KERBAUY, 2012).

Esse regulador vegetal possui um átomo de carbono assimétrico na posição 1' do anel, resultando nos enantiômeros *S* e *R* (ou + e -, respectivamente) (Figura 2.5.1). O ABA sintético disponível comercialmente para uso laboratorial é a mistura racêmica de quantidades aproximadamente iguais desses enantiômeros, que não podem ser interconvertidos no tecido vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2009).



**Figura 2.5.1** - Estruturas químicas (*S*)-*cis*-ABA (A) e *R*-*cis*-ABA (B).

Juntamente com os açúcares, o ABA desempenha um papel central na mudança de cor da casca e amolecimento das bagas, influenciando a expressão de genes envolvidos no processo de maturação do fruto (HIRATSUKA et al., 2001; BAN et al., 2003; OWEN et al., 2009; KELLER; 2015). Na antese, a concentração ABA é elevada; porém, a partir da primeira fase de desenvolvimento das bagas ocorre declínio de sua concentração, atingindo nível mais baixo aos sete a dez dias antes do *veraison*, aumentando novamente no *veraison* e se estendendo até o estabelecimento da maturação, quando ocorre novamente sua queda (DAVIES; BOSS; ROBINSON, 1997). A elevação dos níveis de ABA no *veraison* está intimamente relacionado ao aumento da concentração de antocianinas (COOMBE, 1973), devido a maior expressão do *UFGT* e do gene *VvMYBA1*, que regula a biossíntese de antocianinas (BAN et al., 2003; JEONG et al., 2004; GAGNÉ et al., 2011).

Até pouco tempo atrás, o custo para a síntese de ABA pelas companhias químicas era demasiadamente elevado e não justificava sua utilização na agricultura (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOTO, 2007). Mesmo assim, foi demonstrado que a aplicação de ABA durante o *veraison* aumenta o acúmulo de antocianinas de uvas, como na cultivar Kyoho (KATAOKA; SUGIURA;

UTSUNOMIYA, 1982), Cabernet Sauvignon (JEONG et al., 2004) e Pinot Noir (MORI et al., 2005). Verificou-se também que a aplicação de ABA antes do *veraison* na uva 'Cabernet Sauvignon' resulta em maior intensidade de cor das bagas (GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010).

Visando o uso comercial do regulador vegetal, foi desenvolvido pela empresa Valent Biosciences Corporation® um método de produção biológica por fungos do isômero (S)-*cis*-ácido abscísico (S-ABA), que tornou o método de produção e uso economicamente viável na agricultura (SIEWERS et al., 2006).

Desde então, comprovou-se que a aplicação de S-ABA reforça o acúmulo de antocianinas, e conseqüentemente, intensifica e melhora a distribuição da cor nas bagas, sobretudo de uvas finas de mesa. Em uva apirena 'Flame Seedless', o efeito do S-ABA aplicado em diferentes concentrações e épocas melhorou a qualidade dos frutos quando aplicado no *veraison* na concentração de 300 mg L<sup>-1</sup> (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006; PEPPI; FIDELIBUS, 2008). A aplicação de 300 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA no *veraison* em uvas 'Crimson Seedless', além de melhorar os atributos de cor das bagas, permitiu a antecipação da sua maturação em 10 dias (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOSTO, 2007). Igualmente, foi comprovada a eficiência do S-ABA com a mesma cultivar, testando-se épocas de aplicação e concentrações, com videiras conduzida em diferentes condições edafoclimáticas (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006; EL-SAYED, 2013; LEÃO et al., 2014; FERRARA et al., 2013, 2015). O efeito positivo do S-ABA pôde ser percebido na análise sensorial com as uvas 'Skookum Seedless' e 'Sovereign Coronation' em relação à sua intensidade de cor, sabor e atratividade do cacho (REYNOLDS et al., 2016).

Na uva 'Redglobe' a aplicação de 300 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA no *veraison* aumentou a concentração de antocianinas totais, mas não influenciou na composição das antocianinas (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007a). Foram observadas melhoras significativas nos atributos de cor nas bagas das uvas 'Benitaka' e 'Rubi' aplicando-se 400 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA, sete dias após o *veraison* e aos 15 dias antes da colheita, sem alteração nas características físico-químicas das bagas (ROBERTO et al., 2012, 2013).

O tratamento com S-ABA exógeno modificou a proporção entre diferentes tipos de antocianinas em uvas muscadíneas 'Noble' (*V. rotundifolia*). O

teor de delphinidina, cianidina e peonidina 3,5-diglicosídeo foi 50% maior em uvas tratadas com S-ABA, além do aumento de 63% de cianidina 3,5-diglicosídeo nas uvas coletadas 8 dias após a aplicação (SANDHU et al., 2011).

Os efeitos da aplicação exógena de S-ABA também foram estudados em cultivares de uvas para processamento como 'Cabernet Sauvignon' (WHEELER et al., 2009; DEIS et al., 2011; GARDIN et al., 2012; GONZÁLEZ et al., 2012; BALINT; REYNOLDS, 2013;) e 'Isabel', obtendo-se maiores concentrações de antocianinas e polifenóis tanto no fruto quanto no suco (KOYAMA et al., 2014a,b; YAMAMOTO et al., 2015a,b). A composição física e química das bagas de uva na colheita é responsável pela qualidade do suco e do vinho produzidos. Os compostos que variam a partir de açúcares para ácidos fenólicos e de produtos químicos voláteis, todos contribuem de forma interativa com a qualidade do produto (KELLER, 2015).

Tem sido relatado os efeitos do S-ABA na expressão de genes relacionados à biossíntese das antocianinas e ao acúmulo de metabolitos nas bagas das uvas, contribuindo assim para uma melhor compreensão dos mecanismos ligados à sinalização mediada por este regulador vegetal, bem como o efeito sobre o desenvolvimento e amadurecimento das bagas (GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010; VILLALOBOS-GONZÁLEZ et al., 2016).

A aplicação de ABA reforça o acúmulo do fator de transcrição *VvMYBA1*, regulador da expressão do gene *UFGT* (BOSS; DAVIES; ROBINSON, 1996; KOBAYASHI et al., 2002; JEONG et al., 2004; AZUMA et al., 2007). Foi comprovado que a aplicação de 1.000 mg L<sup>-1</sup> de  $\pm$  ABA (mistura racêmica dos enantiômeros S e R - ABA) (Sigma A-1049) em uva 'Cabernet Sauvignon' aumenta o do gene *VvMYBA1*, entre duas e quatro semanas após a aplicação (JEONG et al., 2004). O produto de *VvMYBA1* interage com as regiões promotoras de *UFGT* e de outros genes envolvidos na biossíntese de antocianinas. Em uva 'Kyoho', a aplicação de  $\pm$ ABA no *veraison* aumentou a expressão do gene *UFGT* uma semana após a aplicação, elevando a concentração de antocianinas nas bagas (BAN et al., 2003). Entretanto, é importante salientar que a utilização do  $\pm$ ABA, pode originar respostas diferentes quando aplicado nas plantas, uma vez que o R-ABA não é

encontrado nas plantas, sendo pouco ativo e menos eficaz que o S-ABA (ZHANG, 2014).

Em estudo realizado com a uva fina de mesa 'Crimson Seedless', o S-ABA estimulou a expressão do gene *UFGT* um dia após a sua aplicação, e os níveis de *UFGT* das bagas apresentaram-se ligeiramente mais acentuados em comparação. Uma semana após a aplicação, as bagas tratadas com 300 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA apresentaram valores seis vezes maiores que as bagas não tratadas, e três semanas após, os níveis de *UFGT* das uvas tratadas diminuíram e tornaram-se ligeiramente maiores que a testemunha. Durante a maturação até a colheita, os cachos tratados com S-ABA apresentaram bagas com cor significativamente mais intensa, que foi atribuído a mudança nos níveis de transcrição do gene *UFGT* (PEPPI, WALKER; FIDELIBUS, 2008).

A expressão gênica das antocianinas e as respostas à aplicação do S-ABA pode variar de acordo com a cultivar (PEPPI; WALKER; FIDELIBUS, 2008), assim como as suas concentrações e épocas de aplicação que são mais eficazes para melhorar a cor das bagas (GU et al., 2011). Apesar dos resultados positivos das aplicações exógenas de S-ABA, as respostas são muito variáveis devido ao comportamento que cada cultivar de uva apresenta na interação entre as concentrações, épocas de aplicação e condições edafoclimáticas. Dessa forma, é de suma importância elucidar a aplicação de S-ABA em diferentes épocas e concentrações no perfil das antocianinas e na expressão dos genes envolvidos na rota biossintética das antocianinas em uvas, especialmente de mesa, visando o incremento e distribuição da cor das bagas.

## 2.6 REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; MOTA, R. V. da; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p.394-400, 2007.
- ALI, M. B.; HOWARD, S.; CHEN, S.; WANG, Y.; YU, O.; KOVACS, L. G.; QIU, W. Berry skin development in Norton grape: distinct patterns of transcriptional regulation and flavonoid biosynthesis. **BMC Plant Biology**, Londres, v.11, n.1, p.7, 2011.
- ALMEIDA, A. C. S.; SERRA E. A viticultura em Marialva-PR – a utilização de mão de obra familiar na cadeia de produção da uva. **Geoiingá: Revista do Programa de Pós-Graduação em Geografia**, Maringá, v.5, n.1, p.3-17, 2013.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 2011. 601p.
- AZUMA, A.; KOBAYASHI, S.; YAKUSHIJI, H.; YAMADA, M.; MITANI, N.; SATO, A. *VvMYBA1* genotype determines grape skin color. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.46, n.3, p.1 54–155, 2007.
- BALINT, G.; REYNOLDS, A. G. Impact of exogenous abscisic acid on vine physiology and grape composition of Cabernet Sauvignon. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.64, p.74-87, 2013.
- BAN, T.; KOBAYASHI, S.; GOTOYAMAMOTOS, N.; HORIUCHI, S. Abscisic acid and 2, 4-dichlorohenoxyacetic acid affect the expression of anthocyanin biosynthetic pathway genes in 'Kyoho' grape berries. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Kent, v.78, n.4, p.586–589, 2003.
- BAN, Y.; HONDA, C.; BESSHO, H.; PANG, X. M.; MORIGUCHI, T. Suppression subtractive hybridization identifies genes induced in response to UV-B irradiation in apple skin: Isolation of a putative UDP-glucose 4-epimerase. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.58, n.7, p.1825–1834, 2007.
- BOLIANI, A.C.; CORRÊA, L.S. **Cultura de uvas de mesa do plantio à comercialização**, 2001. 328p.
- BOSS, P. K.; DAVIES, C.; ROBINSON S. P. Expression of anthocyanin biosynthesis pathway genes in red and white grapes. **Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.32, n.1, p.565–569, 1996.
- CAMARGO, U. A.; MASHIMA, C. H.; CZERMAINSKI, A. B. C. **Avaliação de cultivares de uvas apirênicas no Vale do São Francisco**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 1997. 8p.
- CAMARGO, U. A. **Melhoramento genético: variedades de uvas sem sementes para o Brasil**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 10., 2003, Bento Gonçalves. Anais. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, p.171-172, 2003.

CANTÍN, C. M. A.; FIDELIBUS, M. W.; CRISOSTO, C. H. Application of abscisic acid (ABA) at *veraison* advanced red color development and maintained postharvest quality of 'Crimson Seedless' grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, p.237–241, 2007.

CASTRO, P. R. C.; VIEIRA, E. L. **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 132p.

CHEN, C. **Pigments in fruits and vegetables**. 1ed. New York, NY: Springer New York, 2015. 277p.

COLOMBO, L. A.; ASSIS, A. M. D.; SATO, A. J.; TESSMANN, D. J.; GENTA, W.; ROBERTO, S. R. Produção fora de época da videira 'BRS Clara' sob cultivo protegido. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.2, p.798-808, 2011.

COOMBE, B. Regulation of set and development of the grape berry. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v.34, p.261-273, 1973.

COSTANTINI, L.; MALACARNE, G.; LORENZI, S.; TROGGIO, M.; MATTIVI, F.; MOSER, C.; GRANDO, M. S. New candidate genes for the fine regulation of the colour of grapes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.66, n.15, p.4427–4440, 2015.

DAVIES, C.; BOSS, P. K.; ROBINSON, S. P. Treatment of grape berries, a nonclimacteric fruit with a synthetic auxin, retards ripening and alters the expression of developmentally regulated genes. **Plant Physiology**, Rockville, v.115, p.1155–1161, 1997.

DAVIES, P. J. **Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action**. 3ed. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004. 750p.

DEIS, L.; CAVAGNARO, B.; BOTTINI, R.; WUILLOUD, R.; FERNANDA SILVA, M. Water deficit and exogenous ABA significantly affect grape and wine phenolic composition under in field and in-vitro conditions. **Journal of Plant Growth Regulator**, Verona, v.65, p.11-21, 2011.

EL-SAYED, M. E. A. Improving fruit quality and marketing of 'Crimson Seedless' grape using some preharvest treatments. **Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants**, Deira, v.5, n.3, p.218-226, 2013.

FERRARA, G.; MAZZEO, A.; MATARRESE, A.M.S.; PACIFICO, C.P.A.; GAMBACORTA, G.; FACCIA, M.; TRANI, A.; GALLO, V.; CAFAGNA, I.; MASTRORILLI, P. Application of Abscisic Acid (S-ABA) to 'Crimson Seedless' grape berries in a mediterranean climate: Effects on color, chemical characteristics, metabolic profile, and S-ABA concentration. **Journal of Plant Growth Regulators**, Berlin, v.32, n.3, p.491-505, 2013.

FERRARA, G.; MAZZEO, A.; MATARRESE, A. M. S.; PACUCCI, C.; PUNZI, R.; FACCIA, M.; TRANI, A.; GAMBACORTA, G. Application of abscisic acid (S-ABA) and sucrose to improve colour, anthocyanin content and antioxidant activity of cv.

Crimson Seedless grape berries. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.21, n.1, p.18–29, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT database results**. 2016. Disponível em: <<http://apps.fao.org>> Acesso em: 26 jun. 2016.

GAGNÉ, S.; CLUZET, S.; MÉRILLON, J.M.; GÉNY, L. ABA initiates anthocyanin production in grape cell cultures. **Journal of Plant Growth Regulation**, Nova Iorque, v.30, p.1–10, 2011.

GARDIN, J. P. P.; SCHUMACHER, R. L.; BETTONI, J. C.; PETRI, J. L.; SOUZA, E. L. de. Ácido abscísico e etefom: influência sobre a maturação e qualidade das uvas Cabernet Sauvignon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.2, p.321-327, 2012.

GIOVANNINI, E. **Manual de Viticultura**. Porto Alegre: Bookman. 2014. 264p.

GIRIBALDI, M.; HARTUNG, W.; SCHUBERT, A. S. The effects of abscisic acid on grape berry ripening are affected by the timing of treatment. **International Journal of Vine and Wine Science**, Bordeaux, v.44, n.4, p.9-15, 2010.

GONZÁLEZ, A. S.; OLEA, P.; BORDEU, E.; ALCALDE, J.A.; GENY, L. S-Abscisic acid, 2-chloroethylphosphonic acid and indole-3-acetic acid treatments modify grape (*Vitis vinifera* L. Cabernet Sauvignon) hormonal balance and wine quality. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v. 51, n. 2, p. 45, 2012.

GOULD, K.; DAVIES, K. M.; WINEFIELD, C. **Anthocyanins biosynthesis, functions and applications**. Netherlands: Springer, 2009. 329p.

GU, S.; JACOBS, S.; DU, G. Efficacy, rate and timing of applications of abscisic acid to enhance fruit anthocyanin contents in 'Cabernet Sauvignon' grapes. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Berlin, v.86, n.5, p.505–510, 2011.

HAN, D. H.; LEE, S. M. C.; LEE, H.; KIM, S. B. Effects of ABA and ethephon treatments on coloration and fruit quality in Kyoho grape. **Korean Journal of Horticultural Science & Technology**, Suwon, v.37, p.416–420, 1996.

HE, F.; MU, L.; YAN, G. L.; LIANG, N. N.; PAN, Q. H.; WANG, J.; REEVES, M. J.; DUAN, C. Q. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. **Molecules**, Basel, v.15, n.12, p. 9057–9091, 2010.

HIRATSUKA, S.; ONODERA, H.; KAWAI, Y.; KUBO, T.; ITOH, H.; WADA, R. ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.90, n.1-2, p. 121-130, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**. 2016. Disponível em:<[www.sidra.ibge.gov.br](http://www.sidra.ibge.gov.br)>. Acesso em: 3 ago. 2016.

JACKSON, R. S. **Wine science: principles and applications**. 3ed. Amsterdam: Elsevier, 2008. 751 p.

JEONG, S.T.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KOBAYASHI, S.; ESAKA, M. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of and the expression of anthocyanin biosynthetic genes berry skins. **Plant Science**, Londres, v.167, p.247-252, 2004.

JU, Y.-L.; LIU, M.; ZHAO, H.; MENG, J.-F.; FANG, Y.-L. Effect of exogenous abscisic acid and methyl jasmonate on anthocyanin composition, fatty acids, and volatile compounds of Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.) grape berries. **Molecules**, Basel, v.21, n.10, p.1354, 2016.

JUNIOR, A. T. C.; CAMARGO, U. A.; SILVA, I. M. N. **Produção de uva apirênica variedade Crimson Seedless na região do Apodi**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 6p.

KATAOKA, A.; SUGIURA, N.; UTSUNOMIYA, T. Effect of abscisic acid and defoliation on anthocyanin accumulation in Kyoho grapes (*Vitis vinifera* L. × *V. labrusca* Bailey). **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.2, p.325–332, 1982.

KATAYAMA-IKEGAMI, A.; SAKAMOTO, T.; SHIBUYA, K.; KATAYAMA, T. Effects of Abscisic Acid Treatment on Berry Coloration and Expression of Flavonoid Biosynthesis Genes in Grape. **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v.7, n.1, p.1325–1336, 2016.

KELLER, M. **The Science of Grapevines: Anatomy and Physiology**. 2nd Ed., London: Elsevier Academic Press. 2015, 508p.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 431p.

KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. **Viticultura tropical: o sistema de produção do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2007. 366p.

KOBAYASHI, S.; ISHIMARU, M.; HIRAOKA, C.; HONDA, C. MYB-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis. **Plant Science**, London, v.215, p.924–933, 2002.

KOBAYASHI, S.; YAMAMOTO, N. G.; HIROCHIKA, H. Association of VvMYBA1 gene expression with anthocyanin production in grape (*Vitis vinifera*) skin - color mutants. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Matsuyama, v.74, n.3, p.196-203, 2005.

KOYAMA, K.; SADAMATSU, K.; GOTO-YAMAMOTO, N. Abscisic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape. **Functional and Integrative Genomics**, Lisboa, v.10, n.3, p.367–381, 2010.

KOYAMA, R.; ASSIS, A. M. de; YAMAMOTO, L. Y.; BORGES, F. W.; BORGES, R. S.; PRUDÊNCIO, S. H.; ROBERTO, S. R. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from 'Isabel' grapes (*Vitis labrusca* L.). **Hortscience**, Alexandria, v.49, n.4, p.460-464, 2014a.

- KOYAMA, R.; YAMAMOTO, L. Y.; BORGES, W. F. S.; BONINI, M. P.; BORGES, R. S.; ASSIS, A. M. D.; ROBERTO, S. R. Épocas de aplicação e concentrações de ácido abscísico no incremento da cor da uva 'Isabel'. **Semina**, Londrina, v.35, n.4, p. 1697-1706, 2014b.
- LAZZAROTTO, J. J.; FIORAVANÇO, J. C. Comércio Exterior Mundial e Brasileiro de Uva de Mesa: Análise de Indicadores de Competitividade, Tendências e Sazonalidades. **Documentos 80**. 2012. 44p.
- LEÃO, P.C.S.; POSSÍDIO, E. L. **Implantação do pomar e manejo da cultura**. In: LEÃO, P.C.S.; SOARES, J.M. 1.ed. A viticultura no semi-árido brasileiro. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000. p.93-128.
- LEÃO, P. C. S.; LIMA, M. A. C.; COSTA, J. P. D.; TRINDADE, D. C. G. Abscisic acid and ethephon for improving red color and quality of Crimson seedless grapes grown in a tropical region. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.66, n.1, p.37-45, 2014.
- LEE, J. C.; TOMANA, T. Physiological study on anthocyanin development in grapes. II. Effect of sucrose, abscisic acid and indoleacetic acid on the anthocyanin development in Kyoho grape (*Vitis labruscana*). **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, Gyeonggido, v.21, p.158–163, 1980.
- LIANG, Z.; WU, B.; FAN, P.; YANG, C.; DUAN, W.; ZHENG, X.; LIU, C.; LI, S. Anthocyanin composition and content in grape berry skin in *Vitis* germplasm. **Food Chemistry**, Oxford, v.111, p.837-844, 2008.
- LIANG, Z.; YANG, C.; YANG, J.; WU, B.; WANG, L.; CHENG, J.; LI, S. Inheritance of anthocyanins in berries of *Vitis vinifera* grapes. **Euphytica**, Wageningen, v.167, n.1, p.113–125, 2009.
- LIANG, Z.; YANG, Y.; CHENG, L.; ZHONG, G. Y. Polyphenolic composition and content in the ripe berries of wild *Vitis* species. **Food Chemistry**, Oxford, v.132, n.2, p.730–738, 2012.
- MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T.; FAJARDO, T. V.; NAVES, R. L.; GIRARDI, C. L. **'BRS Vitória'** Nova cultivar de uva de mesa sem sementes com sabor especial e tolerante ao míldio. Comunicado Técnico, 126. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2012. 12p.
- MATTIUZ, B. H.; MIGUEL, A. C. A; GALATI, V. C.; NACHTIGAL, J. C. Efeito da temperatura no armazenamento de uvas apirênicas minimamente processadas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.1, p.44-52, 2009.
- MCDONALD, M. D.; KHAN, A. A. Acid scarification and protein synthesis during seed germination. **Agronomy Journal**, Madison, v.2, n.75, p.111-114, 1983.
- MELLO, L.M.R. **Vitivinicultura brasileira: Panorama 2015**. Comunicado Técnico, 191 Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2016. 6p.

MIRA, I.; CARVALHO FILHO, C. D.; VIOLA, D. N. Composição ideal da solução filmogênica adicionada de prebiótico, aplicada em uvas 'Thompson'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.37, n.2, p.308-317, 2015.

MIZUNO, H.; HIRANO, K.; OKAMOTO, G. Effect of anthocyanin composition in grape skin on anthocyanic vacuolar inclusion development and skin coloration. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.45, n.4, p.173–177, 2006.

MORI, K.; SAITO, H.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KITAYAMA, M.; KOBAYASHI, S.; SUGAYA, S.; GEMMA, H.; HASHIZUME, K. Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in Pinot noir grapes. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.44, n.4, p.161-165, 2005.

NACHTIGAL, J.C. Uvas sem sementes. **Revista brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.1, p.1, 2005.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.111, n.3, p.235–241, 2007.

OWEN, S. J.; LAFOND, M. D.; BOWEN, P.; BOGDANOFF, C.; USHER, K.; ABRAMS, S.R. Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (*Vitis vinifera*) berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.60, p.277-284, 2009.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation and color of 'Flame Seedless' grapes. **HortScience**, Alexandria, v.41, p.1440-1445, 2006.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS M. W.; DOKOOZLIAN N. Application timing and concentration of abscisic acid affect the quality of 'Redglobe' grapes. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v 82, p.304–310, 2007a.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Timing and concentration of abscisic acid applications affect the quality of 'Crimson Seedless' grapes. **International Journal of Fruit Science**, Nova Iorque, v.7, n.4, p.71-83, 2007b.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W. Effects of Forchlorfenuron and abscisic acid on the quality of 'Flame Seedless' grapes. **Hortscience**, Alexandria, v.43, p.173–176, 2008.

PEPPI, M. C.; WALKER, M. A.; FIDELIBUS, M. W. Application of abscisic acid rapidly upregulated *UFGT* gene expression and improved color of grape berries. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.47, p.11-14, 2008.

POMMER, C. V.; TERRA, M. M.; PIRES, E. J. P. Cultivares de videira. In: Pommer, C.V. (Ed.) **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p.109-152.

PROTAS, J. F. S.; CAMARGO, A. **Viticultura brasileira: panorama setorial de 2010**. IBRAVIN: Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, 2011. 110p.

PROTAS, J. F. A dinâmica evolutiva da vitivinicultura brasileira Cenários 2004–2014. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v.25, n.1, p.47-56, 2016.

REYNOLDS, A.; ROBBINS, N.; LEE, H. S.; KOTSAKI, E. Impacts and Interactions of Abscisic Acid and Gibberellic Acid on Sovereign Coronation and Skookum Seedless Table Grapes. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.67, n.3, p.327–338, 2016.

RIAZ, S.; DANGL, G. S.; EDWARDS, K. J.; MEREDITH, C. P. A microsatellite marker based framework linkage map of *Vitis vinifera* L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 108, n. 5, p. 864–872, 2004.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004. 184 p.

RINALDO, A. R.; CAVALLINI, E.; JIA, Y.; MOSS, S. M. A.; MCDAVID, D. A. J.; HOOPER, L. C.; ROBINSON, S. P.; TORNIELLI, G. B.; ZENONI, S.; FORD, C. M.; BOSS, P. K.; WALKER, A. R. A Grapevine anthocyanin acyltransferase, transcriptionally regulated by VvMYBA can produce most acylated anthocyanins present in grape skins. **Plant physiology**, Rockville, v.169, n.3, p.1897–916, 2015.

RITSCHHEL, P. S.; MAIA, J. D. G.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T. de; FAJARDO, T.V.M.; NAVES, R. de L.; GIRARDI, C. L. **BRS Isis**: nova cultivar de uva de mesa vermelha, sem sementes e tolerante ao míldio. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. Comunicado técnico, 143. 2013. 20p.

ROBERTO, S. R.; ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; MIOTTO, L. C. V.; SATO, A. J.; KOYAMA, R.; GENTA, W. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.142, p.44–48, 2012.

ROBERTO, S. R.; ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; MIOTTO, L. C. V.; KOYAMA, R.; SATO, A. J.; BORGES, R. D. S. E. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of 'Rubi' table grape. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.797-800, 2013.

ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A. **Grapevine molecular physiology and biotechnology**. 2ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2009.

SANDHU, A. K.; GRAY, D. J.; LU, J.; GU, L. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins. **Food Chemistry**, Oxford, v.126, p.982–988, 2011.

SIEWERS, V.; KOKKELINK, L.; SMEDSGAARD, J.; TUDZYNSKI, P. Identification of an abscisic acid gene cluster in the grey mold *Botrytis cinerea*. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v.72, p.4619-4626, 2006.

SOUZA, J.S.I. **Uvas para o Brasil**. 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1996. 791 p.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. São Paulo: Nova Odessa, 2005. 640p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

VILLALOBOS-GONZÁLEZ, L.; PEÑA-NEIRA, A.; IBÁÑEZ, F.; PASTENES, C. Long-term effects of abscisic acid (ABA) on the grape berry phenylpropanoid pathway: Gene expression and metabolite content. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.105, p.213–223, 2016.

WHEELER, S.; LOVEYS, B.; FORD, C.; DAVIES, C. The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.15, p.195–204, 2009.

YAMAMOTO, L. Y.; DE ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R.; BOVOLENTA, Y. R.; NIXDORF, S. L.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Application of abscisic acid (S-ABA) to cv. Isabel grapes (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*) for color improvement: Effects on color, phenolic composition and antioxidant capacity of their grape juice. **Food Research International**, Amsterdam, v.77, p.572–583, 2015a.

YAMAMOTO, L. Y.; KOYAMA, R.; DE ASSIS, A. M.; BORGES, W. F. S.; DE OLIVEIRA, I. R.; ROBERTO, S. R. Color of berry and juice of 'Isabel' grape treated with abscisic acid in different ripening stages. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.50, n.12, p.1160–1167, 2015b.

ZHANG, D.-P. **Abscisic acid: metabolism, transport and signaling**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014. 465p.



### 3 ARTIGO A - CARACTERIZAÇÃO FENOLÓGICA E PRODUTIVA DA UVA APIRENA DE MESA SELEÇÃO EMBRAPA 21

#### 3.1 RESUMO E ABSTRACT

##### RESUMO

O desenvolvimento e a avaliação de novas cultivares e/ou seleções de uvas apirenas ou sem sementes com boa produtividade e adaptadas às diferentes condições edafoclimáticas são imprescindíveis para elevar a competitividade do sistema produtivo nacional. O presente trabalho teve por objetivo caracterizar o comportamento fenológico e produtivo da uva de mesa apirena Seleção Embrapa 21, cultivada sob o sistema de dupla safra anual em região subtropical, visando seu potencial lançamento como nova cultivar. As avaliações foram realizadas em área comercial com 4 anos de idade, sendo as videiras enxertadas sobre o porta-enxerto 'IAC 766 Campinas', conduzidas em latada e sombrite 18% em espaçamento 2,5 x 2,5 m, localizada em Marialva, PR, Brasil. Nas safras regular de 2013 e fora de época de 2014, avaliou-se a duração em dias das principais fases fenológicas das videiras, bem como a sua demanda térmica e as suas características físico-químicas e produtivas. Foi possível constatar que a videira Seleção Embrapa 21 apresenta características fenológicas e produtivas dentro dos padrões exigidos pelos mercados interno e externo, com ciclo médio de 130 dias e produtividade de 23,85 t ha<sup>-1</sup>, sendo possível o seu cultivo sob dupla poda anual. No entanto, a carência de cor de suas bagas demanda o desenvolvimento de técnicas específicas para que essa seleção possa ser lançada como uma nova cultivar de uva apirena.

**Palavras-chave:** Uvas sem sementes, Safra fora de época. Safra regular. Poda. Videira.

## ABSTRACT

**PHENOLOGICAL AND PRODUCTIVE CHARACTERIZATION OF SELEÇÃO EMBRAPA 21 SEEDLESS GRAPE**

The introduction and evaluation of new cultivars of seedless grapes with good yield and adapted to different edaphoclimatic conditions is essential to increase the Brazilian crop competitiveness. The objective of this work was to characterize the phenological and yield behavior of Selection Embrapa 21 seedless grape grown in subtropical region under two-crop system to evaluate its potential to be released as a new cultivar. The evaluations were carried out in a 4-year old commercial vineyard located at Marialva, Parana, Brazil, and the vines were grafted on 'IAC 766 Campinas' rootstock, trained in an overhead trellis system with mash cover (18%) in a spacing of 2.5 x 2.5 m, during the regular crop of 2013 and off-season crop of 2014. The phenology of trees was evaluated as the duration in days of the most important phases, as well its thermal demand, physico-chemical characteristics of berries and yield. It was verified that Seleção Embrapa 21 vine presents phenological and productive characteristics appropriate to the standards required by the internal and external markets, cycle of 130 days and yield of 23.85 t ha<sup>-1</sup>, being feasible its cultivation under two-crop system. However, the poor color of berries requires the development of specific techniques for this grape to be release as a new seedless grape cultivar.

**Key words:** Seedless grape, Out of season crop. Regular season crop. Pruning. Vine.

### 3.2 INTRODUÇÃO

Até o fim da década de 1990, a produção brasileira de uvas de mesa, manteve-se limitada às uvas com sementes. Entretanto, visando atender ao mercado de exportação, foram introduzidas no país diversas uvas apirenas, como a 'Superior Seedless', 'Catalunha', 'Thompson Seedless' e 'Crimson' Seedless', porém, todas advindas de regiões de clima temperado, e por esta razão, apresentam

dificuldades para a obtenção de altas produtividades. Nesse sentido, a Embrapa Uva e Vinho iniciou em 1997 o Programa de Melhoramento Genético de Uvas, visando o desenvolvimento de cultivares de mesa apirenas adaptadas às condições tropicais do Brasil e que oferecesse a qualidade requerida pelo mercado internacional (NACHTIGAL, 2003; COLOMBO et al., 2011).

Em 2003, foram lançadas as primeiras uvas apirenas, entre elas a 'BRS Morena', 'BRS Clara' e 'BRS Linda', que apresentam alta fertilidade de gemas para as condições tropicais brasileiras. Mais recentemente, em 2012 e 2013, foram lançadas as uvas apirenas 'BRS Vitória' e 'BRS Isis', respectivamente, as quais são tolerantes ao míldio, uma das principais doenças da videira em regiões de verão úmido (COLOMBO et al., 2011; RITSCHHEL et al., 2013; MAIA et al., 2014).

Outras seleções de uvas apirenas desenvolvidas pelo mesmo Programa encontram-se em fase final de avaliação, como a Seleção Embrapa 21, que poderá eventualmente ser lançada como uma nova cultivar. Trata-se de um híbrido interespecífico, e assim como as uvas apirenas 'BRS Vitória' e 'BRS Isis', é resultante do cruzamento entre CNPUV 681-29 [Arkansas 1976 x CNPUV 147-3 ('Niágara Branca' x 'Vênus')] x 'BRS Linda'. Os cachos dessa seleção possuem formato cilindro-cônico, medianamente compactos, cor rosada e podem apresentar cor desuniforme, enquanto as suas bagas possuem tamanho mediano e formato elíptico. Entretanto, por se tratar de uma nova seleção de uva apirena, o seu comportamento fenológico e produtivo em região de clima subtropical sob sistema de cultivo intensivo é ainda desconhecido.

Em algumas regiões subtropicais brasileiras é possível obter duas safras de uva de mesa por ano, proporcionando exportar uvas frescas nos períodos de entressafra (RICCE; CARAMORI; ROBERTO, 2013). Nesse sistema de produção, as diferentes épocas de poda exercem influência sobre o comportamento fenológico das videiras (ROBERTO; MASHIMA; COLOMBO, 2015), e desta forma, o conhecimento da duração dos principais estádios fenológicos e das necessidades térmicas da videira, além de possibilitar compreender a relação entre a duração das fases de desenvolvimento da planta e as variações sazonais, permite a racionalização e otimização das práticas culturais, estimar os períodos de demanda de mão-de-obra e as prováveis datas de colheita e comercialização (SANTOS et al., 2013).

Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o comportamento fenológico e produtivo da uva de mesa apirena Seleção Embrapa 21, cultivada sob o sistema de dupla safra anual em região subtropical, visando seu potencial lançamento como nova cultivar.

### 3.3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma área comercial da uva de mesa apirena Seleção Embrapa 21 com 4 anos de idade, enxertada sobre o porta-enxerto 'IAC 766 Campinas', conduzida em latada e sombrite 18% em espaçamento 2,5 x 2,5 m, cultivada sob o sistema de dupla safra anual, no município de Marialva, PR, Brasil (23°29'52,8" S e 51°47'58,0" O, com 570 m de altitude). Segundo a classificação de Köppen, o clima do local é Cfa com precipitação anual de 1.600 mm, temperatura média anual de 20,7°C e umidade relativa média de 73% (CAVIGLIONE et al., 2000). O solo desta região é classificado como latossolo vermelho distroférico (BHERING; SANTOS, 2008). As condições climáticas referentes ao período estudado encontram-se no Anexo A.

O comportamento fenológico e produtivo da uva Seleção Embrapa 21 foi avaliado por meio da identificação de videiras representativas (n=10) da área experimental. A duração em dias dos principais estádios fenológicos e a exigência térmica foram determinados na safra regular de 2013, a partir da data da poda de produção, 22 de julho, e na safra fora de época de 2014, no dia 6 de janeiro. A poda de produção foi realizada deixando-se de duas a cinco gemas por vara na safra regular e de oito a 10 na safra temporã, seguida da aplicação de cianamida hidrogenada a 3% para a superação de dormência e uniformização da brotação.

Os demais tratamentos culturais foram os usuais adotados na região para as uvas finas de mesa, principalmente quanto ao controle fitossanitário (KISHINO; CARVALHO; ROBERTO, 2007), uma vez que essa seleção de uva se assemelha às uvas finas de mesa quanto à suscetibilidade ao míldio causado por *Plasmopora viticola*, a mais importante doença das videiras em condições de clima subtropical úmido.

Para a caracterização da duração dos estádios fenológicos nas safras regular e fora de época, marcou-se dois ramos por videira, os quais foram avaliados

por meio de observações visuais a partir da poda (PO), considerando-se os seguintes estágios, de acordo com Baillod e Baggiolini (1993) e Baggiolini et al. (2008): Gema-algodão (GA) – quando 50% das gemas atingiram o segundo estágio de desenvolvimento da videira (as escamas se rompem e aparece a plumagem); Brotação (BR) – quando 50% das gemas atingiram o quarto estágio (saída das folhas); aparecimento da inflorescência (AI) – quando 50% dos ramos apresentaram inflorescência (cachos visíveis); Florescimento (FL) – quando 50% das flores se encontraram abertas (florescimento propriamente dito com flores visíveis); Início da maturação das bagas (IM) – quando 50% dos cachos apresentaram início da mudança de cor, e 20% das bagas em 50% dos cachos apresentaram amolecimento; Colheita (CO) – quando 100% das bagas apresentaram macias e teor de sólidos solúveis estável (Figura 1.3.1). A partir destes dados, foram criados diagramas representando em escala a duração em dias de cada estágio fenológico, bem como do ciclo da videira.



**Figura 3.3.1** - Fases do desenvolvimento fenológico da uva apirena Seleção Embrapa 21. (A): Gema-algodão; (B): Início da brotação; (C): Aparecimento da inflorescência; (D): Florescimento; (E): Início da maturação; (F): Colheita. Marialva, PR.

Para a caracterização da exigência térmica da uva apirena Seleção Embrapa 21, utilizou-se o somatório de graus-dia (GD), calculado para cada estágio fenológico, empregando-se os dados climáticos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), segundo as seguintes equações, propostas por Villa Nova (1972):

- a)  $GD = (T_m - T_b) + (T_M - T_m)/2$ , para  $T_m > T_b$ ;
- b)  $GD = (T_M - T_b)^2 / 2(T_M - T_m)$ , para  $T_m < T_b$ ; e
- c)  $GD = 0$ , para  $T_b > T_M$

Em que:

GD = graus-dia;

$T_M$  = temperatura máxima diária ( $^{\circ}\text{C}$ );

$T_m$  = temperatura mínima diária ( $^{\circ}\text{C}$ );

$T_b$  = temperatura base ( $10^{\circ}\text{C}$ ).

Para a caracterização físico-química e produtiva da uva apirena Seleção Embrapa 21 nas safras regular e fora de época, foram coletados 4 cachos por videira, retirando-se 3 bagas por cachos para a determinação das seguintes variáveis: atributos CIELab de cor  $L^*$  (luminosidade),  $C^*$  (saturação),  $h^{\circ}$  (tonalidade) e índice de cor (IC), massa, comprimento, diâmetro e firmeza das bagas, massa (kg) e comprimento dos cachos, produção por planta, produtividade, teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e índice de maturação (SS/AT) do mosto das bagas. Os cachos foram colhidos manualmente, com o auxílio de tesoura de colheita, sendo posteriormente submetidos à limpeza, retirando-se as bagas danificadas.

A avaliação dos atributos de cor foi realizada empregando-se o colorímetro Minolta CR-10<sup>®</sup>, sendo obtidas as variáveis de sua porção equatorial:  $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^{\circ}$  (n=10 bagas/parcela). Os valores de  $L^*$  variam de 0 (preto) a 100 (branco). O  $C^*$  indica a pureza ou intensidade da cor, a distância a partir de cinza (acromática) em direção a uma cor pura, e é calculada a partir dos valores de  $a^*$  e  $b^*$  da escala CIELab, variando de 0 para uma cor completamente neutra, e não tem um fim arbitrário, mas a intensidade aumenta com a magnitude. O ângulo de  $h^{\circ}$  refere-se à

roda de cores e é medido em ângulos; verde, amarelo e vermelho, e corresponde a 180°, 90° e 0°, respectivamente (CARREÑO et al., 1995; LANCASTER et al., 1997; ORAK, 2007). O índice de cor (IC) das uvas foi obtido as variáveis de sua porção equatorial:  $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^\circ$ , e posteriormente o IC das bagas foi determinado empregando-se a fórmula:  $IC = (180-h^\circ)/(L^*+C^*)$  (CARREÑO et al., 1995)

O diâmetro de bagas foi determinado com paquímetro digital, o comprimento dos cachos com régua graduada e a massa dos cachos e das bagas com balança analítica (n=10/parcela).

A firmeza das bagas (N) foi avaliada, empregando-se um texturômetro universal TA XT2i Texture Analyser (Stable MicroSystems, Surrey, UK), a  $25\pm 1^\circ\text{C}$  (n=10 bagas/parcela). Cada baga foi colocada sobre a base do texturômetro e comprimida com uma sonda cilíndrica com ponta de seção plana de 35 mm de diâmetro e paralela à base. A compressão foi no sentido da porção equatorial das bagas até 8 mm, com força de 0,05 N, à velocidade de  $1\text{ mm s}^{-1}$ , suficiente para provocar o rompimento da película (BORGES et al., 2012).

As estimativas da produção por planta e produtividade foram obtidas em função do número médio de cachos por planta, da massa média dos cachos e do número de plantas por hectare (ROBERTO et al., 2012).

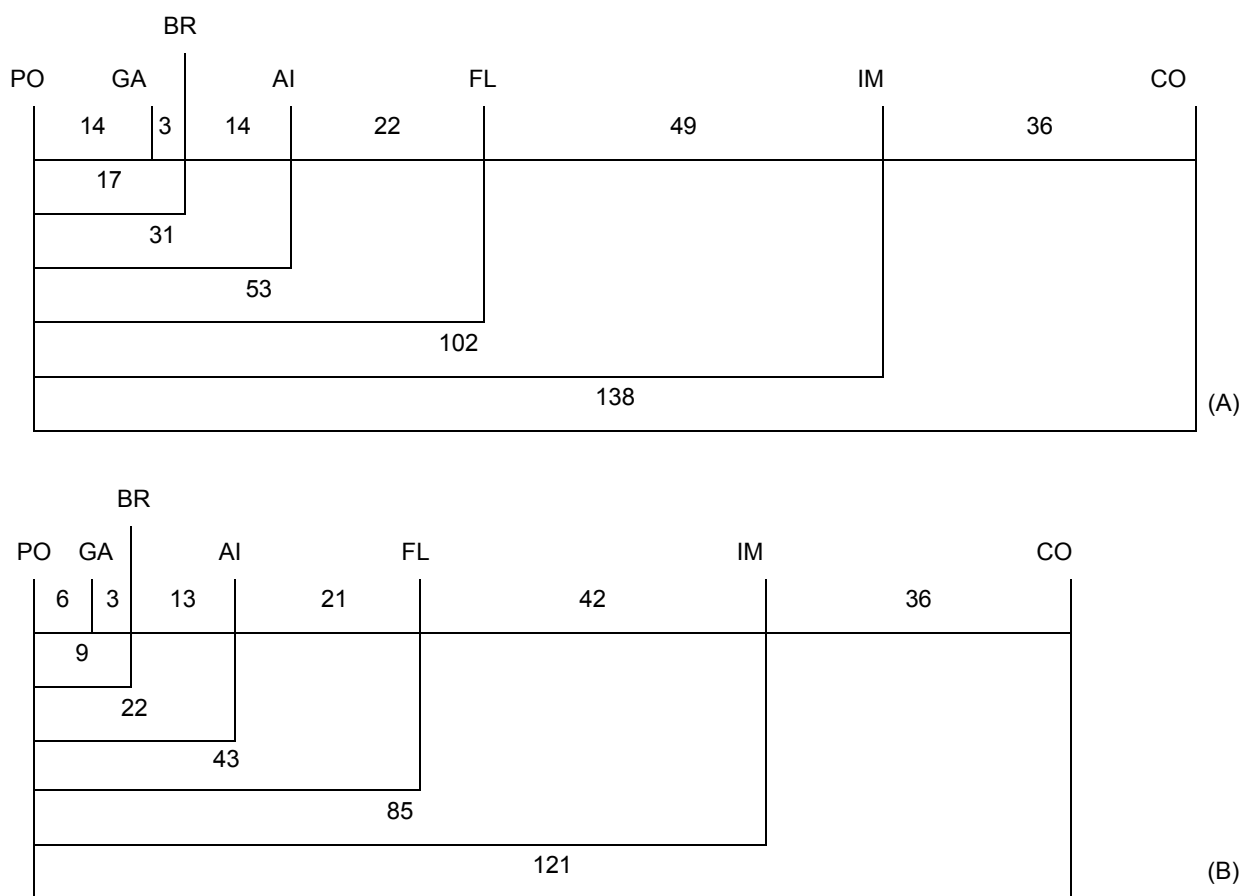
O teor de sólidos solúveis - SS (°Brix) do mosto das bagas foi determinado em refratômetro digital de bancada com compensação automática de temperatura (Modelo DR301-95, Krüss Optronic, Alemanha) (n=10 bagas/parcela). A determinação da acidez titulável (AT) foi realizada por titulação do mosto com solução padronizada de NaOH 0,1N, em titulador potenciométrico digital (Modelo Tritoline Easy, Schott Geräte, Alemanha), e o resultado foi expresso em porcentagem de ácido tartárico (ROBERTO et al., 2012). O índice de maturação das bagas foi então obtido pela razão SS/AT.

As características físico-químicas e produtivas da uva apirena Seleção Embrapa 21 foram discutidas segundo as médias e desvios-padrão de cada variável obtida individualmente nas safras regular e fora de época, bem como segundo as médias e desvios-padrão gerais das duas safras avaliadas.

### 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A duração do ciclo da uva apirena Seleção Embrapa 21 compreendido entre a poda e à colheita (PO-CO) foi de 138 dias na safra regular de 2013, enquanto a duração dos subperíodos poda à gema-algodão (PO-GA), poda à brotação (PO-BR), poda ao aparecimento da inflorescência (PO-AI), poda ao florescimento (PO-FL) e poda ao início da maturação (PO-IM) das bagas foi de 14, 17, 31, 53 e 102 dias, respectivamente. Na safra fora de época de 2014, a duração do ciclo foi mais curta, 121 dias, enquanto a duração dos subperíodos PO-GA, PO-BR, PO-AI, PO-FL e PO-IM foi de 6, 9, 22, 43 e 85 dias, respectivamente (Figura 1.4.1).

Considerando as duas safras avaliadas, a duração média do ciclo da uva apirena Seleção Embrapa 21 é de 130 dias, próximo ao da uva apirena 'BRS Vitória' e da uva 'Itália' e suas mutantes coloridas, que é de 132 e 135 dias, respectivamente (MAIA et al., 2014; ROBERTO et al., 2015; KISHINO; MARUR, 2007). A safra exerceu influência na duração do ciclo fenológico, sendo que na safra fora de época houve antecipação de 17 dias em relação à data de colheita.



**Figura 3.4.1** - Duração em dias dos estádios fenológicos da videira Seleção Embrapa 21 em Marialva, PR. Safras regular de 2013 (A) e fora de época de 2014 (B). Poda (PO); Gema-algodão (GA); Brotação (BR); Aparecimento da Inflorescência (AI); Florescimento (FL); Início da Maturação (IM); e Colheita (CO).

Na viticultura, o conhecimento da fenologia pode ser usado para seleção de cultivares, planejamento de vinhedos, planejamento do uso de mão-de-obra e equipamentos e cronograma de práticas culturais como parte da gestão de videiras. No sistema de produção intensivo de uvas de mesa, com dupla poda anual em regiões subtropicais, o ciclo das videiras é geralmente reduzido na safra fora de época devido às condições climáticas, principalmente pela temperatura do ar, uma vez que na indução da brotação após a poda verde de verão, a videira não se encontra em repouso vegetativo como no fim do inverno (KISHINO; MARUR, 2007). Além disso, nesse período as temperaturas médias são mais elevadas que no fim do inverno, o que proporciona maior taxa de crescimento vegetativo.

O fotoperíodo e temperatura podem alterar os níveis hormonais, por meio da indução ou inibição da expressão de genes que codificam enzimas envolvidas na biossíntese dos reguladores do crescimento vegetal (KERBAUY, 2012). Dias longos podem levar à síntese endógena das giberelinas, que são conhecidas por antagonizar os efeitos do ácido abscísico (ABA) e promover a superação da dormência das gemas. Na safra temporã as plantas apresentam folhas em atividade (não entra em dormência) durante o ciclo (ROBERTO et al., 2002; KISHINO; CARVALHO; ROBERTO, 2007). Dessa forma, pode-se inferir que a redução do ciclo nesse período está relacionada à época de poda das videiras.

Verifica-se um período de baixos índices pluviométricos na safra regular da poda ao início da maturação, com precipitação acumulada de apenas 13,6 mm e estiagem de 35 dias, enquanto na safra fora de época o acumulado foi de 229,4 mm, com um período máximo de 10 dias sem chuva (Anexo A). A demanda máxima de água ocorre no período fenológico da floração a frutificação (WINKLER, 1974), a estiagem por longos períodos pode atrasar a formação dos cachos.

A duração do ciclo produtivo das videiras varia também em função da combinação variedade-copa/porta-enxerto, do vigor da planta em uma determinada condição edafoclimática e da produtividade (KISHINO; CARVALHO; ROBERTO, 2007). Um exemplo é a uva apirena 'BRS Clara' que, quando cultivada em região subtropical, apresenta ciclo de produção na safra fora de época de 120 dias (COLOMBO et al., 2011), enquanto a duração do seu ciclo é reduzida para 97 dias quando cultivada em região de clima semi-árido (SANTOS et al., 2013).

A exigência térmica para o ciclo total (PO-CO) na safra regular de 2013 foi de 1.744,06 graus-dias (GD), enquanto para os subperíodos PO-GA, GA-BR, BR-AI, AI-FL, FL-IM e IM-CO foi de 110,54; 44,35; 125,73; 273,75; 340,15 e 549,55 GD, respectivamente. Na safra fora de época de 2014, a exigência térmica para o ciclo total foi de 1.845,0 GD, enquanto para os demais subperíodos foi de 99,50; 40,35; 214,55; 380,30; 640,15; 480,25 GD (Tabela 3.4.1).

As áreas subtropicais são mais frias que os trópicos e mais quentes que as zonas temperadas, sendo o inverno geralmente levemente frio e com temperaturas imprevisíveis. Assim, condições inconstantes do inverno podem resultar em um acúmulo diferente de graus-dia ao longo de vários anos no mesmo

local, o que pode acelerar ou atrasar o início do desenvolvimento da planta (HUSSAIN et al., 2016).

**Tabela 3.4.1** - Exigência térmica em graus-dia (GD) e desvio-padrão para cada subperíodo fenológico da uva apirena Seleção Embrapa 21 cultivada sob sistema de dupla safra anual. Marialva, PR. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014.

Subperíodos fenológicos	Graus-dia*	
	Safra regular de 2013	Safra fora de época de 2014
PO-GA	110,54 ± 0,81	99,50 ± 0,07
GA-BR	44,35 ± 0,05	40,35 ± 0,10
BR-AI	125,73 ± 0,52	214,55 ± 0,11
AI-FL	273,75 ± 0,43	380,30 ± 0,12
FL-IM	640,15 ± 0,28	630,05 ± 0,12
IM-CO	549,55 ± 0,14	480,25 ± 0,17
<b>PO-CO</b>	<b>1.744,06 ± 0,37</b>	<b>1.845,00 ± 0,17</b>

PO-GA: poda – gema algodão; GA-BR: gema algodão – brotação; BR-AI: brotação – aparecimento da inflorescência; AI-FL: aparecimento da inflorescência – florescimento; FL-IM: florescimento – início da maturação; IM-CO: início da maturação – colheita; PO-CO: poda – colheita. \*Temperatura-base = 10 °C.

Pode-se observar que os subperíodos que demandam maior requerimento térmico são do FL-IM e IM-CO, nas duas safras. As exigências térmicas da uva Seleção Embrapa 21 foram próximos aos descritos para uva apirena ‘Crimson Seedless’ cultivada em região de clima semi-árido, em que a demanda térmica é de 1.725,90 e 1.787,80 GD no primeiro e segundo ciclos, respectivamente (LEÃO, 2001). Considerando a média das duas safras avaliadas, a exigência térmica da uva apirena Seleção Embrapa 21 em região subtropical é de 1.794,53 GD. As exigências térmicas do FL-IM nas duas safras foram semelhantes, o que elucida a maior duração desse subperíodo na safra regular, necessitando de um tempo maior para atingir a quantidade de energia necessária para completar essa fase do ciclo.

Em relação aos atributos de cor das bagas ( $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^\circ$ ), foram observadas médias de 35,27; 12,49 e 101,64, respectivamente, enquanto a média do índice de cor obtida (IC=1,65) significa que as bagas apresentam cor variando entre o verde/amarelo e o rosa (CARREÑO et al., 1995) (Tabela 3.4.2). Verifica-se

que no fim da maturação a sua cor é pouco intensa e desuniforme (Figura 1.3.1), o que é uma característica genética própria dessa cultivar, pois tanto na safra regular quanto na fora de época, o IC foi baixo ( $<1,80$ ). A cor é uma das características visuais mais importante em uvas finas de mesa, e esse atributo é comumente associado com a qualidade do cacho e está diretamente relacionado com aceitação do consumidor, sendo um dos principais fatores determinantes no valor comercial das uvas finas de mesa.

**Tabela 3.4.2** - Características físicas da uva apirena Seleção Embrapa 21 cultivada sob sistema de dupla safra anual. Marialva, PR. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014.

Características físicas	Safra regular de 2013	Safra fora de época de 2014	Média
<i>L</i> *	34,15 ± 1,07	36,38 ± 0,52	35,27 ± 0,80
<i>C</i> *	13,87 ± 1,31	11,11 ± 0,22	12,49 ± 1,53
<i>h</i> *	106,46 ± 7,56	96,81 ± 5,24	101,64 ± 6,40
IC	1,49 ± 0,49	1,80 ± 0,12	1,65 ± 0,31
Massa da baga (g)	4,26 ± 0,27	3,67 ± 0,21	3,97 ± 0,24
Diâmetro da baga (mm)	17,53 ± 0,06	16,32 ± 0,12	16,93 ± 0,09
Comprimento da baga (mm)	22,21 ± 0,40	19,72 ± 0,31	20,97 ± 1,48
Firmeza das bagas (N)	33,85 ± 4,96	25,27 ± 2,46	29,56 ± 6,03
Massa do cacho (g)	573,80 ± 30,13	360,88 ± 13,88	467,34 ± 22,00
Comprimento do cacho (cm)	20,41 ± 0,61	18,38 ± 0,21	19,39 ± 1,20
Número de cachos por planta	30,79 ± 7,9	33,67 ± 5,01	32,23 ± 7,72
Produção (kg/planta)	17,66 ± 4,56	12,15 ± 1,81	14,91 ± 3,56
Produtividade (t.ha <sup>-1</sup> )	28,26 ± 4,23	19,44 ± 2,36	23,85 ± 3,27

Obs. *L*\*: luminosidade; *C*\*: saturação; *h*\*: tonalidade; IC: Índice de cor.

Desta forma, o desenvolvimento de técnicas específicas visando suprir a carência de cor da uva Seleção Embrapa 21, como o uso de reguladores de crescimento vegetal para aumentar a intensidade e uniformizar a cor das bagas, como o isômero (*S*)-*cis*-ácido abscísico (*S*-ABA), a exemplo do que foi desenvolvido para outras uvas de mesa e para processamento (ROBERTO et al., 2012; 2013; KOYAMA et al., 2014; YAMAMOTO et al., 2015), uma vez que a cor intensa e uniforme das bagas é muito valorizada na comercialização. Além disso, a

associação de outras técnicas, como a desfolha para melhor entrada de luz no parreiral e o ajuste da densidade de cachos devem ser também investigados (KISHINO; CARVALHO; ROBERTO, 2007).

Para algumas cultivares, como a uva apirena 'BRS Isis', as condições climáticas, sobretudo as temperaturas médias do ar, exercem grande influência na cor das suas bagas. Quando cultivadas sob temperaturas elevadas em região de clima semi-árido, principalmente no segundo semestre do ano, os cachos da 'BRS Isis' não expressam bem a cor vermelha, mas permitem níveis elevados de produtividade (RITSCHER et al., 2013). A cor das uvas tintas se deve às antocianinas presentes nas bagas. O acúmulo de antocianinas nas uvas se inicia no *veraison* e sua biossíntese é controlada pelos fatores de transição MYB, que modulam a expressão dos genes estruturais e são responsivos às concentrações de ABA nos tecidos (JEONG et al., 2004).

A média das temperaturas máximas do ar registradas na região uma semana após o início do *veraison* foram de 31 e 28°C nas safras de regular e fora de época, respectivamente (Anexo A). Sabe-se que em regiões com temperaturas mais elevadas durante o estágio de maturação, as bagas tendem a apresentar cor menos intensa devido ao menor acúmulo de antocianinas nas cascas, e dessa forma, as bagas não alcançam cor suficientemente intensa e uniforme, prejudicando seu aspecto visual (MORI et al., 2005). Altas temperaturas do ar (>30°C) diminuem a síntese de antocianinas nas bagas das uvas (MORI et al., 2005, 2007).

Quanto à massa, diâmetro e comprimento das bagas, as médias observadas foram de 3,97 g, 16,93 mm e 20,97 mm, respectivamente (Tabela 3.4.2). O diâmetro mínimo exigido para o mercado brasileiro é de 12 mm, sendo recomendadas médias entre 14 e 17 mm para uma boa comercialização de uvas de mesa (BRASIL, 2002; SANTOS et al., 2015). As bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21 se encaixam na subclasse 16 (diâmetro entre 16 e 18 mm), estando dentro do padrão exigido para o mercado interno (BRASIL, 2002).

O diâmetro ou calibre das bagas também é empregada no mercado de exportação de uvas de mesa (SANTOS et al., 2013), sendo que as bagas das uvas apirenas 'BRS Vitória' e 'BRS Isis', oriundas do mesmo programa de melhoramento, apresentaram diâmetro médio de 16,05 e 20,05 mm, respectivamente (NUNES et al., 2015; SOUZA et al., 2015). Essas uvas vêm sendo cultivadas com

sucesso em clima semi-árido, especialmente destinadas à exportação (MOREIRA, 2016). Quanto à firmeza das bagas, observou-se média de 29,56 N (Tabela 3.4.2), semelhante ao observado para a uva apirena 'BRS Vitoria' (25,5 N) (YOUSSEF et al., 2015).

Observou-se que os cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 possuem formato cilindro-cônico, medianamente a pouco compactos (Figura 1.3.1), sendo uma característica desejável, visto que a compacidade é considerada um fator importante na avaliação da qualidade da uva. Entretanto, é conveniente a realização do raleio individual de bagas na fase azeitona ("pinicagem") para a obtenção de cachos mais soltos, uma vez que, do ponto de vista fitossanitário, cachos muito compactos possibilitam maior suscetibilidade ao ataque de patógenos, especialmente *Botrytis cinerea* (YOUSSEF et al., 2015).

A mesma característica não foi observada nas progênes dos mesmos parentais 'BRS Vitória' e 'BRS Isis', que possuem cachos compactos, necessitando manejo específico para a sua descompactação (RITSCHER et al., 2013; ROBERTO et al., 2015). Entretanto, as uvas 'BRS Vitoria' e 'BRS Isis' são consideradas tolerantes ao míldio (*Plasmopora viticola*) (RITSCHER et al., 2013; MAIA et al., 2014), principal doença fúngica da videira em condições de clima subtropical úmido, característica não observada na Seleção Embrapa 21, sendo necessárias aplicações sistemáticas de fungicidas para o seu controle eficiente, de modo semelhante ao realizado em uvas finas de mesa, sobretudo na safra fora de época, em que a favorabilidade de desenvolvimento da doença é alta (TESSMANN et al., 2007).

Os cachos das Seleção Embrapa 21 apresentaram massa e comprimento médios de 467,34 g e 19,39 cm, respectivamente (Tabela 3.4.2), enquadrando-se dentro da Classe 2 no sistema de classificação de uvas de mesa (200-500 g) (BRASIL, 2002). Trata-se de uma uva cujos cachos são mais pesados e maiores quando comparado aos das uvas apirenas 'BRS Vitória' e 'BRS Isis' (290,00 e 329,45 g, e 17,50 e 18,40 cm, respectivamente) (MAIA et al., 2012; SOUZA et al., 2015), o que a torna competitiva nos mercados interno e de exportação.

No presente estudo, foi observada massa menor dos cachos na safra fora de época comparada a safra regular (Tabela 3.4.2), o mesmo foi registrado na uva 'BRS Vitória' (ROBERTO et al., 2015). Na safra fora de época a

videira é forçada a vegetar e produzir sob condições ambientais atípicas do que na safra regular (KISHINO; MARUR, 2007). As brotações emitidas na safra temporã provocaram mudanças no índice de área foliar e afetaram a dinâmica de síntese/consumo de reservas nos ramos das plantas influenciando na massa dos cachos (ANZANELLO; DE SOUZA, 2015).

Em relação ao número de cachos por planta, produção por planta e produtividade, foram observadas médias de 32,23; 14,91 kg e 23,85 t ha<sup>-1</sup> (Tabela 3.4.2). Considerando que em região subtropical são obtidas duas safras por ano, a produtividade anual da uva apirena Seleção Embrapa 21 é elevada (47,7 t ha<sup>-1</sup>), uma vez que os níveis de produção de algumas uvas apirenas como ‘Superior Seedless’, ‘Thompson Seedless’ e ‘Crimson Seedless’ cultivadas em região semi-árida são, comparativamente, inferiores (GRANGEIRO; LEÃO; SOARES, 2002; LEÃO, 2001; 2005). Além disso, é importante ressaltar que essas características produtivas da uva apirena Seleção Embrapa 21 são compatíveis às observadas para as uvas finas de mesa sob o mesmo sistema de cultivo intensivo em região subtropical (KISHINO; CARVALHO; ROBERTO, 2007; COLOMBO et al., 2011).

Constatou-se que as médias do teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e índice de maturação (SS/AT) do mosto das uvas foram de 15,23°Brix, 0,57% de ácido tartárico e 26,72 (Tabela 3.4.3), atendendo aos padrões recomendados pelas normas nacionais e internacionais de comercialização de uvas finas de mesa (SS≥14,0°Brix e SS/AT≥20,0) (BRASIL, 2002; GORGATTI et al., 1993).

**Tabela 3.4.3** - Características químicas da uva apirena Seleção Embrapa 21 cultivada sob sistema de dupla safra anual. Marialva, PR. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014.

Características químicas	Safra regular de 2013	Safra fora de época de 2014	Média
Sólidos solúveis - SS (°Brix)	15,08 ± 0,38	15,38 ± 0,28	15,23 ± 0,41
Acidez titulável - AT (% de ácido tartárico)	0,53 ± 0,13	0,60 ± 0,02	0,57 ± 0,13
Índice de maturação - SS/AT	28,45 ± 0,26	25,63 ± 0,15	26,72 ± 0,27

Assim, a Seleção Embrapa 21 é uma potencial candidata a ser lançada como uma nova cultivar de uva apirena, uma vez que seus cachos

apresentam características físico-químicas dentro dos padrões que atendem aos mercados interno e externo, além de apresentar algumas características semelhantes às cultivares oriundas do mesmo cruzamento no programa de melhoramento genético, como a 'BRS Isis' e 'BRS Vitória', as quais apresentam boa aceitação no mercado uva, apresentando-se como uma alternativa de diversificação do vinhedo. Entretanto, a carência de cor de suas bagas demandará em desenvolvimento e aplicação de técnicas específicas para superar essa dificuldade, uma vez que a cor intensa e uniforme das bagas é muito valorizada na comercialização da uva de mesa. Por fim, as informações referentes ao seu comportamento fenológico e produtivo poderão ser úteis para otimizar a distribuição de mão-de-obra necessária para as práticas de seu manejo, como épocas de poda de colheita, tratamentos culturais e aplicação de produtos fitossanitários.

### 3.5 CONCLUSÃO

A videira Seleção Embrapa 21 apresenta características fenológicas e produtivas dentro dos padrões exigidos pelos mercados interno e externo, destacando-se o ciclo médio de 130 dias e produtividade de 23,85 t ha<sup>-1</sup>, sendo possível o seu cultivo sob dupla poda anual. No entanto, a carência de cor de suas bagas demanda o desenvolvimento de técnicas específicas para que essa seleção possa ser lançada como uma nova cultivar de uva apirena.

### 3.6 REFERÊNCIAS

ANZANELLO, R.; DE SOUZA, P. V. D. Conteúdo de reservas, vigor vegetativo e rendimento de videiras submetidas a duas safras por ciclo vegetativo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.2, p.719–730, 2015.

BAGGIOLINI, M.; LORENZ, H.; BLEIHOLDER, H.; T, V. D. B.; STAUSS, R.; WEBER, E.; WITZENBERGER, A.; HACK, H.; BUHR, L.; MEIER, U.; BAILLOD, M.; BLOESCH, B.; VIRET, O. Stades phénologiques repères de la vigne. **Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture**, Nyon, v.44, n.12, p.7–9, 2008.

BAILLOD, M.; BAGGIOLINI, M. Les stades repères de la vigne. **Revue Suisse Viticulture Arboriculture et Horticulture**, Nyon, v.25, n.1, p.7-9, 1993.

BHERING, S. B.; SANTOS, H. G. **Mapa de solos do estado do Paraná**: legenda atualizada. Rio de Janeiro: IAPAR, 2008. 74p.

BORGES, R. S.; ROBERTO, S. R.; YAMASHITA, F.; OLIVATO, J. B.; DE ASSIS, A. M. Sensibilidade ao rachamento de bagas das videiras 'Concord', 'Isabel' e 'BRS Rúbea'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.34, n.3, p.814–822, 2012.

BRASIL. **Instrução Normativa 1/2002**. Disponível em:

<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=661183307>>. Acesso em: 12 out. 2016.

CARREÑO, J.; MARTÍNEZ, A.; ALMELA, L.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Proposal of an index for the objective evaluation of the colour of red table grapes. **Food Research International**, Monticello, v.28, n.4, p.373–377, 1995.

CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina : IAPAR, 2000.

COLOMBO, L. A.; ROBERTO, S. R.; TESSMANN, D. J.; GENTA, W.; SATO, A. J.; ASSIS, A. M. D. E. Características físico-químicas e produtivas da videira 'BRS Clara' sob cultivo protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.3, p.798–808, 2011.

GORGATTI, A. N.; GAYET, J. P.; BLEINROTH, E. W.; MATALLO, M.; GARCIA, E.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G.; GORDIM, M. **Uva para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília:EMBRAPA-SPI/FRUPEX, 1993. 40p. (Publicações Técnicas, 2).

GRANGEIRO, L. C.; LEÃO, P. C. de S.; SOARES, J. M. Caracterização fenológica e produtiva da variedade de uva 'Superior Seedless' cultivada no Vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.552–554, 2002.

HUSSAIN, I.; ROBERTO, S. R.; FONSECA, I. C. B.; ASSIS, A. M. de.; KOYAMA, R.; ANTUNES, L. E. C. Phenology of 'Tupy' and 'Xavante' blackberries grown in a subtropical area. **Scientia Horticulturae**, v.201, p.78–83, 2016.

JEONG, S. T.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KOBAYASHI, S.; ESAKA, M. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of and the expression of anthocyanin biosynthetic genes berry skins. **Plant Science**, Londres, v. 167, p. 247-252, 2004.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 431p.

KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. **Viticultura tropical: o sistema de produção do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2007. 366p.

KISHINO, A. Y.; MARUR, C. J. **Características da planta: fisiologia da Planta**. In: KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO, S. R. (Ed.). **Viticultura Tropical: o sistema de produção no Paraná**. Londrina: IAPAR, 2007. p.95-116.

KOYAMA, R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; BORGES, W. F.; SÁ BORGES, R. de; PRUDÊNCIO, S. H.; ROBERTO, S. R. Exogenous abscisic acid increases the

anthocyanin concentration of berry and juice from 'Isabel' grapes (*Vitis labrusca* L.). **HortScience**, Alexandria, v.49, n.4, p.460–464, 2014.

LANCASTER, J. E.; LISTER, C. E.; REAY, P. F. Y.; TRIGGS, C. M. Influence of pigment composition on skin color in a widerange of fruits and vegetables. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Amsterdam, v.122, p.594-598, 1997.

LEÃO, P. C. de S. Comportamento das variedades de uva sem sementes 'Crimson Seedless' e 'Fantasy Seedless' no Submédio São Francisco. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 56**, p.21, 2001.

LEÃO, P. C. D. S.; SILVA, D. J.; SILVA, E. É. G. DA. Efeito do ácido giberélico, do bioestimulante crop set e do anelamento na produção e na qualidade da uva 'Thompson Seedless' no Vale do São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.3, p.418–421, 2005.

MAIA, JOÃO, D. G.; RITSCHER, P.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T. De. 'BRS Vitória' Nova cultivar de uva de mesa sem sementes com sabor especial e tolerante ao míldio. **Comunicado Técnico 126, Bento Gonçalves:Embrapa Uva e Vinho**, p.1–12, 2012.

MAIA, J. D. G.; RITSCHER, P.; CAMARGO, U. A.; DE SOUZA, R. T.; MARTINS FAJARDO, T. V.; DE LÉLLIS NAVES, R.; GIRARDI, C. L. 'BRS Vitoria' – a novel seedless table grape cultivar exhibiting special flavor and tolerance to downy mildew (*Pasmopara viticola*). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.14, n.3, p.204–206, 2014.

MOREIRA, L. Saiba se você deve plantar a variedade BRS Vitória. 2016. Disponível em: <<https://www.vittis.com.br/2016/06/01/saiba-se-voce-deve-plantar-a-variedade-brs-vitoria/>>. Acesso em 28/01/2017.

MORI, K.; SAITO, H.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KITAYAMA, M.; KOBAYASHI, S.; SUGAYA, S.; GEMMA, H.; HASHIZUME, K. Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in 'Pinot Noir' grapes. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.44, n.4, p.161–165, 2005.

MORI, K.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KITAYAMA, M.; HASHIZUME, K. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.58, n.8, p.1935–1945, 2007.

NACHTIGAL, J. C. Uvas sem sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.1, p.192, 2003.

NUNES, B. T. G.; NASCIMENTO, J. H. B.; LIMA, M. A. C.; LEÃO, P. C. S. Produção, Características Agronômicas e Qualidade da Uva 'BRS Vitória' durante o primeiro e segundo ciclos de produção no Submédio do Vale do São Francisco. **X Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido**, Petrolina, p.461–491, 2015.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia**

**Horticulturae**, Amsterdam, v.111, n.3, p.235–241, 2007.

RICCE, W. da S.; CARAMORI, P. H.; ROBERTO, S. R. Potencial climático para a produção de uvas em sistema de dupla poda anual no Estado do Paraná.

**Bragantia**, Campinas, v.72, n.4, p. 408–415, 2013.

RITSCHER, P.; DIMAS, J.; MAIA, G.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T. De. BRS Isis Nova Cultivar de Uva de Mesa Vermelha, s em Sementes e Tolerante ao Míldio. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho. **Comunicado Técnico**, **143**, p.1–20, 2013.

ROBERTO, S. R.; KANAI, H. T.; YANO, M. Y.; SASANO, E. M.; GENTA, W. Avaliação da brotação e da fertilidade de gemas da videira 'Niagara Rosada' submetida a diferentes intensidades de poda de frutificação. **Semina: Ciências Agrárias**, v.23, n.2, p.185-190, 2002.

ROBERTO, S. R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; MIOTTO, L. C. V.; SATO, A. J.; KOYAMA, R.; GENTA, W. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.142, p.44–48, 2012.

ROBERTO, S. R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; MIOTTO, L. C. V.; KOYAMA, R.; SATO, A. J.; BORGES, R. D. S. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of 'Rubi' table grape. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.797–800, 2013.

ROBERTO, S. R.; MASHIMA, C. H.; COLOMBO, R. C. Phenological characterization and quality of fine 'Black Star' table grape. **Agronomy Science and Biotechnology**, Londrina, v.1, n.2, p.77–82, 2015.

ROBERTO, S. R.; BORGES, W. F. S.; COLOMBO, R. C.; KOYAMA, R.; HUSSAIN, I.; DE SOUZA, R. T. Berry-cluster thinning to prevent bunch compactness of 'BRS Vitória', a new black seedless grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.197, p.297–303, 2015.

SANTOS, A. E. O.; SILVA, E. O.; OSTER, A. H.; MISTURA, C.; DOS SANTOS, M. O. Resposta fenológica e exigência térmica de uvas apirenas cultivadas no Submédio do São Francisco. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.8, n.3, p.364–369, 2013.

SANTOS, S. D. L.; RIBEIRO, V. G.; DE LIMA, M. A. C.; SOUZA, E. R.; SHISHIDO, W. K. Influência do ácido giberélico na fisiologia e qualidade da videira cv. Sweet Celebration® No Submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.37, n.4, p.827–834, 2015.

SOUZA, E. M. C. de S.; REGO, J. de S.; LIMA, M. A. C. de; LEÃO, P. C. de S. Produção e Qualidade da Uva 'BRS Isis' no Vale do São Francisco. **X Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido**, Petrolina, p.291–296, 2015.

TESSMANN, D.J.; VIDA, J. B.; GENTA, W.; KISHINO, A. Y. **Doenças e seu manejo: doenças fúngicas**. In: KISHINO, A. Y.; CARVALHO, S. L. C.; ROBERTO,

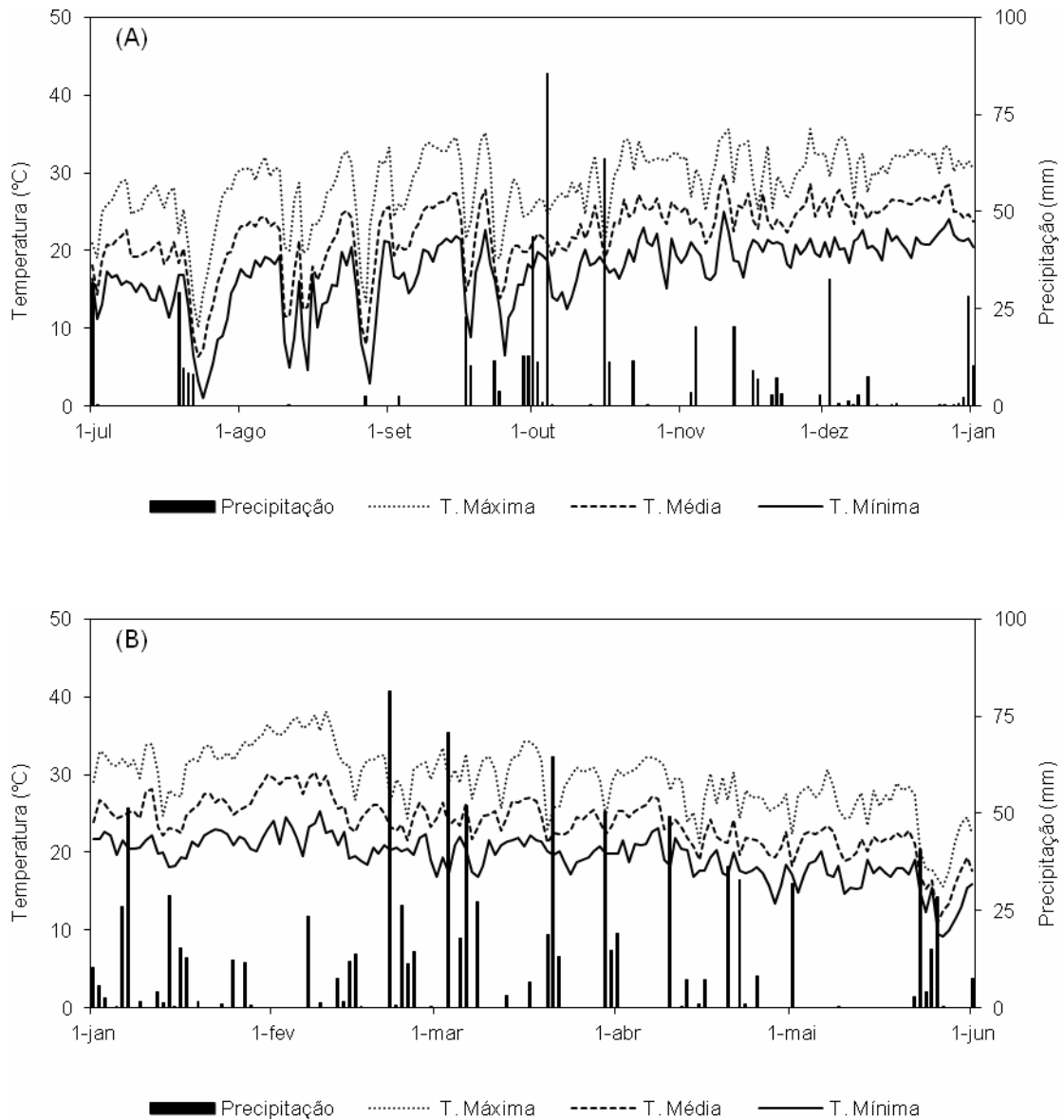
S. R. (Ed.). *Viticultura Tropical: o sistema de produção no Paraná*. Londrina: IAPAR, 2007. p.255-287.

VILLA NOVA, N. A. Estimativa de graus-dia acumulados acima de qualquer temperatura base em função das temperaturas máxima e mínima. **Ciência da Terra**, São Paulo, n.30, p.1-8, 1972.

YAMAMOTO, L. Y.; KOYAMA, R.; DE ASSIS, A. M.; BORGES, W. F. S.; DE OLIVEIRA, I. R.; ROBERTO, S. R. Color of berry and juice of 'Isabel' grape treated with abscisic acid in different ripening stages. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.50, n.12, p.1160–1167, 2015

YOUSSEF, K.; ROBERTO, S. R.; CHIAROTTI, F.; KOYAMA, R.; HUSSAIN, I.; DE SOUZA, R. T. Control of Botrytis mold of the new seedless grape 'BRS Vitoria' during cold storage. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.193, n.1, p.316–321, 2015.

WINKLER, A.J., COOK, J.A., KLIWER, W.M., LIDER, L.A. **General Viticulture**. Berkeley: University of California Press, 1974. 710p.



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia – INMET.

**Anexo A** - Precipitação, temperaturas máximas, médias e mínimas de Marialva, PR, durante a safras regular de 2013 (A) e fora de época de 2014 (B).



## 4 ARTIGO B - ÉPOCAS DE APLICAÇÃO E CONCENTRAÇÕES DO ÁCIDO ABCÍSIKO NAS CARACTERÍSTICAS DE COR E ACEITAÇÃO DOS CACHOS DA UVA APIRENA SELEÇÃO EMBRAPA 21

### 4.1 RESUMO E ABSTRACT

#### Resumo

A cor é uma das características visuais mais importantes da qualidade da uva de mesa. A aplicação de S-ABA nos cachos que possuem baixa pigmentação pode intensificar e uniformizar a cor das uvas aumentando o seu valor comercial. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações e épocas de aplicação de (S)-*cis*-ácido abscísico (S-ABA) dirigida aos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21, visando melhorar os seus atributos de cor, bem como avaliar o efeito sobre a emissão de ramos e a aceitação das bagas pelos consumidores em relação aparência das bagas. O experimento foi realizado em área comercial localizada em Marialva, PR, Brasil, durante duas safras (safra regular de 2013 e safra fora de época de 2014), sendo as videiras conduzidas em latada no espaçamento de 2,5 x 2,5 m sob sombrite. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e cinco tratamentos: Controle; S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> aos 7 dias após *veraison* (DAV); S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 200 mg L<sup>-1</sup> 21DAV; e S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV. Foram avaliados os atributos de cor; as características físico-químicas, tais como massa e diâmetro das bagas; massa e comprimento dos cachos; avaliação de aceitação dos cachos pelos consumidores, bem como, o número de brotos e cachos emitidos nas safras posteriores às aplicações. Aplicações exógenas de S-ABA resultam em melhores atributos de cor dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21, principalmente 400 mg L<sup>-1</sup> em duas aplicações, aos 7DAV e aos 21DAV, com maior aceitação pelos consumidores quanto à cor, aparência e intenção de compra, sem efeito sobre a emissão de ramos e de cachos nas safras seguintes à sua aplicação.

**Palavras-chave:** S-ABA. Regulador vegetal. Características físico-químicas. Brotação.

## **TIMING AND CONCENTRATION OF ABSCISIC ACID APPLICATION AFFECT COLOR AND ACCEPTANCE OF SELEÇÃO EMBRAPA 21 SEEDLESS GRAPE**

One of the most important visual characteristics of table grape quality is color. Application of (*S*)-*cis*-abscisic acid (*S*-ABA) to clusters with poor pigmentation can increase the color and the market value of table grapes. The aim of this study was to assess the effect of different concentrations of *S*-ABA applied at different times to clusters of Seleção Embrapa 21 seedless grape for improving their color characteristics, as well to evaluate the consumer's acceptance. The experiment was carried out in a commercial area located in Marialva, PR, Brazil, during two seasons (regular season of 2013 and out of season of 2014). The vines were trained in an overhead trellis system spaced at 2.5 x 2.5 m under mesh screen. The experimental design was randomized blocks with four replications and five treatments: Control; *S*-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> at 7 days after veraison (DAV); *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; *S*-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 200 mg L<sup>-1</sup> 21DAV and *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV. The color attributes; physical-chemical characteristics, as berry weight and diameter; cluster weight and length; the evaluation of the acceptance of the clusters by the consumers, besides the number of shoots and bunches emitted in the harvests after the applications were evaluated. Exogenous application of *S*-ABA result in better color attributes of Seleção Embrapa 21 seedless grape, mainly 400 mg L<sup>-1</sup> in two applications, at 7DAV and 21DAV, with higher acceptance by consumers considering the color, appearance and purchase intention, with no effect on sprouting and number of clusters in the subsequent seasons.

**Key words:** S-ABA. Plant growth regulator. Physicochemical characteristics. Sprouting.

## 4.2 INTRODUÇÃO

O comércio mundial de frutas tem apresentado mudanças importantes relacionadas aos hábitos, padrões e renda dos consumidores. De forma crescente, o consumo vem se direcionando para a aquisição de alimentos frescos e que apresentam maiores garantias em termos de qualidades nutricional, sanitária e organoléptica (LAZZAROTTO; FIORAVANÇO, 2012). Nesse contexto, visando atender o mercado consumidor cada vez mais exigente, principalmente o internacional de uvas de mesa, a produção de frutas sem sementes ou apirenas, consideradas de melhor qualidade, vem aumentando a cada ano (COLOMBO et al., 2011).

O conjunto de cultivares de uvas apirenas disponível para cultivo no Brasil é limitado, destacando-se, em área plantada, as uvas ‘Thompson Seedless’, ‘Crimson Seedless’ e ‘Superior Seedless’. Entretanto, algumas dificuldades ainda comprometem a sustentabilidade do segmento como a instabilidade da produção em ciclos sucessivos e a sensibilidade ao rachamento de bagas, causado pela ocorrência de chuvas no período de maturação dessas cultivares (RITSCHHEL et al., 2013).

Desta forma, partir de 1997, a Embrapa Uva e Vinho, passou a buscar soluções através do Programa de Melhoramento Genético de Uvas, com trabalhos focados no desenvolvimento de uvas apirenas adaptadas às condições tropicais do Brasil (NACHTIGAL, 2005). Desde então as uvas ‘BRS Morena’, ‘BRS Clara’ e ‘BRS Linda’ foram lançadas em 2003, e as uvas ‘BRS Vitória’ e ‘BRS Isis’ em 2012 e 2013, respectivamente (COLOMBO et al., 2011; MAIA et al., 2014; RITSCHHEL et al., 2013).

Outras seleções de uvas apirenas desenvolvidas pelo Programa encontram-se em fase final avaliação, como a Seleção Embrapa 21. Trata-se de uma espécie híbrida interespecífica, e assim como as videiras ‘BRS Vitória’ e ‘BRS Isis’, é resultante do cruzamento entre CNPUV 681-29 [Arkansas 1976 X CNPUV 147-3 (Niágara Branca X Vênus)] x ‘BRS Linda’, e seus cachos, levemente rosados, apresentam deficiência de cor quando cultivada em regiões de clima quente, o que pode reduzir o valor comercial das uvas (LEÃO et al., 2014).

As altas temperaturas no início da maturação das uvas podem diminuir os níveis do ácido abscísico (ABA), e durante o processo de maturação, podem reduzir o acúmulo de antocianinas e aumentar a sua degradação (KOSHITA et al., 2015). O ABA desempenha um importante papel regulador na maturação das uvas, incluindo amolecimento das bagas, acúmulo de açúcar, redução de ácidos orgânicos e aumento no nível de potássio e compostos fenólicos. Dentre os compostos fenólicos, as antocianinas são responsáveis pela maioria das cores vermelha, rosa, roxa e azul dos frutos (ZHANG; BUTELLI; MARTIN, 2014; YANG; FENG, 2015; RATTANAKON et al., 2016).

Aplicações de (*S*)-*cis*-ácido abscísico (*S*-ABA), um enantiômero natural do ABA, têm demonstrado eficácia no aumento dos níveis de ABA endógenos (FERRARA et al., 2013), na aceleração do processo de maturação (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOSTO, 2007), no aumento da uniformidade e intensidade da cor dos cachos (ROBERTO et al., 2012; 2013) e no acúmulo de antocianinas na casca (BALINT; REYNOLDS, 2013), sem alterar as características físicas da baga de uvas de mesa (LI; DAMI, 2016). Entretanto, esses resultados podem variar de acordo com a cultivar (SANDHU et al., 2011), doses (KRETZSCHMAR et al., 2016), época de aplicação (GU; JACOBS; DU, 2011) e as condições ambientais (LEÃO et al., 2014).

Tendo em vista esses aspectos, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações e épocas de aplicação de *S*-ABA dirigida aos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21, visando melhorar os seus atributos de cor, bem como avaliar a preferência dos consumidores em relação à sua aparência.

#### 4.3 MATERIAL E MÉTODOS

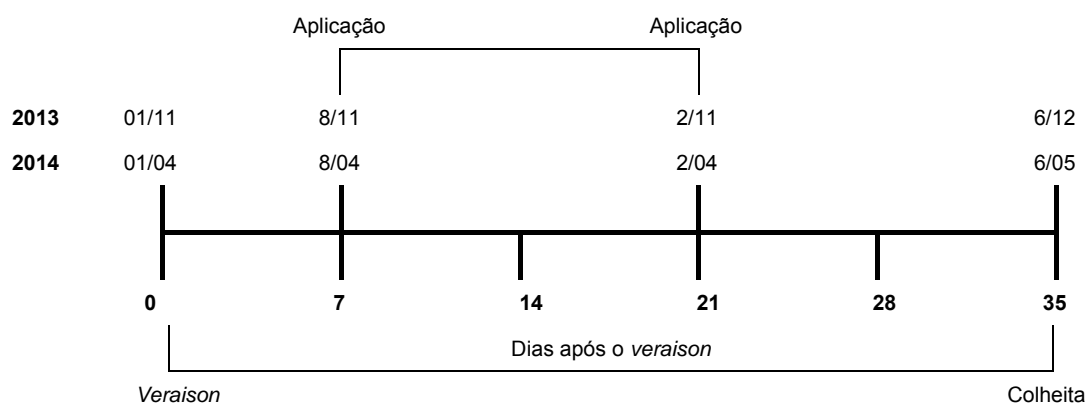
O trabalho foi conduzido em um vinhedo comercial de 4 anos de idade da uva apirena Seleção Embrapa 21 (*Vitis* spp.), enxertada sobre o porta-enxerto 'IAC 766 Campinas', localizado em Marialva, PR (latitude 23°29'52,8"S, longitude 51°47'58"0 O e altitude 570 m), durante duas safras consecutivas (safra regular de 2013 e safra fora de época de 2014). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa (Clima subtropical), com temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, sendo a precipitação anual de 1.596 mm (CAVIGLIONE et al., 2000).

O solo é classificado como latossolo vermelho distroférico (BHERING; SANTOS, 2008).

As videiras foram conduzidas em latada, no espaçamento 2,5 x 2,5 m sob sombrite 18%. A poda longa de frutificação foi realizada em 22/07/2013 na safra regular deixando-se 4 a 6 gemas por vara, e em 06/01/2014 na safra fora de época de 2014, deixando-se 8 a 10 gemas por vara. Em seguida, foi aplicado sobre as gemas apicais cianamida hidrogenada 3% para induzir e uniformizar a sua brotação.

Foi avaliado o efeito do isômero (S)-*cis*-ácido abscísico (S-ABA), aplicado em diferentes concentrações e épocas sobre os cachos das videiras. O S-ABA foi fornecido pela empresa Valent BioSciences Corporation®, cuja concentração do princípio ativo é 100 g L<sup>-1</sup>. Foram testados os seguintes tratamentos: (A) Controle; (B) S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> aos 7 dias após *veraison* (DAV); (C) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; (D) S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 200 mg L<sup>-1</sup> 21DAV; e (E) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV.

O *veraison* teve início aos 102 dias após a poda na safra regular de 2013 e aos 85 dias após a poda na safra fora de época de 2014 (Figura 4.3.1). O início do *veraison* foi determinado a partir da análise do teor de sólidos solúveis (SS), da avaliação visual da cor e consistência das bagas em toda a área experimental, a partir da coleta de amostras simples ao acaso (n=5) contendo 30 bagas cada. Nesse estágio, o teor de SS das uvas foi em média de 9°Brix, 50% dos bagas dos cachos apresentaram início da mudança de cor e 20% das bagas em 50% dos cachos apresentaram amolecimento (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOSTO, 2007). Na primeira aplicação do regulador vegetal (7DAV), as uvas apresentaram em média 11°Brix e na segunda (21DAV), 13°Brix.



**Figura 4.3.1** - Cronograma das aplicações de S-ABA na uva apirena Seleção Embrapa 21 na safra regular de 2013 e na safra fora de época de 2014. Marialva, PR.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela composta por uma videira. Foram marcados previamente à aplicação dos tratamentos 10 cachos representativos em cada parcela para as avaliações físico-químicas das bagas.

Para a aplicação dos tratamentos, os cachos foram pulverizados no período da manhã, utilizando-se pulverizador costal com bicos de pontas de jato cone oco-JA1, proporcionando cobertura completa e uniforme, sendo empregado volume de calda de  $800 \text{ L ha}^{-1}$ . Foi adicionado à calda de todos os tratamentos o espalhante não-iônico Break Thru<sup>®</sup> ( $0,3 \text{ mL L}^{-1}$ ).

Foram realizados no ensaio os tratos culturais habituais na região em relação à nutrição, controle de plantas daninhas, e manejo de pragas e de doenças. Quando ocorreu a estabilização do teor de sólidos solúveis das bagas ( $\sim 15^\circ \text{Brix}$ ), foi realizada a colheita manualmente com auxílio de uma tesoura de poda e, em seguida, os cachos foram submetidos à limpeza, eliminando-se as bagas danificadas. Na safra regular foi realizada a colheita no dia 06/12/2013 e na safra fora de época no dia 06/05/2014. De cada parcela, foram coletadas 30 bagas para as avaliações físico-químicas, sendo retirada uma baga da porção superior, mediana e inferior de cada cacho marcado. As amostras foram analisadas no Laboratório de Análise de Frutas, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, PR.

Nas duas safras foram avaliadas as variáveis: atributos de cor, massa e diâmetro das bagas, massa e comprimento dos cachos, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), relação SS/AT, aceitação dos cachos pelos consumidores, além da avaliação do número de brotos e cachos emitidos pelas videiras de cada parcela nas safras posteriores às aplicações.

Para a avaliação dos atributos de cor, foram utilizadas 10 bagas por parcela, ou seja, por videira, empregando-se o colorímetro Minolta CR-10<sup>®</sup>, sendo obtidas as variáveis de sua porção equatorial:  $L^*$  (luminosidade),  $C^*$  (saturação) e  $h^\circ$  (tonalidade). Os valores de  $L^*$  variam de 0 (preto) a 100 (branco). O  $C^*$  indica a pureza ou intensidade da cor, a distância a partir de cinza (acromática) em direção a uma cor pura, e é calculada a partir dos valores de  $a^*$  e  $b^*$  do sistema de escala CIELab, variando de 0 para uma cor completamente neutra, e não tem um fim arbitrário, mas a intensidade aumenta com a magnitude. O  $h^\circ$  refere-se à roda de cores e é medido em ângulos; verde, amarelo e vermelho, e corresponde a 180°, 90° e 0°, respectivamente (LANCASTER et al., 1997; ORAK, 2007).

A diferença de cor residual ( $\Delta E$ ) das bagas, utilizada para calcular a disparidade de cor entre os tratamentos e o controle, foi calculada utilizando-se a equação:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta h^\circ)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta L^*)^2}$$

em que:  $\Delta h^\circ$  = desvio de tonalidade de cor residual;  $\Delta C^*$  = desvio de saturação; e  $\Delta L^*$  = desvio de luminosidade de cor (LUCAS et al., 2008).

A intensidade da cor dos cachos foi avaliada atribuindo-se visualmente notas de 1 à 3 de acordo com a escala: (1): baixa, (2): média e (3): alta, enquanto o tipo de cor vermelha das bagas foi avaliado atribuindo-se visualmente notas de 1 à 3, sendo: (1): fraco, (2): rosa e (3): vermelho (ROBERTO et al., 2012).

As características físicas das uvas foram avaliadas por meio de determinações da massa (g), diâmetro (mm) e comprimento (mm) de 30 bagas, e massa (g) e comprimento dos cachos (cm) de 10 cachos por parcela com a utilização de balança e paquímetro digital. Quanto às análises ao SS, AT e relação

SS/AT foram utilizadas 30 bagas coletadas por parcela. O teor de SS foi determinado por meio da trituração das bagas em refratômetro digital de bancada com compensação automática de temperatura (Modelo DR301-95, Krüss Optronic, Alemanha), e o resultado expresso em °Brix. A determinação da AT foi realizada por titulação do mosto com solução padronizada de NaOH 0,1N em titulador semiautomático, adotando-se como ponto final da titulação o pH=8,2, e o resultado expresso em porcentagem de ácido tartárico (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Para a análise sensorial-visual de aceitação das uvas pelos consumidores quanto à sua aparência na safra de 2014, foi adotado o delineamento experimental em blocos completos casualizados, sendo realizada por 100 indivíduos não treinados. As avaliações foram realizadas em cabines individuais com iluminação de luz do dia especial, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UEL. As amostras contendo 12 bagas foram dispostas em pratos de plástico com fundo branco, e cada julgador recebeu, ao mesmo tempo e em ordem aleatorizada, as cinco amostras codificadas de cada tratamento com números aleatórios de três dígitos. Foram avaliados os atributos cor e aparência da baga usando-se uma escala hedônica de nove pontos, com extremidades denominadas: desgostei muitíssimo (1) e gostei muitíssimo (9), e para a intenção de compra, utilizou-se a escala hedônica com sete pontos, com extremidades denominadas: (1) certamente compraria e (7) certamente não compraria (MEILGAARD et al., 1999). Para a avaliação do perfil de cada julgador da análise sensorial, foi aplicado um questionário em que foram avaliadas a faixa etária, ocupação e a escolaridade dos entrevistados e a frequência do consumo do fruto.

As instruções gerais, questionários e escalas hedônicas dos atributos que foram empregados na análise encontram-se nos Anexos A, B e C.

Para determinar se as aplicações do regulador vegetal S-ABA exerceram algum efeito sobre o desenvolvimento das videiras na safra posterior à sua aplicação, foi realizada a contagem do número de ramos emitidos por vara após a poda, bem como o número de cachos por ramo, sendo avaliadas 10 varas por parcela, considerando que após a poda, somente as duas gemas apicais das varas foram tratadas com cianamida hidrogenada para estímulo da brotação. As

avaliações foram realizadas 20 dias após o florescimento nas safras seguintes às aplicações (CAMILI; RODRIGUES; ONO, 2010).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação aos atributos de cor das bagas (Tabela 4.4.1), verifica-se nas duas safras que os tratamentos em que o S-ABA foi aplicado duas vezes (7DAV e 21DAV) nas duas concentrações (200 e 400 mg L<sup>-1</sup>), e uma única vez na concentração 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV, resultaram nas menores médias de L\*, em relação à testemunha, o que indica que as bagas das uvas apresentaram cor mais escura. As menores médias de C\* foram observadas nos tratamentos com aplicação de S-ABA em relação ao controle, exceto quando se aplicou 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV na safra de 2013, que resultou em bagas com cor menos saturada tendendo ao cinza, uma vez que o C\* se aproxima mais ao zero.

**Tabela 4.4.1** - Luminosidade (L\*) e saturação (C\*) das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg.L <sup>-1</sup> )	L*		C*	
	2013	2014	2013	2014
Testemunha	34,2 ± 1,1 a	36,4 ± 0,5 a	13,9 ± 1,3 a	11,1 ± 0,2 a
S-ABA 200 (7DAV)	32,0 ± 0,6 ab	29,5 ± 1,6 b	11,5 ± 0,5 ab	7,8 ± 0,9 b
S-ABA 400 (7DAV)	29,4 ± 1,0 bc	26,3 ± 0,7 c	9,8 ± 1,6 bc	5,5 ± 0,5 cd
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	29,7 ± 0,8 b	26,6 ± 0,4 c	8,3 ± 0,4 bc	6,4 ± 0,9 bc
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	26,9 ± 1,0 c	25,4 ± 0,4 c	6,5 ± 1,4 c	3,6 ± 0,5 d
F	20,2*	59,8*	14,3*	36,0*
CV (%)	4,0	3,6	15,1	13,5

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ).

Obs.: DAV = dias após o *veraison*.

Verifica-se que a aplicação do S-ABA resultou em menores médias de  $h^\circ$  comparativamente ao controle, exceto quando 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV foi aplicado na safra de 2013 (Tabela 4.4.2), o que estimulou o desenvolvimento da cor vermelha das bagas, visto que, quanto menor o  $h^\circ$ , mais avermelhada é a cor da baga (LIMA; MELO; GUERRA, 2007). A diferença de cor residual entre as bagas ( $\Delta E$ ) tratadas com S-ABA e o controle puderam ser comprovadas (Tabela 4.4.2), visto que quanto mais o  $\Delta E$  se aproxima ao zero, mais idênticas são as superfícies tintas (LUCAS et al., 2008). Desta forma, observa-se neste caso que quando aplicado 400 mg L<sup>-1</sup> ocorre aumento da  $\Delta E$ , independente da época de aplicação.

**Tabela 4.4.2** - Tonalidade ( $h^\circ$ ) e diferença de cor residual ( $\Delta E$ ) das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg.L <sup>-1</sup> )	$h^\circ$		$\Delta E$	
	2013	2014	2013	2014
Testemunha	106,5 ± 7,6 a	96,8 ± 5,2 a	0,0	0,0
S-ABA 200 (7DAV)	91,3 ± 6,3 ab	46,0 ± 5,4 b	41,2 ± 6,3 c	49,4 ± 1,3 b
S-ABA 400 (7DAV)	78,5 ± 8,3 bc	39,0 ± 4,9 b	63,7 ± 8,3 ab	58,4 ± 6,0 a
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	69,0 ± 7,6 c	39,4 ± 4,8 b	54,2 ± 7,5 b	51,4 ± 2,2 ab
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	47,7 ± 4,9 d	49,3 ± 7,2 b	85,3 ± 5,0 a	59,0 ± 6,9 a
F	21,7*	21,5*	14,8*	17,2*
CV (%)	12,2	19,4	15,8	4,3

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ).

Obs.: DAV = dias após o *veraison*.

Em uvas finas de mesa 'Crimson Seedless', aplicações de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>, uma e quatro semanas após o *veraison* reduziram as médias de  $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^\circ$  das bagas, entretanto, as aplicações tardias podem ter o efeito limitado, uma vez que o estágio fisiológico da baga pode não se encontrar mais ativo para responder regulador de crescimento (FERRARA et al., 2015). Observações semelhantes foram realizadas em uvas finas de mesa 'Flame Seedless', em que aplicações de S-ABA 300 e 600 mg L<sup>-1</sup> no *veraison* resultou na melhoria dos atributos de cor das bagas (PEPPI; FIDELIBUS, 2008).

Em relação a intensidade e o tipo da cor vermelha das bagas, observou-se diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 4.4.1), sendo que as maiores médias foram verificadas quando se aplicou uma ou duas vezes o S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>, resultando em cachos com cor mais vermelha e mais intensa (Tabela 4.4.3), sendo possível constatar visualmente a superioridade desses tratamentos quanto à cor dos cachos. O aumento da intensidade da cor como resultado da aplicação do S-ABA também foi observado nas uvas finas de mesa 'Benitaka' e 'Rubi' (ROBERTO et al., 2012; 2013).



**Figura 4.4.1** - Características dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 no momento da colheita. Marialva, PR. (A) Controle; (B) S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> aos 7 dias após *veraison* (DAV); (C) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; (D) S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 200 mg L<sup>-1</sup> 21DAV; e (E) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV.

**Tabela 4.4.3** - Intensidade e tipo da cor das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	Intensidade da cor do cacho <sup>1</sup>		Tipo da cor do cacho <sup>2</sup>	
	2013	2014	2013	2014
Testemunha	1,0 ± 0,0 d	1,0 ± 0,0 d	1,0 ± 0,0 d	1,0 ± 0,0 d
S-ABA 200 (7DAV)	1,5 ± 0,0 cd	2,0 ± 0,5 c	1,5 ± 0,5 cd	2,0 ± 0,0 c
S-ABA 400 (7DAV)	2,3 ± 0,4 b	2,8 ± 0,4 ab	2,3 ± 0,4 b	2,8 ± 0,4 ab
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	2,0 ± 0,4 bc	2,3 ± 0,0 bc	2,0 ± 0,0 bc	2,3 ± 0,4 bc
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	3,0 ± 0,0 a	3,0 ± 0,0 a	3,0 ± 0,0 a	3,0 ± 0,0 a
F	19,7*	24,3*	19,7*	24,3*
CV (%)	17,5	14,4	17,5	14,4

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Classes da intensidade da cor da baga: 1, baixo; 2, médio; e 3, alto. <sup>2</sup>Classes do tipo de cor da baga: 1, fraco; 2, rosa; e 3, vermelho. Obs.: DAV = dias após o *veraison*.

O ABA atua em processos fisiológicos importantes durante o ciclo da videira (SETHA, 2012), sendo que os seus níveis são parte do sinal que desencadeia a maturação do fruto, atuando na regulação do amadurecimento e da senescência do fruto não climatérico (YANG; FENG, 2015). Em função da melhoria da cor, a aplicação de S-ABA na uva apirena ‘Crimson Seedless’ antecipou a colheita dos cachos em 30 dias, além disso, melhorou a qualidade das uvas, promovendo a intensificação da cor dos cachos sem alterar a massa e a firmeza das bagas (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOSTO, 2007). A antecipação da colheita pela aplicação do S-ABA é um resultado importante para os produtores de uvas de mesa, com consequências significativas tanto na redução dos custos de mão-de-obra (menor número de colheitas) como na melhoria da cor e atratividade da baga para o consumidor, proporcionando assim um rendimento mais elevado, visto que o consumidor avalia diretamente a cor das bagas, sendo dessa forma, um dos fatores determinantes do valor de mercado das uvas de mesa (FERRARA et al., 2015).

Nas duas safras avaliadas, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos quanto à massa e ao diâmetro das bagas, e à massa e ao comprimento dos cachos, tampouco em relação ao teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e SS/AT das bagas da uva Seleção Embrapa 21 (Tabelas 4.4.4; 4.4.5 e 4.4.6). Resultados semelhantes foram observados em uvas ‘Crimson Seedless’ com aplicação de 400 e 800 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA no início da

maturação (LURIE et al., 2009). Assim como na uva apirena ‘Sovereign Coronation’, as aplicações de S-ABA em diferentes concentrações, uma e duas semanas antes do *veraison*, não alteraram características químicas das bagas (REYNOLDS et al., 2016).

**Tabela 4.4.4** - Massa e diâmetro das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	Massa da boga (g)		Diâmetro da boga (mm)	
	2013	2014	2013	2014
Testemunha	4,3 ± 0,3	3,7 ± 0,2	17,5 ± 0,1	16,3 ± 0,1
S-ABA 200 (7DAV)	4,4 ± 0,1	3,8 ± 0,2	18,2 ± 0,3	16,3 ± 0,1
S-ABA 400 (7DAV)	4,4 ± 0,2	3,8 ± 0,2	17,0 ± 0,3	16,1 ± 0,4
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	4,4 ± 0,1	3,9 ± 0,1	17,2 ± 0,3	16,3 ± 0,2
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	4,8 ± 0,2	3,9 ± 0,1	17,4 ± 0,3	16,1 ± 0,9
F	2,4 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>ns</sup>	1,1 <sup>ns</sup>	0,1 <sup>ns</sup>
CV (%)	6,5	5,7	5,3	3,8

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ).

Obs.: DAV = dias após o *veraison*.

**Tabela 4.4.5** - Massa e comprimento dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetidos a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	Massa do cacho (g)		Comprimento do cacho (cm)	
	2013	2014	2013	2014
Testemunha	573,8 ± 3,1	360,9 ± 13,9	20,4 ± 0,6	18,4 ± 0,2
S-ABA 200 (7DAV)	566,7 ± 15,0	399,9 ± 17,9	21,1 ± 0,3	17,6 ± 0,6
S-ABA 400 (7DAV)	563,4 ± 26,9	352,9 ± 4,6	19,7 ± 0,7	17,1 ± 0,3
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	587,5 ± 50,9	351,4 ± 24,1	20,9 ± 0,6	17,4 ± 0,7
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	599,0 ± 16,8	329,6 ± 13,7	19,3 ± 0,9	16,9 ± 0,2
F	0,5 <sup>ns</sup>	2,1 <sup>ns</sup>	3,2 <sup>ns</sup>	1,2 <sup>ns</sup>
CV (%)	7,4	9,8	4,1	6,0

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ).

Obs.: DAV = dias após o *veraison*.

**Tabela 4.4.6** - Sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e relação SS/AT das bagas dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras regular de 2013 e fora de época de 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	SS (°Brix)		AT (% ácido tartárico)		SS/AT	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Testemunha	15,1 ± 0,4	15,4 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,0	24,6 ± 1,7	25,9 ± 1,0
S-ABA 200 (7DAV)	15,1 ± 0,4	15,4 ± 0,5	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,0	27,1 ± 3,0	26,9 ± 1,5
S-ABA 400 (7DAV)	14,9 ± 0,6	15,4 ± 0,3	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	26,8 ± 2,1	24,4 ± 1,0
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	15,1 ± 0,4	15,8 ± 0,2	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	25,2 ± 1,1	27,8 ± 0,4
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	14,9 ± 0,4	15,0 ± 0,3	0,6 ± 0,0	0,6 ± 0,0	26,0 ± 0,4	26,7 ± 1,5
F	0,2 <sup>ns</sup>	1,5 <sup>ns</sup>	0,3 <sup>ns</sup>	0,4 <sup>ns</sup>	0,6 <sup>ns</sup>	1,6 <sup>ns</sup>
CV (%)	3,7	3,1	16,4	13,6	19,4	7,9

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ).

Obs.: DAV = dias após o *veraison*.

Da mesma forma, em uvas de finas de mesa 'Benitaka' e 'Rubi', não houve influência da aplicação de S-ABA quanto à massa e diâmetro das bagas, e à massa e comprimento dos cachos (ROBERTO et al., 2012; 2013). Esses resultados também foram observados em uvas destinadas ao processamento 'Pinot Gris' e 'Isabel', sem alterações das propriedades físicas da baga e dos cachos (LI; DAMI, 2016; KOYAMA et al., 2014) e das características físico-químicas das bagas das uvas 'Monastrell' (RUIZ-GARCÍA et al., 2013) e 'Chambourcin' (ZHANG; DAMI, 2012).

Além das características genéticas, o tamanho e a massa das bagas de uvas estão relacionados aos tratamentos culturais realizados e as condições climáticas durante o período de desenvolvimento do cacho. Desta forma, os resultados podem variar de acordo com a cultivar e as condições ambientais no período da maturação dos frutos (JACKSON, 2008). Em uvas finas de mesa 'Flame Seedless' foram registradas médias superiores na massa das bagas e redução no teor de AT mediante a aplicação de S-ABA (PEPPI; FIDELIBUS, 2008). Em contrapartida, observou-se redução da massa das bagas na uva 'Cabernet Sauvignon' com a

aplicação do regulador vegetal uma semana antes do *veraison* (BALINT; REYNOLDS, 2013).

Quanto à análise sensorial-visual das uvas, verifica-se que as bagas que apresentaram melhor aceitação pelos julgadores pela avaliação da cor foram as que receberam duas aplicações de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>, apresentando cor da casca mais intensa (Tabela 4.4.7). A maior aceitação das bagas submetidas à aplicação de S-ABA pode ser comprovada pelas maiores notas atribuídas a aparência das bagas tratadas com 400 mg L<sup>-1</sup>, independente da época em que foi realizada, assim como para a intenção de compra. Quanto mais intensa a cor da uva, mais interessante a mesma se torna do ponto de vista funcional, visto que as uvas coloridas apresentam maior conteúdo de compostos fenólicos, e é um dos fatores mais importantes no processo de escolha pelos consumidores, sendo responsável diretamente pela qualidade comercial da fruta (ABE et al., 2007; LIANG et al., 2009; MATTIUZ et al., 2009).

**Tabela 4.4.7** - Notas hedônicas utilizadas na análise sensorial-visual quanto à aparência, cor e intenção de compra de compra da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a tratamentos com S-ABA. Safra fora de época de 2014. Londrina, PR.

Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	Análise sensorial-visual <sup>1</sup>		
	Cor das bagas	Aparência das bagas	Intenção de compra
Testemunha	6,1 ± 1,8 b	6,3 ± 1,7 b	4,4 ± 1,7 c
S-ABA 200 (7DAV)	6,7 ± 1,7 ab	6,7 ± 1,5 ab	4,9 ± 1,7 bc
S-ABA 400 (7DAV)	6,8 ± 1,2 ab	7,0 ± 1,1 ab	5,3 ± 1,4 ab
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	6,8 ± 1,5 ab	6,8 ± 1,6 ab	5,1 ± 1,5 ab
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	7,3 ± 1,6 a	7,2 ± 1,4 a	5,6 ± 1,5 a
F	5,4*	4,2*	6,7*
CV (%)	27,4	24,1	33,0

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Escala hedônica variando de 1: desgostei muitíssimo a 9: gostei muitíssimo para as variáveis cor e aparência das bagas e variando de 1: certamente não compraria a 7: certamente compraria, para a variável intenção de compra. Obs.: DAV = dias após o *veraison*.

Resultados semelhantes foram observados em uvas 'Sovereign Coronation' submetidas a aplicação de S-ABA, sendo possível constatar a melhora

na atratividade, intensidade da cor e preferência dos cachos pela análise sensorial-visual (REYNOLDS et al., 2016). A preferência por uvas tintas com cor mais intensa também foi observada em análise sensorial, constatando-se a superioridade da uva 'Isabel' (tinta escura), seguida da 'Benitaka' (tinta) e sucessivamente pelas notas inferiores atribuídas à 'Itália' (verde de tom amarelo) e à 'Festival' (verde) (MASCARENHAS et al., 2010). A intensidade e tonalidade da cor vermelha é frequentemente relacionada à qualidade da uva, visto que as pessoas associam certos sabores a cores específicas, e desta forma, a percepção de sabor e aroma tendem a aumentar a medida que a cor se intensifica (KELLER, 2015).

Em relação ao perfil dos avaliadores (Anexo D), o seu recrutamento foi realizado em uma instituição de nível superior, sendo que a maior proporção de participantes foi a de estudantes de nível superior, de ambos os sexos, o que explica a concentração dos julgadores na faixa etária de 15 a 34 anos. Verificou-se que a maioria dos avaliadores consome uvas de uma a quatro vezes por semana.

Por fim, não foram observadas diferenças entre as videiras tratadas com S-ABA e o controle quanto ao número de ramos emitidos por vara e número de cachos por ramo avaliados na safra seguinte às aplicações (Tabela 4.4.8), evidenciando que não houve efeito negativo do regulador de crescimento no ciclo subsequente das videiras. Da mesma forma, em experimento realizado com a uva 'Cabernet Sauvignon', o número de brotos e de cachos por videira avaliados na safra posterior à sua aplicação não foram influenciados pelas concentrações e épocas de aplicação do S-ABA (GU; JACOBS; DU, 2011).

**Tabela 4.4.8** - Número de ramos emitidos por vara e número de cachos por ramo da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a tratamentos com S-ABA na safra anterior. Safras regular e fora de época de 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	Número de ramos por vara		Número de cachos por ramo	
	Safra Regular	Safra fora de época	Safra Regular	Safra fora de época
Testemunha	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,2 ± 0,3	1,5 ± 0,1
S-ABA 200 (7DAV)	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,3 ± 0,2	1,6 ± 0,0
S-ABA 400 (7DAV)	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,0	1,9 ± 0,6	1,5 ± 0,1
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1	2,0 ± 0,2	1,5 ± 0,1

S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,2	2,0 ± 0,3	1,9 ± 0,6
F	0,4 <sup>ns</sup>	2,2 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>ns</sup>	2,0 <sup>ns</sup>
CV (%)	9,3	8,5	21,5	10,5

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup>: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ).

Obs.: DAV = dias após o *veraison*.

Determinou-se que o S-ABA exógeno aplicado diretamente nos cachos em videiras de ‘Cabernet Sauvignon’ não é transportado para outras partes da planta, assim como não é absorvido em quantidades suficientes para impactar a atividade estomática e a temperatura da folha (BALINT; REYNOLDS, 2013). Em tese, se a aplicação exógena do S-ABA resultasse na sua translocação e acúmulo nas gemas, poderia ocorrer inibição do seu desenvolvimento no próximo ciclo de crescimento, tendo em vista que a dormência das gemas é controlada pelo acúmulo de ABA no seu interior (TAIZ; ZEIGER, 2009). Por outro lado, a aplicação exógena da formulação de ABA (+)-*cis,trans* diretamente nas gemas de videiras ‘Sangiovese’ apresentaram efeitos inconsistentes, resultando em atraso eventual da sua brotação em um dia apenas (HELLMAN; SHELBY; LOWERY, 2006).

Com base no exposto, pôde-se verificar que a aplicação exógena de S-ABA exerce efeito significativo sobre a melhoria da cor das bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21, principalmente 400 mg L<sup>-1</sup> em duas aplicações, aos 7DAV e aos 21DAV, resultando em frutos com maior aceitação pelos consumidores por meio da análise sensorial-visual. Independente da concentração e da época em que a aplicação é realizada, não há alteração nas características físico-químicas das bagas e dos cachos, bem como na emissão de ramos e cachos por vara na safra seguinte à sua aplicação.

#### 4.5 CONCLUSÃO

Aplicações exógenas de S-ABA resultam em melhores atributos de cor dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21, principalmente 400 mg L<sup>-1</sup> em duas aplicações, aos 7DAV e aos 21DAV, com maior aceitação pelos consumidores quanto à cor, aparência e intenção de compra, sem efeito sobre a emissão de ramos e de cachos nas safras seguintes à sua aplicação.

#### 4.6 REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; MOTA, R. V. DA; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v.27, n.2, p.394–400, 2007.
- BALINT, G.; REYNOLDS, A. G. Impact of exogenous Abscisic acid on vine physiology and grape composition of cabernet sauvignon. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.64, n.1, p.74–87, 2013.
- BHERING, S. B.; SANTOS, H. G. **Mapa de solos do estado do Paraná**: legenda atualizada. Rio de Janeiro: IAPAR, 2008. 74 p.
- CAMILI, E. C.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Biorreguladores na brotação da videira 'Superior Seedless'. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.26, n.3, p.339–346, 2010.
- CANTÍN, C. M.; FIDELIBUS, M. W.; CRISOSTO, C. H. Application of abscisic acid (ABA) at veraison advanced red color development and maintained postharvest quality of 'Crimson Seedless' grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.46, n.3, p.237–241, 2007.
- CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000.
- COLOMBO, L. A.; ASSIS, A. M. D.; SATO, A. J.; TESSMANN, D. J.; GENTA, W.; ROBERTO, S. R. Produção fora de época da videira 'BRS Clara' sob cultivo protegido. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.2, p.798-808, 2011.
- FERRARA, G.; MAZZEO, A.; MATARRESE, A. M. S.; PACUCCI, C.; PACIFICO, A.; GAMBACORTA, G.; FACCIA, M.; TRANI, A.; GALLO, V.; CAFAGNA, I.; MASTRORILLI, P. Application of Abscisic Acid (S-ABA) to 'Crimson Seedless' Grape Berries in a Mediterranean Climate: Effects on Color, Chemical Characteristics, Metabolic Profile, and S-ABA Concentration. **Journal of Plant Growth Regulation**, Londres, v.32, n.3, p.491–505, 2013.
- FERRARA, G.; MAZZEO, A.; MATARRESE, A. M. S.; PACUCCI, C.; PUNZI, R.; FACCIA, M.; TRANI, A.; GAMBACORTA, G. Application of abscisic acid (S-ABA) and sucrose to improve colour, anthocyanin content and antioxidant activity of cv. Crimson Seedless grape berries. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.21, n.1, p.18–29, 2015.
- GU, S.; JACOBS, S.; DU, G. Efficacy, rate and timing of applications of abscisic acid to enhance fruit anthocyanin contents in 'Cabernet Sauvignon' grapes. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Berlin, v.86, n.5, p.505–510, 2011.

HELLMAN, E.; SHELBY, S.; LOWERY, C. Exogenously applied abscisic acid did not consistently delay budburst of acclimating grapevines. **Journal of the American Pomological Society**, University Park, v.60, n.4, p.178–186, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise dos alimentos. 3 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 371p.

JACKSON, R. S. **Wine science**: principles and applications. 3 ed. Amsterdam: Elsevier, 2008.751p.

KELLER, M. **The science of grapevines**: anatomy and physiology. 2 ed. Amsterdam: Elsevier. 2015. 509p.

KOSHITA, Y.; MITANI, N.; AZUMA, A.; YAKUSHIJI, H. Effect of short-term temperature treatment to clusters on anthocyanin and abscisic acid content in the peel of 'Aki Queen' grape. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.54, n.4, p. 169–173, 2015.

KOYAMA, R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; BORGES, W. F.; SÁ BORGES, R. de; PRUDÊNCIO, S. H.; ROBERTO, S. R. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from 'Isabel' grapes (*Vitis labrusca* L.). **HortScience**, Alexandria, v.49, n.4, p.460–464, 2014.

KRETZSCHMAR, A. A.; LERIN, S.; FAGHERAZZI, A. F.; MARIO, A. E.; BASTOS, F. E. A.; ALLEBRANDT, R.; RUFATO, L. Application of abscisic acid increases the colour of 'Rubi' grape berries in Southern Brazil. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.1115, p.231–236, 2016.

LANCASTER, J. E.; LISTER, C. E.; REAY, P. F. Y.; TRIGGS, C. M. Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruits and vegetables. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Amsterdam, v.122, p.594-598, 1997.

LAZZAROTTO, J. J.; FIORAVANÇO, J. C. Comércio Exterior Mundial e Brasileiro de Uva de Mesa: Análise de Indicadores de Competitividade, Tendências e Sazonalidades. **Documentos 80**. 2012. 44p.

LEÃO, P. C. de S.; LIMA, M. A. C.; COSTA, J. P. D.; DA TRINDADE, D. C. G. Abscisic acid and ethephon for improving red color and quality of 'Crimson Seedless' grapes grown in a tropical region. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.66, n.1, p.37–45, 2014.

LI, S.; DAMI, I. E. Responses of *Vitis vinifera* 'Pinot Gris' Grapevines to Exogenous Abscisic Acid (ABA): I. Yield, Fruit Quality, Dormancy, and Freezing Tolerance. **Journal of Plant Growth Regulation**, Londres, v.35, n.1, p.245–255, 2016.

LIANG, Z.; YANG, C.; YANG, J.; WU, B.; WANG, L.; CHENG, J.; LI, S. Inheritance of anthocyanins in berries of *Vitis vinifera* grapes. **Euphytica**, Wageningen, v.167, n.1, p.113–125, 2009.

- LIMA, V. L. A. G. de; MÉLO, E. de A.; GUERRA, N. B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.10, p.51–55, 2007.
- LUCAS, M.; JEREMIAS, P. F. P. T.; ANDREAUS, J.; BARCELLOS, O.; QUÍMICA, D. De; BLUMENAU, U. R. De; ANTÔNIO, R.; SC, B.; PERALTA-ZAMORA, P. Reutilização de efluente de tingimentos de fibras acrílicas pós-tratamento fotoeletroquímico. **Quimica Nova**, São Paulo, v.31, n.6, p.1362–1366, 2008.
- LURIE, S.; OVADIA, R.; NISSIM-LEVI, A.; OREN-SHAMIR, M.; KAPLUNOV, T.; ZUTAHY, Y.; WEKSLER, H.; LICHTER, A. Abscisic acid improves colour development in ‘Crimson Seedless’ grapes in the vineyard and on detached berries. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Berlin, v.84, n.6, p.639–644, 2009.
- MAIA, J. D. G.; RITSCHHEL, P.; CAMARGO, U. A.; DE SOUZA, R. T.; MARTINS FAJARDO, T. V.; DE LÉLLIS NAVES, R.; GIRARDI, C. L. ‘BRS Vitória’ – a novel seedless table grape cultivar exhibiting special flavor and tolerance to downy mildew (Pasmopara viticola). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v.14, n.3, p.204–206, 2014.
- MASCARENHAS, R. D. J.; SILVA, S. D. M.; LOPES, J. D.; LIMA, M. A. C. De. Avaliação sensorial de uvas de mesa produzidas no Vale do São Francisco e comercializadas em João Pessoa - PB. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.4, p. 993–1000, 2010.
- MATTIUZ, B.; MIGUEL, A. C. A.; GALATI, V. C.; NACHTIGAL, J. C. Processed Seedless Table Grapes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.1, p.44–52, 2009.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. Boca Raton: CRC, 1999. 390p.
- NACHTIGAL, J.C. Uvas sem sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.1, p.1, 2005.
- ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.111, n.3, p. 235–241, 2007.
- PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W. Effects of forchlorfenuron and abscisic acid on the quality of ‘Flame Seedless’ grapes. **HortScience**, Alexandria, v.43, n.1, p.173–176, 2008.
- RATTANAKON, S.; GHAN, R.; GAMBETTA, G. A.; DELUC, L. G.; SCHLAUCH, K. A.; CRAMER, G. R. Abscisic acid transcriptomic signaling varies with grapevine organ. **BMC Plant Biology**, Villenave d'Ornon, v.16, n.1, p.72, 2016.
- REYNOLDS, A.; ROBBINS, N.; LEE, H. S.; KOTSAKI, E. Impacts and interactions of abscisic acid and gibberellic acid on ‘Sovereign Coronation’ and ‘Skookum Seedless’

table grapes. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.67, n.3, p.327–338, 2016.

RITSCHHEL, P.; MAIA, J. D. G.; CAMARGO, U. A.; SOUZA, R. T. De; FAJARDO, T. V. M.; NAVES, R. de L.; GIRARDI, C. L. 'BRS Isis' Nova Cultivar de Uva de Mesa Vermelha, sem Sementes e Tolerante ao Míldio. **Comunicado143 Técnico**. 2013. 20p.

ROBERTO, S. R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; MIOTTO, L. C. V.; SATO, A. J.; KOYAMA, R.; GENTA, W. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.142, p.44–48, 2012.

ROBERTO, S. R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; MIOTTO, L. C. V.; KOYAMA, R.; SATO, A. J.; BORGES, R. D. S. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of 'Rubi' table grape. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.797–800, 2013.

RUIZ-GARCÍA, Y.; GIL-MUÑOZ, R.; LÓPEZ-ROCA, J. M.; MARTÍNEZ-CUTILLAS, A.; ROMERO-CASCALES, I.; GÓMEZ-PLAZA, E. Increasing the Phenolic Compound Content of Grapes by Preharvest Application of Abscisic Acid and a Combination of Methyl Jasmonate and Benzothiadiazole. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.61, n.16, p.3978–3983, 2013.

SANDHU, A. K.; GRAY, D. J.; LU, J.; GU, L. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins. **Food Chemistry**, Berking, v.126, n.3, p.982–988, 2011.

SETHA, S. Roles of abscisic acid in fruit ripening. **Walailak Journal of Science and Technology**, Berking, v.9, n.4, p.297–308, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

YANG, F. W.; FENG, X. Q. Abscisic acid biosynthesis and catabolism and their regulation roles in fruit ripening. **Phyton**, Buenos Aires, v.84, n.2, p.444–453, 2015.

ZHANG, Y.; BUTELLI, E.; MARTIN, C. Engineering anthocyanin biosynthesis in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.19, p.81–90, 2014.

ZHANG, Y.; DAMI, I. Improving freezing tolerance of 'Chambourcin' grapevines with exogenous abscisic acid. **HortScience**, Alexandria, v.47, n.12, p.1750–1757, 2012.

## ANEXO A

**INSTRUÇÕES GERAIS**

- ✓ Você receberá cinco amostras codificadas de bagas de uva. Avalie cada uma delas, **da esquerda para a direita**.
- ✓ Preencha suas respostas nas fichas que você acaba de receber.
- ✓ Avalie os atributos na sequência em eles que são apresentados.
- ✓ Observe primeiro a COR e dê sua nota.
- ✓ Em seguida a APARÊNCIA de cada amostra e faça sua avaliação.
- ✓ Considerando os atributos e algum outro que considere relevante indique sua INTENÇÃO DE COMPRA para cada amostra.

## ANEXO B

**QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE PROVADOR  
(Teste de Aceitação)**

Desejamos formar uma equipe de provadores para avaliar a aceitação da uva apirena Seleção Embrapa 21.

Ser um provador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, levará em torno de 15 minutos e você poderá fazê-la no horário em que tiver maior disponibilidade.

Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.

**Dados Pessoais:**

NOME: \_\_\_\_\_  
TELEFONE: \_\_\_\_\_ e-mail: \_\_\_\_\_

**1. FAIXA ETÁRIA:**

- 15-24 anos
- 25-34 anos
- 35-50 anos
- acima de 50 anos

**SEXO:**

- masculino
- feminino

**2. OCUPAÇÃO:**

- estudante
- funcionário
- docente
- outra

**ESCOLARIDADE**

- Fundamental
- Médio
- Superior

**5. FREQUÊNCIA COM QUE CONSOME UVA:**

- nunca
- ocasionalmente: \_\_\_ vezes por ano
- moderadamente: \_\_\_ vezes por mês
- frequentemente: \_\_\_ vezes por semana

## ANEXO C

## TESTE DE ESCALA HEDÔNICA

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

- 1) Você está recebendo cinco amostras de bagas de uva. Por favor, avalie as amostras de acordo com a aparência e cor das bagas, utilizando a escala abaixo para dizer o quanto gostou ou desgostou do produto.

- 9 – gostei muitíssimo  
 8 –  
 7 –  
 6 –  
 5 – nem gostei / nem desgostei  
 4 –  
 3 –  
 2 –  
 1 – desgostei muitíssimo

<b>Código da amostra</b>	<b>Cor da baga</b>	<b>Aparência da baga</b>

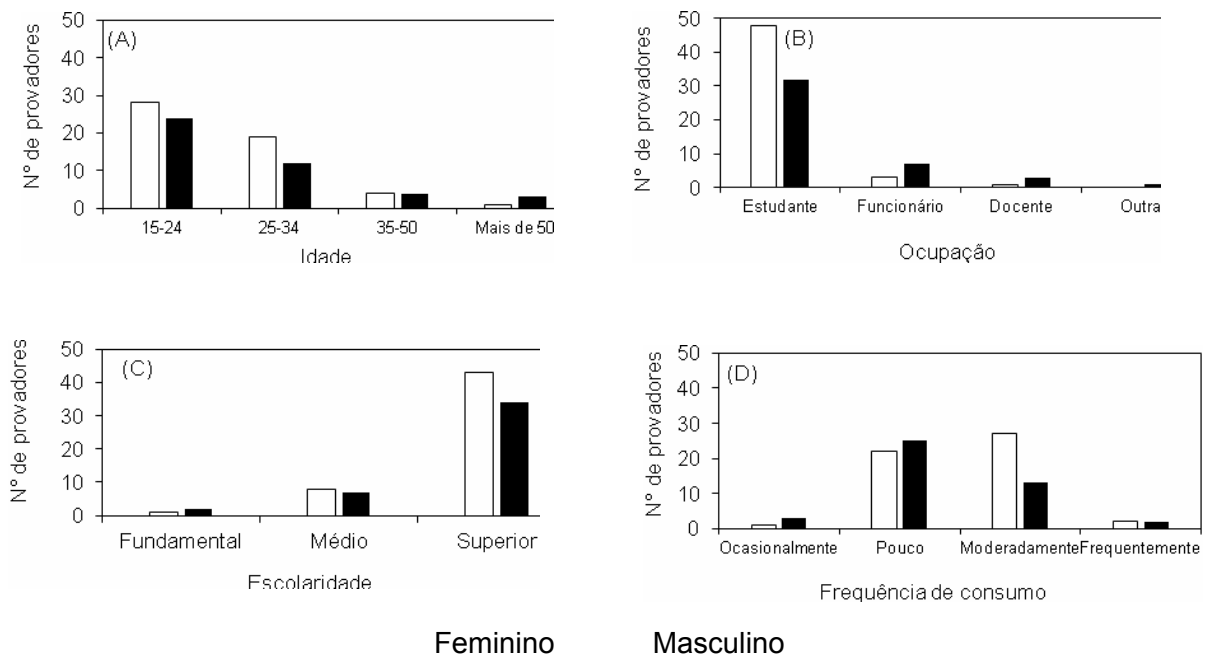
- 2) Indique sua opinião com base na escala abaixo. Se você encontrasse este produto à venda, você:

- 7 - Certamente compraria  
 6 -  
 5 -  
 4 - Talvez compraria / talvez não compraria  
 3 -  
 2 -  
 1 - Certamente não compraria

<b>Código da amostra</b>	<b>Intenção de compra</b>

Comentários: \_\_\_\_\_

## ANEXO D



**Anexo D** - Resultados da avaliação do perfil dos provadores da uva apirena Seleção Embrapa 21 da safra de 2014, referentes à faixa etária (A), ocupação (B), escolaridade (C), frequência de consumo (D). Obs.: Ocasionalmente: até uma vez por semana. Pouco: uma a duas vezes por semana. Moderadamente: duas a quatro vezes por semana. Frequentemente: mais de quatro vezes por semana. Londrina, PR.

## 5 ARTIGO C - APLICAÇÃO EXÓGENA DE ÁCIDO ABCÍSIKO PROMOVE A BIOSÍNTESE DE ANTOCIANINAS E AUMENTO DA EXPRESSÃO DOS GENES ENVOLVIDOS NA SÍNTESE DE FLAVONOIDES EM UVA DE MESA APIRENA

### 5.1 RESUMO E ABSTRACT

#### RESUMO

A Seleção Embrapa 21 é uma uva apirena que possui bagas com carência de cor, prejudicando a aparência dos cachos. Uma das alternativas é induzir a expressão dos genes envolvidos na rota biossintética das antocianinas e assim, aumentar a concentração dos pigmentos com a aplicação de (*S*)-*cis*-ácido abscísico (*S*-ABA). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação exógena de *S*-ABA em diferentes concentrações e épocas na expressão dos genes da rota biossintética das antocianinas e nos fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*, bem como os perfis das antocianinas individuais nas cascas das bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21. O experimento foi realizado em área comercial localizada em Marialva, PR, Brasil, durante três safras (safra regular de 2013 e safras fora de época de 2014 e 2015), sendo as videiras conduzidas em latada com sombrite no espaçamento de 2,5 x 2,5 m. Nas safras regular de 2013 e fora de época de 2014, o delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições e cinco tratamentos: controle, *S*-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> aos sete dias após *veraison* (DAV); *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; *S*-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV+ 200 mg L<sup>-1</sup> 21DAV e *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV+ 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV. Foram avaliadas as concentrações das antocianinas totais, índice de cor, cobertura de cor dos cachos, polifenóis totais e firmeza das bagas, referentes as amostras coletadas na colheita. Em 2015, os dois melhores tratamentos foram selecionados: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; e *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV; seguidos de um tratamento controle, para análise dos atributos CIELab *L\**, *C\**, *h°* e índice de cor, perfil individual das antocianinas e da expressão genes envolvidos na rota biossintética das antocianinas. O *S*-ABA exógeno propicia maior o acúmulo de antocianinas totais na casca das bagas e melhora significativamente os atributos de cor da uva apirena Seleção Embrapa 21, sendo que duas aplicações

de 400 mg L<sup>-1</sup>, aos 7DAV e aos 21DAV, resultam em aumento da concentração das antocianinas delphinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo, e elevou a expressão dos genes estruturais *CHI*, *F3H*, *DFR* e *UFGT* e dos fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*.

**Palavras-chave:** Seleção Embrapa 21. Genes estruturais. Fatores de transcrição. Cor. Regulador do crescimento vegetal.

## **EXOGENOUS APPLICATION OF ABSCISIC ACID PROMOTES ANTHOCYANIN BIOSYNTHESIS AND GENE EXPRESSION IN THE FLAVONOID BIOSYNTHETIC PATHWAY IN SEEDLESS TABLE GRAPE**

### **ABSTRACT**

The Seleção Embrapa 21 seedless grape has berries with color deficiency, impairing the uniform color of the clusters. One way to overcome this problem is to induce the gene expression in the anthocyanin biosynthesis pathway and thus to increase the pigments concentration with application of (*S*)-*cis*-abscisic acid (*S*-ABA). The objective of this study was to evaluate the effect of the application of *S*-ABA in different concentrations and times in the regulatory genes of the anthocyanin biosynthesis pathway, as well as the profiles of the individual anthocyanins in the skins of the Seleção Embrapa 21 seedless grape. The experiment was carried out in a commercial vineyard located in Marialva, PR, Brazil during three seasons (regular season of 2013 and during the out of season of 2014 and 2015). The vines were trained in an overhead trellis system with mash cover, spaced at 2.5 x 2.5 m. The experimental design was randomized blocks with four replications and five treatments in the seasons 2013 and 2014: control, *S*-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> at seven days after *veraison* (7DAV); *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; *S*-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 200 mg L<sup>-1</sup> 21DAV and *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV. The total anthocyanins, color index, clusters color coverage, total polyphenols and berry firmness were evaluated. In 2015, the control and the two best treatments were selected: *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; *S*-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup>, 21DAV for analysis of the CIELab color attributes  $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  and color index, individual profile

of anthocyanins and gene expression. The exogenous S-ABA provided a higher accumulation of total anthocyanins in the berries skin and improved the color attributes of Seleção Embrapa 21 seedless grape. Two applications of 400 mg L<sup>-1</sup>, 7DAV and 21DAV, increase the concentration of individual anthocyanins delphinidin, cyanidin, petunidine and peonidin 3 -glucoside, and extend the increase of *CHI*, *F3H*, *DFR* and *UFGT* structural gene expression and *VvMYBA1* and *VvMYBA2* transcription factors.

**Key words:** Seleção Embrapa 21. Structural genes. Transcription factor. Color. Plant growth regulator.

## 5.2 INTRODUÇÃO

O comércio internacional de uvas de mesa é composto predominantemente por cultivares apirenas de uvas finas (*Vitis vinifera* L.), mas em alguns países tropicais, como o Brasil, as uvas finas de mesa para consumo fresco com sementes são as mais extensamente cultivadas, como as cvs. Itália, Redglobe, Benitaka e Rubi devido à sua melhor adaptação ao clima (CAMARGO; TONIETTO; HOFFMANN, 2011; RYBKA et al., 2015). Embora algumas uvas finas de mesa estejam melhor adaptadas aos climas tropicais, em relação a maioria das cultivares apirenas, as altas temperaturas durante a maturação inibem a biossíntese de antocianinas das uvas coloridas, e como consequência, a cor das bagas pode ser inadequada, reduzindo a aceitação no mercado e o valor econômico do fruto (ROBERTO et al., 2012).

Para garantir cachos com uma cor adequada, historicamente tem sido utilizado o regulador de crescimento etefom, um agente de liberação de etileno, no início da maturação (ROBERTO et al., 2013). A ação do (S)-*cis*-ácido abscísico tem sido extensivamente estudada visando estimular o acúmulo de antocianinas e promover a cor da baga, apresentando efeitos superiores ao etefom (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006; ROBERTO et al., 2012). No entanto, os trabalhos foram conduzidos em sua maioria, com cultivares de *V. vinifera* em clima temperado e foi constatado que a sua eficácia pode variar de acordo com a cultivar (SANDHU et al., 2011), concentração do S-ABA (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007),

época de aplicação (FERRARA et al., 2015) e as condições ambientais (REYNOLDS et al., 2016).

Análises realizadas em uvas, sugerem que o ácido abscísico desempenha um importante papel regulatório da expressão dos genes envolvidos na biossíntese das antocianinas, os quais codificam as enzimas para a formação desses pigmentos (YANG; FENG, 2015). Estudos revelam que a aplicação exógena de S-ABA pode aumentar significativamente a atividade de uma vasta gama de genes envolvidos na biossíntese de antocianinas, sendo que, a maior parte das análises foram realizadas testando os feitos de uma única aplicação de S-ABA realizada antes ou no *veraison*, contudo, avaliações sobre o efeito do S-ABA exógeno após o *veraison*, com diferentes frequências de aplicação e concentrações sobre a biossíntese de antocianinas, podem ser úteis na otimização do uso de S-ABA em uvas (PEPPI; WALKER; FIDELIBUS, 2008; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010).

As antocianinas são produzidas através de uma via de múltiplas etapas controladas pelos fatores de transcrição MYB. Os fatores de transcrição VvMYBA1 e VvMYBA2 ativam a biossíntese de antocianina na videira (RINALDO et al., 2015). Nas uvas tintas, a expressão do gene *VvMYBA1* ocorre somente após a *veraison* e regulam a biossíntese das antocianinas durante o amadurecimento por meio do controle restrito da expressão dos genes específicos da rota de biossíntese das antocianinas (HE et al., 2010). Desta forma, determinar por quanto tempo os genes envolvidos na biossíntese desses pigmentos estão ativos, pode melhorar a compreensão sobre o melhor tempo de aplicação do S-ABA, o número de aplicações a considerar, ou quanto tempo deve decorrer entre várias aplicações, visto que, sabe-se pouco sobre o potencial benéfico de múltiplas aplicações, o que pode ser desejável se uma única aplicação tiver uma resposta insuficiente.

O objetivo deste estudo foi determinar o efeito da aplicação de S-ABA em diferentes concentrações e em diferentes épocas na expressão dos genes da via biossintética das antocianinas e nos fatores reguladores *VvMYBA1* e *VvMYBA2*, bem como os perfis fenólicos nas cascas das bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21.

## 5.3 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.3.1 Área e Delineamento Experimental

O trabalho foi conduzido em um vinhedo comercial de uva Seleção Embrapa 21 (*Vitis* spp.) com 4 anos, enxertada sobre o porta-enxerto IAC 766 Campinas, localizado em Marialva, PR, Brasil (latitude 23°29'52,8"S, longitude 51°47'58"O e altitude 570 m), durante três safras, 2013 (safra regular), 2014 (safra fora de época) e 2015 (safra fora de época). Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa (Clima subtropical), com temperatura média no mês mais frio inferior a 18°C (mesotérmico) e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C, sendo a precipitação média anual de 1.596 mm (CAVIGLIONE et al., 2000). O solo desta região é classificado como latossolo vermelho distroférico (BHERING; SANTOS, 2008).

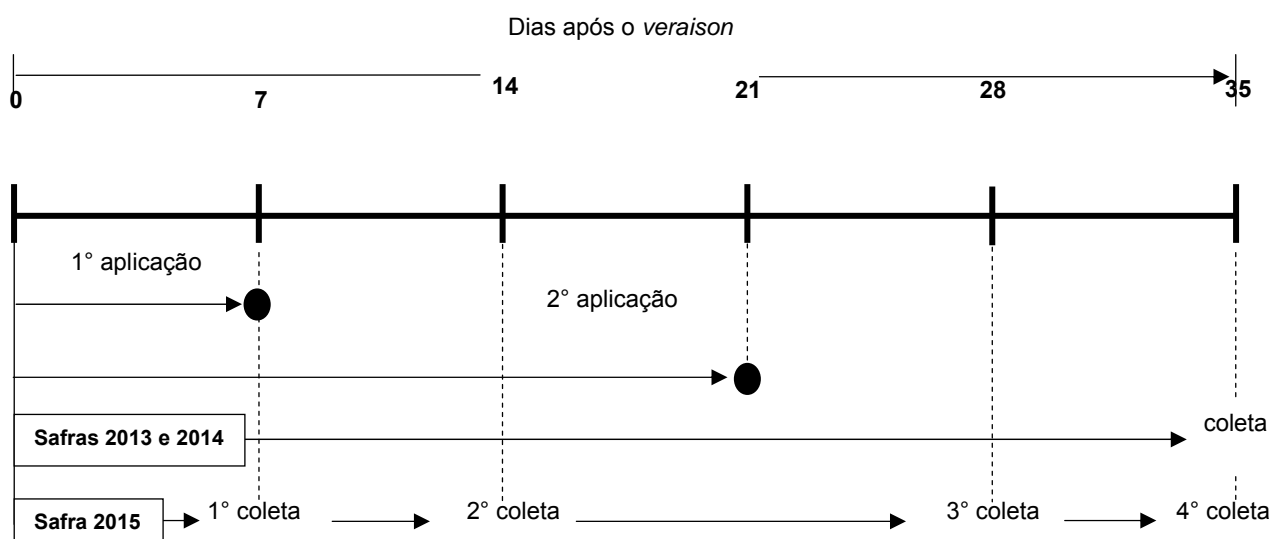
As videiras foram conduzidas em latada, no espaçamento 2,5 x 2,5 m. A poda longa de frutificação, foi realizada em 22/07/2013 na safra regular de 2013, deixando-se 4 a 6 gemas por vara, e em 06/01/2014 e 06/01/2015 nas safras fora de época de 2014 e 2015, respectivamente, deixando-se 8 a 10 gemas. Em seguida, foi aplicado cianamida hidrogenada 3% sobre as duas gemas apicais para induzir e uniformizar a sua brotação.

Foi avaliado o efeito do isômero (*S*)-*cis*-ácido abscísico (S-ABA), aplicado em diferentes concentrações e épocas sobre os cachos das videiras. O S-ABA foi fornecido pela empresa Valent BioSciences Corporation®, cuja concentração do princípio ativo é 100 g L<sup>-1</sup>.

Foram testados os seguintes tratamentos nas safras regular de 2013 e fora de época de 2014: (A) controle; (B) S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> aos 7 dias após o *veraison* (7DAV); (C) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV; (D) S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 200 mg L<sup>-1</sup> 21DAV; e (E) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela composta por uma videira.

Na safra de 2015, os tratamentos (C) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV e (E) S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV + 400 mg L<sup>-1</sup> 21DAV foram selecionados com base nos melhores resultados obtidos nas safras de 2013 e 2014 e foram testados juntamente com o (A) controle. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com três tratamentos e quatro repetições e as amostras analisadas em triplicata, sendo cada parcela composta por uma videira.

O *veraison* teve início aos 101 dias após a poda na safra regular de 2013 (01/11/2013) e aos 85 dias após a poda nas safras fora de época de 2014 e 2015 (01/04/2014-2015) (Figura 5.3.1.1). O *veraison* foi determinado a partir da análise do teor de sólidos solúveis (SS) e consistência das bagas por amostragem simples ao acaso do vinhedo experimental. Nesse estágio, o teor de SS das uvas foi em média de 9°Brix, em que 20% das bagas em 50% dos cachos apresentaram amolecimento (CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOSTO, 2007). Na primeira aplicação aos 7DAV, as uvas apresentaram em média 11°Brix, e na segunda aplicação aos 21DAV apresentaram 13°Brix.



**Figura 5.3.1.1** - Cronograma das coletas das amostras das bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras 2013 e 2014, e Safra 2015. Marialva, PR.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela composta por uma videira. Foram marcados previamente à aplicação dos tratamentos 10 cachos representativos em cada parcela.

Para a aplicação dos tratamentos, os cachos foram pulverizados no período da manhã, utilizando-se pulverizador costal, com bicos de pontas de jato cone oco-JA1, proporcionando cobertura completa e uniforme, sendo empregado volume de calda de  $800 \text{ L ha}^{-1}$ . Foi adicionado à calda de todos os tratamentos o espalhante não-iônico Break Thru<sup>®</sup> ( $0,3 \text{ mL L}^{-1}$ ).

Foram realizados no ensaio os tratos culturais habituais na região em relação à nutrição, controle de plantas daninhas, e manejo de pragas e de doenças.

### 5.3.2 Experimentos das Safras 2013 e 2014

Na safra regular de 2013 e fora de época de 2014, quando ocorreu a estabilização do teor de SS das bagas ( $\sim 15^\circ \text{Brix}$ ), foi realizada a colheita manualmente com auxílio de uma tesoura de poda. Em seguida, os cachos foram submetidos à limpeza, eliminando-se as bagas danificadas. Na safra regular foi realizada a colheita no dia 06/12/2013 e na safra fora de época no dia 06/05/2014. De cada parcela, foram coletadas 70 bagas para as avaliações físico-químicas, sendo retiradas duas bagas da porção superior, mediana e inferior de cada cacho. As amostras foram coletadas no momento da colheita e analisadas no Laboratório de Análise de Frutas, pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, PR.

Nas duas safras foram avaliadas as variáveis: antocianinas totais índice de cor (IC), cobertura da cor, polifenóis totais e firmeza das bagas.

Para a avaliação da concentração de antocianinas totais da baga, foram utilizadas 30 bagas por parcela, as quais foram congeladas e mantidas a  $-20^\circ \text{C}$ . Foram retiradas as cascas das bagas usando uma pinça, tomando o cuidado

de retirar apenas a pele sem polpa. As cascas foram lavadas uma vez com água, e posteriormente com água deionizada e secadas com papel absorvente. Em seguida, uma amostra de 5 g de casca foi colocada em tubo de poliestireno com 50 mL de metanol acidificado (HCl 1%), e mantidas no escuro a temperatura ambiente por 48 horas. Após esse período, os tubos foram removidos do escuro e agitados manualmente durante 5 segundos. A absorbância de cada amostra foi determinada em espectrofotômetro (modelo Genesys 10S Spectrophotometer, UV-VIS®) a 520 nm, usando como “branco” apenas o solvente. Os resultados foram expressos em mg de malvidina-3-glicosídeo por grama de casca ( $\text{mg g}^{-1}$ ) (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006).

O índice de cor (IC) das uvas foi avaliado em 10 bagas por parcela, empregando-se o colorímetro Minolta CR-10®, sendo obtidas as variáveis de sua porção equatorial: luminosidade ( $L^*$ ), saturação ( $C^*$ ) e matiz ( $h^\circ$ ), e posteriormente o IC das bagas foi determinado empregando-se a fórmula:  $\text{IC} = (180-h^\circ)/(L^*+C^*)$  (CARREÑO et al., 1995). Os valores de  $L^*$  variam de 0 (preto) a 100 (branco). O  $C^*$  indica a pureza ou intensidade da cor, a distância a partir de cinza (acromática) em direção a uma cor pura, e é calculada a partir dos valores de  $a^*$  e  $b^*$  do sistema de escala CIELab, variando de 0 para uma cor completamente neutra, e não tem um fim arbitrário, mas a intensidade aumenta com a magnitude. O  $h^\circ$  refere-se à roda de cores e é medido em ângulos; verde, amarelo e vermelho, e corresponde a  $180^\circ$ ,  $90^\circ$  e  $0^\circ$ , respectivamente (LANCASTER et al., 1997; ORAK, 2007).

Para análise da cobertura do cacho (% de cor vermelha das bagas), foram avaliados 10 cachos por parcela atribuindo-se visualmente notas de 1 a 5, de acordo com a seguinte escala: (1) 0–20%, (2) 21–40%, (3) 41–60%, (4) 61–80% e (5) 81–100% de cobertura (ROBERTO et al., 2012).

A quantificação do polifenóis totais da baga foi determinada utilizando-se 30 bagas por parcela e baseada no método de Folin-Ciocalteu. Para tanto, após a trituração das amostras, pesou-se aproximadamente 5 g de cada amostra de uva, os quais foram triturados com 50 mL de etanol 50% durante dois minutos e, em seguida, foi realizada a centrifugação a 3.500 rpm durante 5 minutos. Foram retiradas amostras de 0,2 mL desse extrato em tubo de ensaio, ao qual foram adicionados 1,8 mL de água destilada, 10 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10% e

8 mL de solução de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 7,5%, entre 30 segundos a 8 minutos. O tubo foi agitado e mantido no escuro por 2 horas. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 765 nm, usando como “branco” todos os reagentes sem a alíquota da amostra centrifugada, sendo adicionados 0,2 mL de água destilada (completando-se 0,2 + 1,8 mL). O ácido gálico (GAE) foi usado como padrão, e a curva de calibração foi realizada com solução de GAE nas concentrações de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 e 1,2  $\mu\text{g mg}^{-1}$ . A partir desta, foi obtido por regressão linear a equação:  $y = ax + b$ , na qual a variável “y” representa a absorbância, e desta forma, foi obtido o valor da concentração de polifenóis totais em equivalente de ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de polifenóis totais em 100 g de amostra ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ) (BUCIC-KOJIC et al., 2007).

A firmeza das bagas (N) foi avaliada empregando-se um texturômetro universal TA XT2i Texture Analyser (Stable MicroSystems, Surrey, UK) a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , sendo analisadas 10 bagas por parcela. Cada baga foi colocada sobre a base do texturômetro e comprimida com uma sonda cilíndrica com ponta de seção plana de 35 mm de diâmetro e paralela à base. A compressão foi no sentido da porção equatorial das bagas até 8 mm, com força de 0,05 N, à velocidade de  $1 \text{ mm s}^{-1}$ , suficiente para provocar o rompimento da película (BORGES et al., 2012).

### 5.3.3 Experimento da Safra 2015

Na safra fora de época de 2015, os dois tratamentos que apresentaram os melhores resultados obtidos nas safras de 2013 e 2014 foram novamente aplicados no vinhedo experimental visando quantificar as antocianinas delphinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo no decorrer da maturação, bem como avaliar a influência das aplicações de S-ABA na expressão dos genes chalcona isomerase (*CHI*); flavanona 3-hidroxilase (*F3H*); dihidroflavonol redutase (*DFR*), leucoantocianidina dioxigenase (*LDOX*) e UDP glicose: flavonoide 3-O-glicosiltransferases (*UFGT*) e dos fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*.

As coletadas das amostras de bagas de cada tratamento foram realizadas em quatro datas: aos 7DAV, 14DAV, 28DAV e 35DAV (Figura 5.3.1.1). Para a amostragem aos 7DAV, a coleta de bagas foi realizada uma hora antes da aplicação do tratamento.

As variáveis antocianinas totais e atributos de cor das bagas ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  e IC) foram analisadas no Laboratório de Análise de Frutas da UEL, conforme metodologia descrita anteriormente nas safras 2013 e 2014.

Para as avaliações da expressão dos genes e perfil das antocianinas, foram identificados em cada parcela três cachos de tamanho uniforme e com o mesmo estágio fenológico, e coletadas duas bagas aleatoriamente de cada cacho ( $n=6$  por parcela) em cada data de amostragem. As cascas das bagas foram retiradas, congeladas e mantidas a  $-80^\circ\text{C}$  até serem transportadas para o Department of Viticulture & Enology da University of California, Davis, CA, EUA, as quais foram mantidas congeladas por todo o tempo. Em seguida, as cascas foram postas em nitrogênio líquido e trituradas usando um TissueLyser II (Qiagen, Valencia, CA, EUA).

A quantificação individual de antocianinas foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) no Waterhouse Lab, pertencente ao Department of Viticulture & Enology da University of California, Davis, CA, EUA, sob supervisão do Prof. Dr. Andrew L. Waterhouse. Para as quantificações de delphinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo, expressas em  $\text{mg L}^{-1}$ , foram preparadas amostras de 0,1 g de tecido (casca) triturado e liofilizado de cada parcela. As amostras liofilizadas foram extraídas com 2 mL de acetona a 60%, e a mistura foi submetida a um vórtice e armazenado durante a noite a  $4^\circ\text{C}$ . Depois da extração, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi retirado por pipeta para um tubo de microcentrífuga e colocado em um evaporador rotativo à vácuo Centrivap (Labconco, Kansas City, MO) durante 45 minutos a  $25^\circ\text{C}$  para evaporar a acetona. Uma vez que a acetona foi totalmente removida, o resíduo resultante foi transferido para um balão volumétrico de 2 mL e o volume completado com solvente LC acidificado com acetonitrila. Este extrato foi, em seguida, filtrado utilizando filtros de  $0,2\ \mu\text{m}$  de PTFE seringa (Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (CHASSY et al., 2012).

Para as análises por CLAE, foi utilizado um conjunto de equipamentos Agilent 1200 series (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA), configurado com um desgaseificador, bomba binária, amostrador automático, refrigerado (4°C), compartimento de coluna com temperatura controlada e detector de arranjo de diodos (DAD). A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna Agilent Zorbax SB-C18 (4,6 mm × 100 mm, 1,8 μm). A taxa de fluxo de 0,75 mL minuto<sup>-1</sup> a 40°C foi usada com um gradiente binário de ácido fórmico a 10% (solvente A) e acetonitrila (solvente B) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) na fase móvel. O gradiente iniciou-se com 5% de solvente B mantido durante dois minutos, em seguida, um aumento de 13% de solvente B em 3 minutos, 15,3% de solvente B em mais 3 minutos, e até 20,5% em 5 minutos adicionais. Para aumento da fase orgânica, foram aplicados: 2 minutos para incrementar o solvente B a 31% e dentro de mais 1 minuto o gradiente chegou a 50%. Em mais 1 minuto e 30 segundos o gradiente foi para 65%, o qual foi mantido por mais 3 minutos. Em seguida, foram dados mais 3 minutos para o solvente B voltar para a concentração original de 5% que foi mantido por mais 1 minuto adicional. Em seguida, foi dado 1 minuto para a coluna equilibrar. O amostrador automático extraiu 8 μL de amostra. O DAD foi monitorado continuamente em 4 comprimentos de onda: 280, 316, 365 e 520 nm. Espectros *online* foram registrados a cada 2 segundos de 190 a 600 nm para ajudar na identificação (CHASSY et al., 2012).

Para a espectrometria de massa em tandem (EM/EM), que consiste na utilização sequencial de dois espectrômetros de massa, foram utilizados Agilent 6430 Triple Quadrupole Mass Spectrometer com injeção de electrospray (ESI) em linha com o sistema de CLAE-DAD (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA). A ESI correu 40 psi de nitrogênio através da agulha enquanto o capilar foi mantido a 4 kV com 12 L min<sup>-1</sup> de gás de secagem a 325°C. Os dados foram obtidos utilizando "MRM dinâmico", que consiste no Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM), método que monitora apenas transições de massa específicas durante tempos de retenção predefinidas. O MRM dinâmico também tem a capacidade de executar simultaneamente ESI tanto no modo positivo quanto no negativo, permitindo a

análise de diferentes classes fenólicas dentro de uma única série de amostra cromatográfica. O tempo de ciclo para cada rodada de MRM foi 550 ms (CHASSY et al., 2012).

O padrão externo malvidina-3-glicosídeo (Polyphenols, Sandnes, Noruega) foi usado para a quantificação da concentração total de antocianinas por absorção UV/Vis. Além disso, o EM/EM foi realizado para identificar as quantidades relativas do íon molecular natural e o deslocamento de 6 amu (unidades de massa atômica) do íon molecular. As concentrações de compostos fenólicos marcados foram calculadas usando a seguinte equação:

$$\text{concentração total por DAD} = \frac{[M + 6] \text{ área do pico}}{[M + 6] \text{ área do pico} + [M] \text{ área do pico}}$$

em que:

[M + 6] e [M] representam os íons moleculares naturais e marcados, respectivamente, de um mesmo composto (CHASSY et al., 2012)

As análises da expressão gênica utilizando a técnica de transcrição reversa (RT) e reação em cadeia da polimerase (PCR) para detectar os níveis de expressão gênica do RNA foram realizadas no Cantu Lab, pertencente ao Department of Viticulture & Enology, University of California, Davis, CA, EUA, sob supervisão dos Profs. Drs. Matthew Fidelibus e Dario Cantu.

Para a extração do RNA foi utilizado 0,5 g do tecido triturado (casca), que foram homogeneizados com 5 mL de tampão de extração de RNA (CTAB 2% v/v, PVP 2% v/v, 100 mM Tris pH 8, 2 M NaCl, 25 mM EDTA, 0,5 g L<sup>-1</sup> spermidine, 10 mM β-mercaptoetanol). As amostras foram incubadas a 65°C por 5 minutos e, em seguida, procedeu-se a centrifugação da cultura a 4.000 rpm, à 4°C por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido a um novo tubo falcon, no qual foi adicionado igual volume de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1) e homogeneizado por inversão. Em seguida, foi realizada uma centrifugação por 15 minutos a 4°C a 4.000 rpm para separar as fases. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo falcon e foi adicionado 0,5 mL de LiCl 10 M. As amostras foram mantidas a -20°C

durante 12 horas para precipitação do RNA. As amostras foram então centrifugadas a 5.000 rpm por 45 minutos a 4°C. Ao *pellet* formado foram adicionados 100 µL de água livre de RNase e a purificação foi realizada utilizando o RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen®). Por fim, o RNA foi ressuspensão em 30 µL de água isenta de nuclease (BLANCO-ULATE et al., 2015). A concentração e a pureza do RNA foram mensuradas usando NanoDrop 2000c Spectrophotometer (Thermo Scientific, Inc.) e a integridade do RNA checada empregando-se gel de agarose 1,5%.

Para as reações de transcrição reversa (síntese da 1ª fita de cDNA), foi utilizado o M-MLV *Reverse Transcriptase* (Promega) conforme as instruções do fabricante. As reações de qRT-PCR foram realizadas usando o kit SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems). Os parâmetros de ciclagem utilizados para as reações foram: 70°C durante 10 minutos, seguido de 36 ciclos de 42°C durante 2 segundos e 37°C durante 50 minutos. A determinação dos níveis de expressão dos genes alvos foi realizada pela quantificação relativa utilizando a expressão  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001). As transcrições dos genes foram quantificadas usando como normalizador o VvActin (VIT\_04s0044g00580) para todos os genes de interesse (BLANCO-ULATE et al., 2015).

Para cada tratamento, foi detectado o valor de Ct (*Cycle threshold*), tanto para o gene alvo quanto para o normalizador. Este valor representa o ponto em que o sinal de amplificação é detectado. O valor do Ct do gene alvo foi subtraído do valor do Ct do controle endógeno para normalizar a reação. Assim, obteve-se o valor de  $\Delta Ct$ . O valor de  $\Delta Ct$  dos tratamentos foi subtraído do valor do  $\Delta Ct$  da amostra controle (calibrador), encontrando-se o valor de  $\Delta\Delta Ct$ , o qual foi utilizado na fórmula do nível de expressão, em que o número 2 representa a eficiência do gene alvo e do controle endógeno, considerando que ambos os genes possuem 100% de eficiência (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001).

A placa de PCR para a quantificação relativa foi montada com quatro repetições biológicas para cada gene e tratamento estudado. As sequências dos genes avaliados para a concepção de *primers* foram obtidos no *Genbank - National Center for Biotechnology Information* (NCBI), utilizando o programa Primer-Blast (NCBI, 2016) (Tabela 5.3.3.1).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para análise da expressão gênica utilizou-se o teste *t* de Student para verificar diferenças significativas com relação ao controle. Considerou-se níveis de significância \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

**Tabela 5.3.3.1** - Sequência dos *primers* utilizados nas reações de PCR em Tempo

Genes	Número de acesso	Sequência dos <i>primers</i>	TM
CHI	FJ468358	F 5'CAGTCACCGCAGTTCAGGTC3'	64,5
		R 5'GGAAGAGGTCGTTGGTGGAG3'	64,5
F3H	X75965	F 5'ATGGCGCCTACGACACTGAC3'	64,5
		R 5'ATGGCTGGAAACGATGAAGCC3'	62,6
DFR	pBS510	F 5'ACCTGTAGATGGCAAGACCTAGA3'	60,3
		R 5'GAACTCTCATTTCCGGCACATTG3'	60,4
LDOX	NM_001281218	F 5'GACAGCTTGAGTGGGAGGAC3'	60,4
		R 5'AGTCGCTTGGTGTCTTAGGC3'	58,4
UFGT	JF522529	F 5'TGGTGGCTGACGCATTCAT3'	60,2
		R 5'CCCCATCTCTGCTGCCATATC3'	64,5
VvMYBA1	AB097923	F 5'TTATCGCAAGCCTCAGGACAG3'	62,6
		R 5'TCCCAGAAGCCCACATCAA3'	60,2
VvMYBA2	AB073013	F 5'GATGTGGGCTTCTGGGATAC3'	62,4
		R 5'AGGGAGTAGAGTATGAATGCAAGA3'	61,2

Real.

## 5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.4.1 Experimentos das Safras 2013 e 2014

A aplicação do ácido abscísico (S-ABA) proporcionou aumento na concentração de antocianinas totais nas bagas da uva Seleção Embrapa 21 nas safras de 2013 e 2014, independente das doses e épocas de aplicação (Tabela 5.4.1.1). As bagas que receberam duas aplicações de 400 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 7 dias após o *veraison* (DAV) e aos 21DAV, apresentaram incremento

significativamente maior na concentração de antocianinas do que os demais tratamentos. Isso ocorre, pois, o S-ABA regula parcialmente a síntese e acumulação das antocianinas na casca dos frutos, e sua aplicação aumenta o teor desses pigmentos na casca das uvas (JEONG et al., 2004; MORI et al., 2005; PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006; CANTÍN; FIDELIBUS; CRISOSTO, 2007).

**Tabela 5.4.1.1** - Antocianinas totais, índice de cor (IC) e cobertura da cor do cacho da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras 2013 e 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	Antocianinas totais (mg g <sup>-1</sup> )		IC		Cobertura da cor dos cachos <sup>1</sup>	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Controle	0,18 ± 0,07 d	0,12 ± 0,03 d	1,49 ± 0,49 c	1,80 ± 0,12 b	1,00 ± 0,00 d	1,00 ± 0,00 c
S-ABA 200 (7DAV)	0,39 ± 0,14 c	0,59 ± 0,14 c	2,15 ± 0,29 bc	3,71 ± 0,61 a	1,75 ± 0,50 c	3,00 ± 0,50 b
S-ABA 400 (7DAV)	0,57 ± 0,15 b	0,86 ± 0,06 b	2,78 ± 0,53 b	4,48 ± 0,28 a	3,25 ± 0,50 b	4,25 ± 0,75 ab
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	0,68 ± 0,02 bc	0,74 ± 0,04 bc	3,07 ± 0,33 b	4,34 ± 0,13 a	2,75 ± 0,50 b	3,75 ± 0,38 ab
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	1,15 ± 0,04 a	1,18 ± 0,01 a	4,14 ± 0,54 a	4,51 ± 0,13 a	4,75 ± 0,50 a	5,00 ± 0,00 a
F	38,22*	60,92*	19,80*	36,30*	32,81*	25,40*
CV (%)	17,40	14,40	16,56	10,70	16,30	17,81

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). <sup>1</sup>Classes da cobertura da cor dos cachos: 1, 0 a 20%; 2, 21 a 40%; 3, 41 a 60%; 4, 61 a 80%; e 5, 81 a 100% de cobertura. ns: não significativo. DAV= dias após o *veraison*.

O aumento na concentração de antocianinas com a aplicação de S-ABA também foi relatado nas uvas apirenas 'Flame Seedless', em que aplicações de 300 mg L<sup>-1</sup> no *veraison* ou após o *veraison*, mostraram ser mais efetivas no aumento da concentração de antocianinas quando comparadas a aplicação antes do *veraison* (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006). Na uva apirena 'Crimson Seedless' a concentração de antocianinas aumentou com a aplicação de 400 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 17DAV, entretanto, houve uma grande variação das respostas entre as safras conforme a dose e a época de aplicação, visto que, na safra seguinte foi necessária a aplicação de 600 mg L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 90 dias após a poda para se obter diferença significativa com a testemunha, a diferença das respostas a aplicação do S-ABA foi atribuída às altas temperaturas registradas no período (LEÃO et al., 2015). Em uva 'Sovereign Coronation', duas aplicações de S-ABA 300 mg L<sup>-1</sup>, uma e

duas semanas antes do *veraison*, não afetou a concentração de antocianinas nas bagas (REYNOLDS et al., 2016).

A escolha correta da época de aplicação é fundamental para melhor ação do ABA exógeno (GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010). Em uvas 'Cabernet Sauvignon' que receberam três aplicações de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> antes do *veraison* com intervalos de uma semana, foi observado acúmulo antecipado das antocianinas, no entanto, na colheita, não foram observadas diferenças em relação à concentração de antocianinas entre os tratamentos (WHEELER et al., 2009).

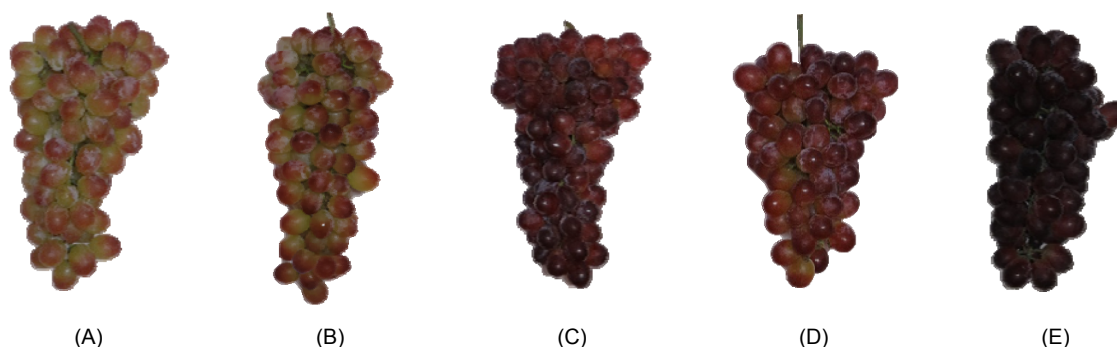
O aumento da concentração do ABA endógeno nas bagas das uvas ocorre no início do *veraison* e estende até o estabelecimento da maturação, em que alcança seu nível mais alto, e posteriormente ocorre sua redução até a colheita, que pode variar de 13 a 20 dias, conforme a cultivar (DAVIES et al., 1997; WHEELER et al., 2009; BERLI et al.; 2011).

A aplicação exógena do S-ABA no momento em que o regulador de crescimento encontra-se naturalmente em maior concentração nas bagas, próximo ao *veraison*, permite resultados mais efetivos sobre o acúmulo das antocianinas. A aplicação de S-ABA resultou no aumento significativo dos níveis de ABA endógeno sete dias após a aplicação em uvas 'Carménère'. Foi constatado que após 40 dias, os seus níveis de ABA nas bagas tratadas ainda eram mais altos do que na testemunha (VILLALOBOS-GONZÁLEZ et al., 2016).

O acúmulo de antocianinas em bagas de uva, que se inicia no *veraison*, é provavelmente desencadeado pelo aumento da concentração de açúcar e ABA na casca da baga, ativando a expressão dos genes envolvidos na biossíntese das antocianinas. O limiar para ativar os genes envolvidos na produção de antocianina foi descrito como sendo entre 9 e 10°Brix (KELLER, 2015). Desta forma, a aplicação de S-ABA 7DAV, quando os genes já estão ativos, seguida de uma segunda aplicação aos 21DAV, quando as concentrações de ABA endógeno estão próximas aos níveis máximos ou começando a decrescer, possivelmente pode contribuir para aumentar a expressão gênica ou mantê-la constante por mais tempo.

Em relação ao índice de cor (IC) das uvas, as bagas da testemunha apresentaram variação de cor entre verde e amarelo (IC<2), tanto na safra de 2013 como em 2014 (Tabela 5.4.1.1). Na safra regular de 2013, as bagas dos tratamentos que receberam uma ou duas aplicações de S-ABA 200 mg L<sup>-1</sup> e com uma aplicação

de 400 mg L<sup>-1</sup> aos 7DAV apresentaram cor rosa, assim como o tratamento com uma aplicação de 200 mg L<sup>-1</sup> na safra de 2014 (2<IC<4). O tratamento com duas aplicações de 400 mg L<sup>-1</sup> na safra de 2013, bem como os tratamentos com aplicação de S-ABA na safra de 2014, exceto quando foi aplicado dose única de 200 mg L<sup>-1</sup>, apresentaram cor vermelha (4<IC<5) (Figura 5.4.1.1).



**Figura 5.4.1.1** - Características dos cachos da uva apirena Seleção Embrapa 21 no momento da colheita, Marialva, PR. (A): Controle: sem aplicação; (B): 200 mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 7 dias após o *veraison* (DAV); (C): 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA aos 7DAV; (D): 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA aos 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV; (E): 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV.

A avaliação das características da cor das bagas para estimar o efeito das práticas culturais, como a aplicação de S-ABA, sobre a cor das uvas de mesa tintas e não somente determinar a concentração de antocianinas, é de suma importância, uma vez que, as relações entre essas características não são lineares, e desse modo, diferenças relativamente pequenas na concentração de antocianinas podem ter um grande efeito sobre a cor das bagas (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006; 2007).

Em relação à cobertura da cor dos cachos, o controle apresentou as menores média de cobertura da cor nas safras de 2013 e 2014, enquanto que o tratamento com duas aplicações de 400 mg L<sup>-1</sup> proporcionou as maiores médias. Resultados semelhantes foram observados por Roberto et al. (2012, 2013) nas uvas finas de mesa 'Benitaka' e 'Rubi', quando o S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> foi aplicado aos 7DAV e 15 dias antes da colheita. Ainda, os autores ressaltam que cachos de uvas com cor mais intensa e uniforme apresentam maior aceitação pelo consumidor, tornando-

se atributos importantes na produção de uva de mesa, visto que, o seu valor comercial é influenciado por seu aspecto visual.

Em relação ao polifenóis totais, não houve diferença entre os tratamentos na safra de 2013 (Tabela 5.4.1.2). O aumento da concentração de antocianinas observado não implica necessariamente no aumento dos polifenóis totais, visto que esse grupo é composto por ácidos fenólicos, estilbenos, cumarinas, taninos e flavonoides, e nem todos são responsivos à aplicação do S-ABA (ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2009), conforme também observado em uva muscadínea 'Alachua' (SANDHU et al., 2011) e em a uva 'Isabel' (KOYAMA et al., 2014).

**Tabela 5.4.1.2** - Polifenóis totais e firmeza das bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safras 2013 e 2014. Marialva, PR.

Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	Polifenóis totais (mg 100g <sup>-1</sup> )		Firmeza (N)	
	2013	2014	2013	2014
Controle	15,9 ± 3,8	13,4 ± 2,5 b	33,9 ± 5,0 a	25,3 ± 2,5 a
S-ABA 200 (7DAV)	13,1 ± 3,0	12,8 ± 1,5 b	30,2 ± 3,1 a	23,7 ± 1,3 a
S-ABA 400 (7DAV)	15,5 ± 1,7	14,3 ± 0,7 b	26,7 ± 2,9 b	19,3 ± 1,9 bc
S-ABA 200 (7DAV) + 200 (21DAV)	15,8 ± 1,9	14,4 ± 1,2 b	26,4 ± 1,3 b	20,4 ± 1,6 bc
S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	18,3 ± 1,1	18,3 ± 1,3 a	19,9 ± 2,0 c	15,7 ± 0,5 c
F	1,9 <sup>ns</sup>	4,5*	14,5*	11,5*
CV (%)	15,8	12,5	10,4	10,7

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). ns: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ). DAV= dias após o *veraison*.

Entretanto, na safra de 2014, o tratamento com duas aplicações de S-ABA apresentou maior concentração de polifenóis totais, semelhante ao observado para a uva 'Malbec' (BERLI et al., 2011). Fatores ambientais como temperatura, precipitação e altitude podem afetar o teor de polifenóis das plantas. Além disso, o grau de maturação está diretamente relacionado as concentrações e proporções de vários polifenóis que influenciam nas propriedades organolépticas, valor nutricional e a capacidade antioxidante de uvas (ZHU et al., 2016). O S-ABA exógeno pode causar a antecipação da maturação, esse efeito foi observado nas

uvas 'Crimson Seedless' e 'Cabernet Sauvignon', desta forma, o aumento nas concentrações de polifenóis pode estar relacionado ao grau de maturação da uva (BALINT; REYNOLDS, 2013; FERRARA et al., 2015).

Em relação à firmeza das bagas, verificou-se que bagas tratadas com S-ABA apresentaram as menores médias (Tabela 5.4.1.2). Entretanto em nenhuma das safras avaliadas foi observada a presença de bagas rachadas da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida ao tratamento com S-ABA, desta forma, a aplicação exógena não resultou em alterações sobre essa condição física dos seus cachos.

A firmeza é uma característica relevante para o manuseio pós-colheita de cultivares destinadas ao mercado de fruta fresca, influenciando no tempo de prateleira dos cachos (BATISTA et al., 2015). Além de desempenhar um papel importante nas respostas adaptativas ao estresse em tecidos vegetais, o ABA é um fator chave na regulação de diversos eventos durante a maturação da uva incluindo acúmulo de antocianinas e de açúcar, declínio dos ácidos e amolecimento da baga (WHEELER et al., 2009; GAMBETTA et al., 2010; GIRIBALDI; HARTUNG; SCHUBERT, 2010; KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010; GAGNÉ et al., 2011; GU; JACOBS; DU, 2011; FERRANDINO; LOVISOLO, 2014). A aplicação do regulador vegetal pode causar diminuição na rigidez e afrouxamento da parede celular (THOMAS; SHACKEL; MATTHEWS, 2008; WADA; SHACKEL; MATTHEWS, 2008; GAMBETTA et al., 2010).

O tratamento com S-ABA exógeno nos cachos pode resultar na alteração da regulação de proteínas da parede celular ricas em prolina e também pela indução dos genes associados a parede celular, como a Poligalacturonase (PG1), cujos genes codificam enzimas que promovem a solubilização e a despolimerização das pectinas (KOYAMA; SADAMATSU; GOTO-YAMAMOTO, 2010). O efeito do S-ABA sobre a firmeza da baga foi também observado na uva 'Flame Seedless', causando amolecimento semelhante à aplicação de etefom (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2006), bem como em uvas 'Crimson Seedless' (LURIE et al., 2009) e 'Redglobe' (PEPPI; FIDELIBUS; DOKOOZLIAN, 2007).

#### 5.4.2 Experimento da Safra 2015

Verificou-se que as bagas dos tratamentos com aplicação de S-ABA começaram a apresentar concentração de antocianinas totais superior ao controle a partir de uma semana após a primeira aplicação, aos 21DAV (Tabela 5.4.2.1).

**Tabela 5.4.2.1** - Quantificação de antocianinas totais e individuais da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com S-ABA. Safra 2015. Marialva, PR.

Coletas das amostras	Tratamentos (concentração em mg L <sup>-1</sup> )	Antocianinas totais (mg g <sup>-1</sup> )	Antocianinas (mg L <sup>-1</sup> )				
			Delfinidina-3-glicosídeo	Cianidina-3-glicosídeo	Petunidina-3-glicosídeo	Peonidina-3-glicosídeo	Malvidina-3-glicosídeo
7DAV	Controle	0,07 ± 0,01	-	-	2,53 ± 0,43	-	-
	S-ABA 400 (7DAV)	0,06 ± 0,01	-	-	2,05 ± 0,38	-	-
	S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	0,06 ± 0,01	-	-	1,53 ± 0,39	-	-
	F	1,09 <sup>ns</sup>	-	-	3,28 <sup>ns</sup>	-	-
	CV (%)	10,11	-	-	20,90	-	-
14DAV	Controle	0,23 ± 0,09 b	-	0,08 ± 0,32 c	3,07 ± 0,83	1,33 ± 0,48 b	-
	S-ABA 400 (7DAV)	0,50 ± 0,13 a	-	4,85 ± 0,43 a	2,35 ± 1,00	7,80 ± 0,05 a	-
	S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	0,40 ± 0,13 a	-	2,80 ± 0,86 b	2,08 ± 0,07	5,10 ± 1,60 a	-
	F	12,40*	-	11,80*	1,89 <sup>ns</sup>	9,82*	-
	CV (%)	20,90	-	35,56	27,29	37,05	-
28DAV	Controle	0,56 ± 0,17 b	0,10 ± 0,01 b	7,53 ± 2,33 b	2,03 ± 0,33	12,57 ± 4,94 b	0,23 ± 0,88 b
	S-ABA 400 (7DAV)	1,54 ± 0,08 a	0,12 ± 0,03 b	20,58 ± 1,01 a	1,40 ± 0,58	45,93 ± 3,48 a	3,13 ± 0,98 a
	S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	1,57 ± 0,05 a	0,38 ± 0,03 a	26,23 ± 2,43 a	0,95 ± 0,57	40,03 ± 7,17 a	2,40 ± 0,01 a
	F	55,20*	57,75*	41,13*	1,72 <sup>ns</sup>	21,06*	11,45*
	CV (%)	12,49	19,75	14,25	43,02	20,43	40,24
35DAV	Controle	0,70 ± 0,04 c	0,10 ± 0,01 c	9,70 ± 0,77 c	1,60 ± 0,94	15,88 ± 2,91 c	0,25 ± 0,06 b
	S-ABA 400 (7DAV)	1,52 ± 0,02 b	1,52 ± 0,50 b	21,58 ± 1,82 b	1,00 ± 0,13	46,40 ± 1,86 b	5,35 ± 1,58 a
	S-ABA 400 (7DAV) + 400 (21DAV)	1,65 ± 0,01 a	3,11 ± 0,62 a	29,70 ± 1,19 a	0,93 ± 0,23	54,47 ± 2,36 a	4,60 ± 2,07 a
	F	56,50*	25,34*	88,84*	0,77 <sup>ns</sup>	141,22*	7,92*
	CV (%)	2,90	38,54	10,27	63,64	8,76	58,69

<sup>(1)</sup> Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). ns: não significativo. \*: significativo ( $p < 0,05$ ). Controle: sem aplicação; 400: 400 mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA sete dias antes do *veraison* (DAV); 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA aos 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> 21DAV. “-”: não detectado.

Supõe-se que o tratamento exógeno de S-ABA simula situações de estresse na planta, visto que a concentração endógena de ABA é geralmente baixa. Entretanto, uma elevação considerável na concentração endógena de ABA é observada em tecidos vegetativos submetidos a estresses ambientais (KELLER, 2015). Desta forma, acredita-se que a aplicação em altas concentrações fazem com que a planta interprete esse estímulo principalmente como sendo déficit hídrico, uma vez que, analisando os efeitos do S-ABA sobre uvas destinadas ao processamento, a aplicação desse regulador vegetal induziu o armazenamento de ABA como ABA- $\beta$ -D-glicosil éster (ABA-GE) nas células (BALINT; REYNOLDS, 2013).

Sabe-se que em situações de estresse hídrico, o ABA livre é inativado por conjugação com monossacarídeos e armazenado no vacúolo na forma de ABA-GE (CASTELLARIN et al., 2015). Além disso, o estresse hídrico altera o metabolismo secundário das uvas, aumentando significativamente os níveis dos flavonoides, principalmente a biossíntese de antocianinas (GOULD; DAVIES; WINEFIELD, 2009). As antocianinas protegem a planta contra fatores abióticos e bióticos que causam estresse, reduzindo a propensão à foto inibição ou atenuado os efeitos da seca e do estresse oxidativo (GOULD; DAVIES; WINEFIELD, 2009; ZHANG et al., 2016).

Posteriormente, uma semana após a segunda aplicação (28DAV), o tratamento com S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV e o tratamento com duas aplicações de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>, aos 7DAV e aos 21DAV, apresentaram concentração de antocianinas totais quase três vezes maior do que o controle, sem, entretanto, diferirem entre si. Desta forma, foi possível observar que mesmo três semanas após a primeira aplicação (28DAV), o tratamento com apenas uma aplicação de S-ABA aos 7DAV apresentou concentração de antocianinas totais semelhante ao tratamento com duas aplicações de S-ABA. Esses resultados sugerem que o S-ABA exógeno pode ter efeito por um longo período sobre o acúmulo de antocianinas, porém demorou um tempo maior para fazer efeito após a sua segunda aplicação. Em uvas 'Carménère', o aumento das concentrações de antocianinas das bagas tratadas com S-ABA 100 mg L<sup>-1</sup> antes do *veraison* foi observado do *veraison* até a colheita, o que demonstra o longo mecanismo de ação do regulador vegetal (VILLALOBOS-GONZÁLEZ et al., 2016). No entanto, a alteração na produção de antocianinas com o tratamento exógeno de reguladores vegetais pode levar dias

para se manifestar, como na uva híbrida 'Beihong', em que a concentração de antocianinas aumentou somente após 14 dias da sua aplicação (WANG et al., 2016).

No momento da colheita das uvas, realizada aos 35DAV, ou seja, quatro semanas após a primeira aplicação e duas semanas após a segunda aplicação, houve influência da segunda aplicação de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> sobre o acúmulo das antocianinas totais, sendo que o tratamento com duas aplicações efetivamente foi superior ao tratamento com somente uma aplicação. Portanto, o aumento na concentração de antocianinas totais com a aplicação de S-ABA é resultante de uma ação temporária do S-ABA, visto que, comparando-se as médias observadas aos 28DAV e 35DAV, a concentração de antocianinas do tratamento com somente uma aplicação manteve-se praticamente constante.

Pode-se então inferir que ocorre uma diminuição da ação do S-ABA com o tempo, assim como uma elevação dos seus níveis com a segunda aplicação, o que permite manter ou aumentar sua atividade, o que explicaria o aumento da concentração de antocianinas totais de uma semana para outra, resultando em uma diferença significativa entre os tratamentos.

A redução rápida, em apenas algumas semanas, nos níveis de S-ABA foi relatada na uva 'Cabernet Sauvignon' com aplicação de 400 mg L<sup>-1</sup> após o *veraison*, o que foi atribuído à degradação por enzimas vegetais, oxidação ou por conjugação com monossacarídeos (S-ABA-GE), resultando no seu armazenamento (FERRARA et al., 2013). Além disso, há naturalmente uma redução drástica dos níveis de ABA entre a metade da maturação até o ponto de colheita (OWEN et al., 2009).

Verificou-se o aumento das concentrações de cianidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo uma semana após a primeira aplicação de S-ABA (14DAV). A segunda aplicação de S-ABA estimulou o acúmulo das antocianinas delphinidina-3-glicosídeo e cianidina-3-glicosídeo aos 28DAV, apresentando diferenças em relação ao controle e também ao tratamento com apenas uma aplicação. As concentrações das antocianinas peonidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo aumentaram com o S-ABA exógeno, entretanto não sofreu influência da segunda aplicação do regulador.

No momento da colheita das uvas (35DAV), a peonidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-glicosídeo foram os pigmentos dominantes em todos os tratamentos.

As antocianinas delfinidina-3-glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo tiveram maior acúmulo com a segunda aplicação de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>, entretanto, não houve influência do número de aplicações para a malvidina-3-glicosídeo. As cinco principais antocianinas na uva diferem umas das outras no número e posições dos grupos hidroxila (OH) e metila (CH<sub>3</sub>) presos ao anel B da sua molécula. A cianidina e a peonidina são di-hidroxiladas precursoras de antocianinas vermelhas na casca da uva, enquanto a delfinidina, petunidina e malvidina são tri-hidroxiladas precursoras de antocianinas azuis e roxas (LIANG et al., 2009; AZUMA et al., 2015).

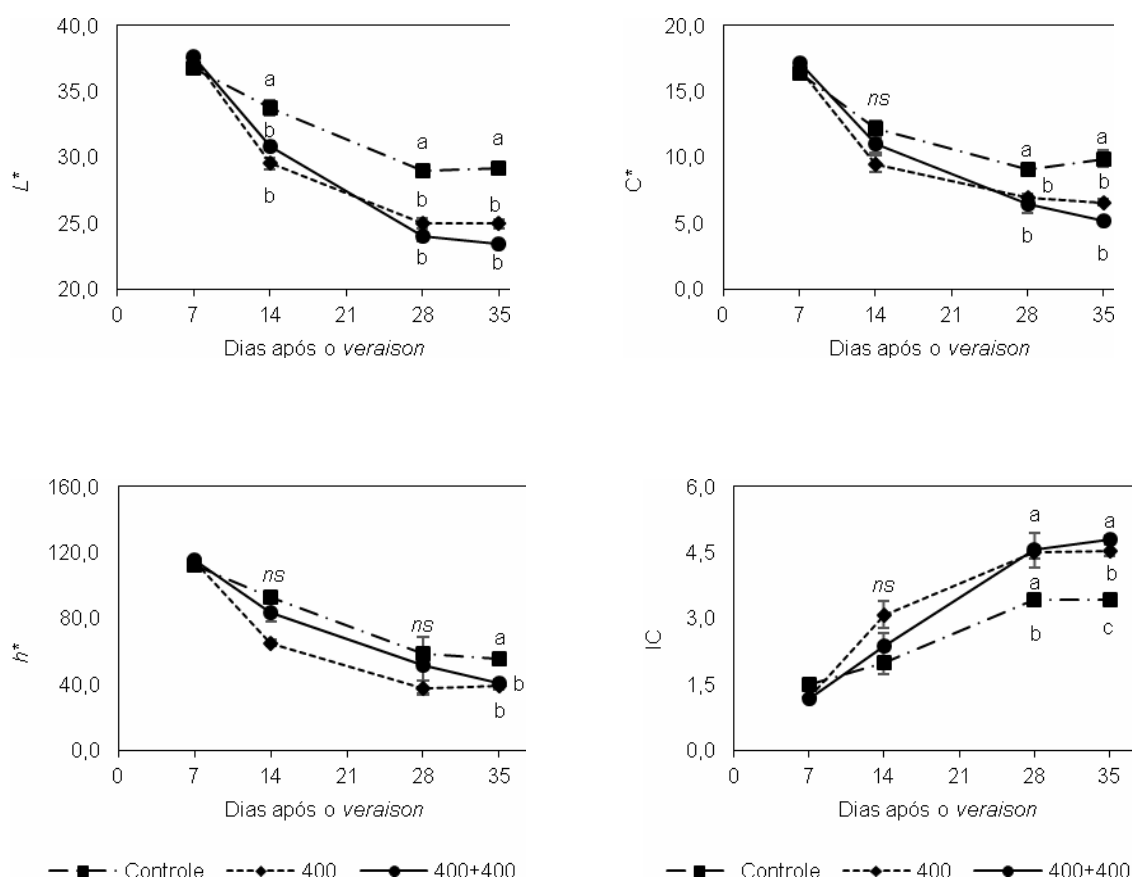
Desta forma, o aumento da concentração das antocianinas peonidina e malvidina -3-glicosídeo confirma o menor ângulo  $h^\circ$  (Figura 5.4.2.1) apresentado nos atributos de cor pelos tratamentos com aplicação de S-ABA. Em particular, a tonalidade é afetada pelo padrão de hidroxilação e metilação das antocianinas, portanto a maior concentração das antocianinas metiladas em comparação ao controle, contribuem para a diminuição do ângulo  $h^\circ$  e conseqüentemente o desenvolvimento de bagas mais vermelhas (COSTANTINI et al., 2015).

O acúmulo das antocianinas de forma individual em uvas pode ser induzido pela aplicação de S-ABA, e que os resultados variam de acordo com a cultivar. Em uvas muscadíneas, foi avaliado o efeito do S-ABA aplicado no *veraison* e aos 8 a 13DAV nas uvas muscadíneas 'Noble' e 'Alachua', respectivamente. A uva 'Noble' apresentou maior acúmulo em todas as antocianinas avaliadas com aplicação do regulador vegetal. Entretanto, o mesmo não ocorreu para a uva 'Alachua', que apresentou incremento apenas no acúmulo da antocianina peonidina-3-diglicosídeo em relação ao controle (SANDHU et al., 2011).

Alterações na proporção entre as antocianinas de forma individual também foram observadas em uva 'Cabernet Sauvignon' com efeito da aplicação do S-ABA sobre as antocianinas tanto nas bagas no quanto vinho (GONZÁLEZ et al., 2012). Em uva 'Isabel' a aplicação do S-ABA promoveu o acúmulo das antocianinas de forma individual, tanto no mosto quanto no suco integral processado (YAMAMOTO et al., 2015). Situação semelhante foi também observada em vinhos produzidos com uvas 'Merlot' tratadas com mistura racêmica (S-ABA e R-ABA) de ABA exógeno ( $\pm$ ABA, Kaixinyu Co.- Shanxi, China), que além de mudar a proporção

das antocianinas, aumentou os compostos fenólicos totais, flavonóis e atividade antioxidante (ZHU et al., 2016). Entretanto, deve ser considerado que a utilização de mistura racêmica desses enantiômeros pode originar diferentes respostas quando aplicado nas plantas, uma vez que o *R*-ABA não é encontrado nas plantas, sendo pouco ativo e menos eficaz que o *S*-ABA, e desta maneira, os efeitos das duas formas podem ser diferentes na indução da expressão de genes e respostas fisiológicas (ZHANG, 2014).

Com relação aos atributos de cor, as uvas que receberam aplicação de *S*-ABA apresentaram menor luminosidade ( $L^*$ ), menor saturação ( $C^*$ ) e menor matiz ( $h^\circ$ ) (Figura 5.4.2.1). Essas variáveis indicam bagas mais escuras, com menos brilho e mais vermelhas, visto que, quanto menor o ângulo de  $h^\circ$  mais vermelha será a cor (LIMA; MELO; GUERRA, 2007).



**Figura 5.4.2.1** - Luminosidade ( $L^*$ ), saturação ( $C^*$ ), tonalidade ( $h^\circ$ ) e índice de cor (IC) de bagas da uva apirena Seleção Embrapa 21 submetida a diferentes tratamentos com *S*-ABA. Safra 2015. Marialva, PR.

Controle: sem aplicação; 400: 400 mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 7 dias após o *veraison* (DAV); 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV. Médias dos tratamentos seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). *ns*: não significativo.

Resultados semelhantes foram obtidos em uvas 'Flame Seedless' para as variáveis  $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^\circ$ , em que as diferenças com a testemunha se acentuaram conforme o aumento concentração na concentração do S-ABA (PEPPI; FIDELIBUS, 2008). O mesmo foi observado em uvas 'Crimson Seedless' em que a aplicação do S-ABA resultou em menores médias de  $L^*$  e  $h^\circ$  (PEPPI; WALKER; FIDELIBUS, 2008).

Em relação ao índice de cor das bagas (IC), verificou-se diferenças significativas somente a partir dos 28DAV, os tratamentos com S-ABA apresentaram médias superiores ao controle. No momento da colheita, aos 35DAV, as uvas que receberam duas aplicações do regulador vegetal apresentaram as maiores médias (Figura 5.4.2.1), sendo que as bagas do controle apresentaram cor rosa (IC=3,4) e os tratamentos com uma ou duas aplicações de S-ABA apresentaram cor vermelha (IC=4,5 e 4,8, respectivamente), conforme escala de cor descrita por Carreño et al. (1995) e Orak (2007).

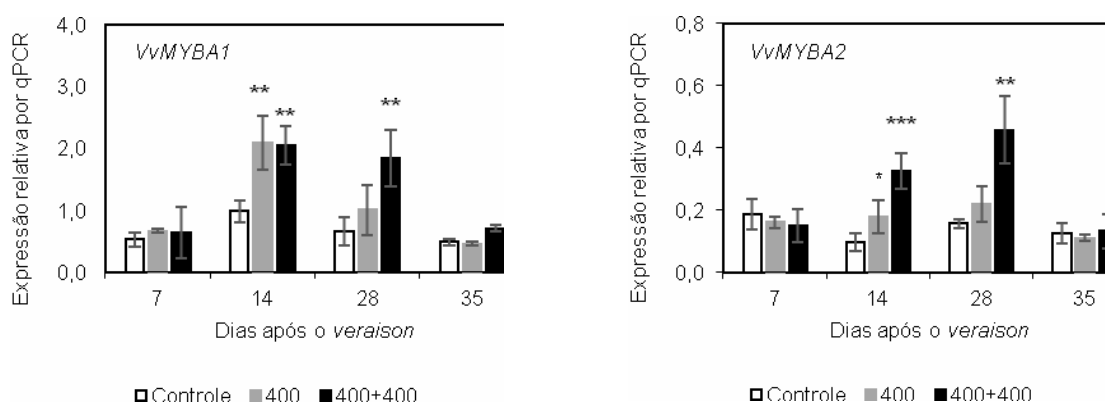
Resultados semelhantes foram obtidos em uvas 'Crimson Seedless', foram testadas épocas de aplicação de S-ABA e de sacarose, no *veraison* e aos 5DAV, de acordo com o IC, os cachos do controle apresentaram variação de cor entre rosa e vermelho, e os tratados com S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> aplicado no início do *veraison* apresentaram cor entre violeta e azul. O S-ABA exógeno proporcionou, além da melhora da cor e da atratividade do cacho, diminuição do tempo da colheita em 2 semanas, o que pode se tornar uma grande vantagem para a comercialização das uvas (FERRARA et al., 2015).

A cor das bagas sofre influência tanto da concentração das antocianinas totais como da sua composição, uma vez que, as antocianinas individuais possuem diferentes características quanto à cor e a estabilidade (MORI et al., 2005). O S-ABA influenciou a concentração e na proporção entre os diferentes tipos de antocianinas da uva apirena Seleção Embrapa 21 (Tabela 5.4.2.1). A sua

aplicação teve efeitos significativos sobre as concentrações das antocianinas individuais, exceto para a petunidina-3-glicosídeo, que não sofreu alteração alguma.

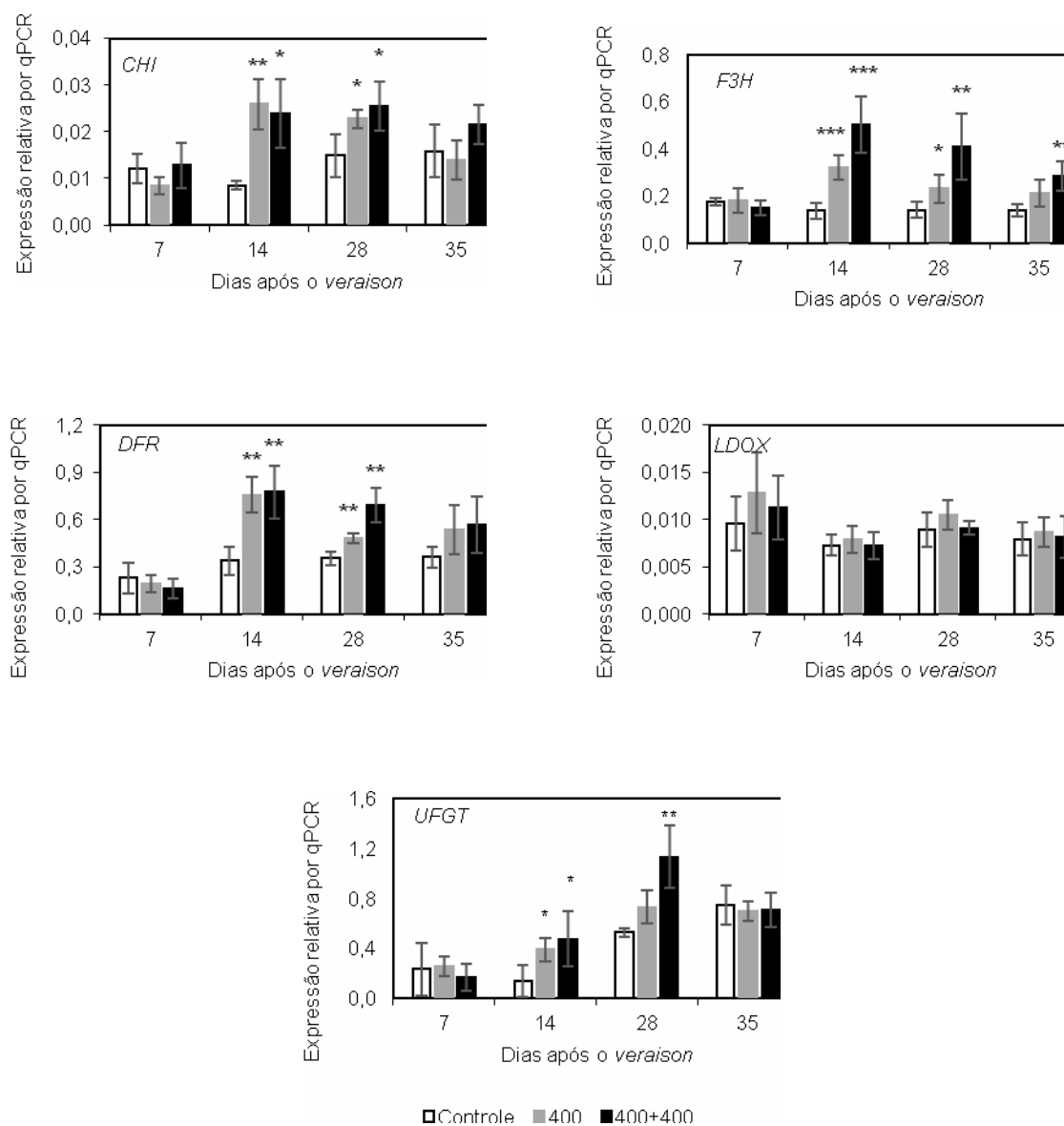
O ABA desempenha papéis importantes ao longo do ciclo de vida de uma planta, e grande parte da sua função está relacionada à ativação e inativação de genes. A ativação gênica pelo ABA é mediada pelos fatores de transcrição, e foi verificado que a aplicação de S-ABA induz a expressão de genes envolvidos na rota biossintética das antocianinas em bagas de uvas (PEPPI; WALKER; FIDELIBUS, 2008; WANG et al., 2016).

O tratamento S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV aumentou significativamente a expressão dos fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*, e dos genes estruturais *CHI*, *F3H*, *DFR* e *UFGT*, uma semana após a sua aplicação (Figuras 5.4.2.2 e 5.4.2.3). Após três semanas da aplicação do tratamento, a expressão dos genes *CHI*, *F3H* e *DFR* manteve-se mais elevadas, contudo, o mesmo não foi observado para os fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*, e para o gene *UFGT*. Quatro semanas após a primeira aplicação (35DAV), a expressão dos genes e dos fatores de transcrição das bagas que receberam uma aplicação de S-ABA não apresentaram diferenças nos níveis de transcrição em relação ao controle.



**Figura 5.4.2.2** - Efeito do tratamento com S-ABA exógeno sobre os fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*, envolvidos na via biossintética das antocianinas na casca das bagas da uva Seleção Embrapa 21 durante a maturação. Safra 2015. Os asteriscos indicam diferenças significativas em relação ao controle, detectadas pelo teste *t* (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ). Controle: sem aplicação; 400: 400

mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA aos 7 dias após o *veraison* (DAV); 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV.



**Figura 5.4.2.3** - Efeito do tratamento com S-ABA exógeno sobre os níveis de transcrição dos genes estruturais *CHI*, *F3H*, *DFR*, *LDOX* e *UFGT*, envolvidos na via biossintética das antocianinas na casca das bagas da uva Seleção Embrapa 21 durante a maturação. Safra de 2015. Os asteriscos indicam diferenças significativas em relação ao controle, detectadas pelo teste *t* (\**p* < 0,05; \*\**p* < 0,01; \*\*\**p* < 0,001). Controle: sem aplicação; 400: 400 mg·L<sup>-1</sup> de S-ABA

aos 7 dias após o *veraison* (DAV); 400+400: 400 mg·L<sup>-1</sup> S-ABA 7DAV + 400 mg·L<sup>-1</sup> aos 21DAV.

Acredita-se que a estimulação temporária na transcrição do gene está relacionada à diminuição da concentração do S-ABA com o tempo. Em uva 'Crimson Seedless', a redução dos níveis de S-ABA nas bagas das uvas tratadas mostrou-se constante, com tempo de meia-vida de 14,7 dias (FERRARA et al., 2013). Muitos genes relacionados às respostas de defesa ou estresse abióticos são expressos somente quando os níveis de ABA são elevados (CHEN, 2015). Desta forma, com a diminuição natural da concentração do ABA associado ao declínio dos níveis de S-ABA, alguns genes podem ter diminuído sua atividade em função da concentração do S-ABA na planta.

Resultados semelhantes foram observados em uvas 'Crimson Seedless', a aplicação de S-ABA aumentou consideravelmente os níveis de expressão do gene *UFGT* aos sete dias após a aplicação, entretanto, três semanas após o tratamento, os níveis caíram, situando-se próximos ao do controle (PEPPI; WALKER; FIDELIBUS, 2008). Em análises de expressão gênica da rota de biossíntese de antocianinas realizadas com uvas 'Cabernet Sauvignon' tratadas com  $\pm$  *cis*, *trans*-ABA (Sigma, Saint Quentin Fallavier, France), foram necessários de 10 a 17 dias após a aplicação para que os genes atingissem os níveis máximos de expressão que, em seguida, diminuíram rapidamente (LACAMPAGNE; GAGNÉ; GÉNY, 2010). As configurações *cis* e *trans* de ABA depende da orientação do grupo carboxila no carbono 2, e o isômero *cis*-ABA é a única forma que apresenta atividade biológica e representa quase a totalidade do ABA produzido no tecido vegetal. Entretanto, ao contrário dos enantiômeros *S* e *R*, os isômeros *cis* e *trans* podem ser interconvertidos no tecido vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2009).

As aplicações de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> 7DAV e aos 21DAV induziram a expressão dos genes *CHI*, *F3H*, *DFR* e *UFGT*, e dos fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2* nas bagas analisadas aos 14DAV e aos 28DAV. O gene *F3H* foi o mais afetado pela aplicação de S-ABA, mantendo os níveis de expressão acima do controle até os estádios finais da maturação das bagas aos 35DAV, visto que, os demais genes não apresentaram diferença em relação ao controle nessa fase. Desta

forma, pode-se inferir que uma segunda aplicação do S-ABA contribui para manter a expressão dos fatores de transcrição e dos genes *F3H* e *UFGT* acima dos níveis do controle por um tempo prolongado.

As antocianinas são produzidas através de múltiplas vias que são controladas pelos fatores de transcrição MYB que são responsivos ao ABA, e estão associados à regulação dos genes estruturais *CHI*, *F3H*, *DFR*, *LDOX* e *UFGT* (ALI et al., 2011; PETRONI; TONELLI, 2011). Os fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2* ativam a biossíntese de antocianinas na videira e não são funcionais em cultivares de uva branca (RINALDO et al., 2015). Os fatores de transcrição afetam a proporção das antocianinas tri/di- hidroxiladas através da trans-regulação da expressão dos genes flavonoide 3- hidroxilase (*F3'H*) e flavonoide 3'5' hidroxilase (*F3',5'H*) (AZUMA et al., 2015).

Na biossíntese das antocianinas, a *F3H* é responsável pela hidroxilação da naringenina na posição 3' produzindo dihidrokaempferol, um dihidroflavonol, que pode ser hidrolisado na posição 3' ou 5' do anel B pelas enzimas *F3'H* ou *F3',5'H*, que determinam a hidroxilação do anel B dos flavonoides. A atividade da *F3'H* promove o acúmulo dos grupos das antocianinas cianidina e peonidina, enquanto a atividade da *F3',5'H* resulta na produção dos grupos da delphinidina e suas derivadas petunidina e malvidina. As duas enzimas competem pelo controle da síntese de antocianinas di- hidroxiladas e tri- hidroxiladas (ROUBELAKIS-ANGELAKIS, 2009).

O tratamento com duas aplicações de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup> na uva apirena Seleção Embrapa 21 favoreceu, principalmente, o acúmulo de delphinidina-3-glicosídeo e malvidina-3-glicosídeo (Tabela 5.4.2.1), diminuindo assim, a diferença entre as concentrações das antocianinas di- hidroxiladas e tri- hidroxiladas. Esses resultados corroboram com os obtidos em uva Aki Queen' (*V. labruscana*), em que aplicação do S-ABA favoreceu a expressão do gene *F3',5'H* em relação à *F3'H*. Além disso, observou-se que a concentração dos grupos petunidina e malvidina aumentou, e conseqüentemente, aumentou a proporção das antocianinas tri-hidroxiladas sobre a porcentagem das antocianinas totais, diminuindo o grupos das antocianinas cianidina e peonidina (KATAYAMA-IKEGAMI et al., 2016).

A aplicação do S-ABA resultou no aumento da expressão do gene *UFGT* assim como dos fatores de transcrição aos 28DAV, o que não foi observado

no tratamento com apenas uma aplicação. Isso ocorreu pois há evidências que o acúmulo de antocianinas se inicia a partir do momento em que ocorre a indução da expressão de todos os genes envolvidos na rota biossintética, especialmente o *UFGT* (DAVIES; BOSS; ROBINSON, 1997).

Antes das antocianinas serem transportadas, estas devem ser estabilizadas por meio da adição de um resíduo de glicose a posição 3 do anel C, visto que, as antocianidinas (antocianinas sem os açúcares) são instáveis e facilmente degradáveis à compostos incolores (CASTELLARIN et al., 2007). A enzima *UFGT* catalisa a última etapa da biossíntese da antocianina e é considerada por muitos autores uma enzima chave nesse processo, pois, verificou-se que os transcritos de *UFGT* estavam presentes apenas nas bagas de uva 'Shiraz' que produzem antocianinas (DAVIES; BOSS; ROBINSON, 1997).

Diante do exposto, foi possível observar que a aplicação de S-ABA na uva apirena Seleção Embrapa 21 aumenta a concentração das antocianinas totais, altera a proporção das antocianinas individuais nas bagas, melhora os seus atributos de cor e aumenta a expressão dos fatores de transcrição e dos genes estruturais *CHI*, *F3H*, *DFR* e *UFGT*. Assim, duas aplicações de S-ABA 400 mg L<sup>-1</sup>, aos 7DAV e aos 21DAV proporcionam os melhores resultados no incremento da cor, na concentração de antocianinas totais, favorecem o acúmulo de antocianinas tri-hidroxiladas e elevação da expressão dos fatores de transcrição e dos genes *F3H* e *UFGT*. Por fim, o S-ABA torna-se um grande aliado não só para melhorar a cor de uvas tintas em regiões quentes, em que a deficiência de cor é frequentemente observada, mas também como uma ferramenta que pode ser útil em programas de melhoramento genético de uvas, mantendo candidatas a se tornarem cultivares seleções carentes em cor, mas que apresentam características desejáveis, como por exemplo, alta produção e tolerância às principais doenças.

## 5.5 CONCLUSÃO

O S-ABA exógeno propicia maior o acúmulo de antocianinas totais na casca das bagas e melhora significativamente os atributos de cor da uva apirena Seleção Embrapa 21, sendo que duas aplicações de 400 mg L<sup>-1</sup>, aos 7DAV e aos 21DAV, resultam em aumento da concentração das antocianinas delphinidina-3-

glicosídeo, cianidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo e peonidina-3-glicosídeo, e elevação da expressão dos genes estruturais *CHI*, *F3H*, *DFR* e *UFGT* e dos fatores de transcrição *VvMYBA1* e *VvMYBA2*.

## 5.6 REFERÊNCIAS

ALI, M. B.; HOWARD, S.; CHEN, S.; WANG, Y.; YU, O.; KOVACS, L. G.; QIU, W. Berry skin development in Norton grape: distinct patterns of transcriptional regulation and flavonoid biosynthesis. **BMC plant biology**, Londres, v.11, n.1, p.7, 2011.

AZUMA, A.; BAN, Y.; SATO, A.; KONO, A.; SHIRAISHI, M.; YAKUSHIJI, H.; KOBAYASHI, S. MYB diplotypes at the color locus affect the ratios of tri/di-hydroxylated and methylated/non-methylated anthocyanins in grape berry skin. **Tree Genetics and Genomes**, Davis, v.11, n.2, p.31-44, 2015.

BALINT, G.; REYNOLDS, A. G. Impact of exogenous Abscisic acid on vine physiology and grape composition of cabernet sauvignon. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.64, n.1, p.74–87, 2013.

BATISTA, P. F.; DE LIMA, M. A. C.; LEÃO, P. C. de S.; SOUZA, F. de F.; ALVES, R. E. Divergência genética entre variedades de videiras do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido. **Revista Ciencia Agronomica**, Fortaleza, v.46, n.4, p.800–808, 2015.

BERLI, F. J.; FANZONE, M.; PICCOLI, P.; BOTTINI, R. Solar UV-B and ABA are involved in phenol metabolism of *Vitis vinifera* L. Increasing biosynthesis of berry skin polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Davis, v.59, n.9, p.4874–4884, 2011.

BHERING, S. B.; SANTOS, H. G. **Mapa de solos do estado do Paraná: legenda atualizada**. Rio de Janeiro: IAPAR, 2008. 74 p.

BORGES, R. D. S.; ROBERTO, S. R.; YAMASHITA, F.; OLIVATO, J. B.; ASSIS, A. M. D. Sensibilidade ao rachamento de bagas das videiras 'Concord', 'Isabel' e 'BRS Rúbea'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.3, p.814-822, 2012.

BLANCO-ULATE, B.; AMRINE, K. C.; COLLINS, T. S.; et al. Developmental and metabolic plasticity of white-skinned grape berries in response to *Botrytis cinerea* during noble rot. **Plant Physiology**, Rockville, v.169, n.1, p.2422–2443, 2015.

BUCIC-KOJIC, A.; PLANINIĆ, M.; TOMAS, S.; BILIĆ, M.; VELIĆ, D. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grapes seeds. **Journal of Food Engineering**, Davis, v.81, n.1, p.236-242, 2007.

CAMARGO, U. A.; TONIETTO, J.; HOFFMANN, A. Progressos na viticultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n. spe, p.144–149, 2011.

CANTÍN, C. M.; FIDELIBUS, M. W.; CRISOSTO, C. H. Application of abscisic acid (ABA) at *veraison* advanced red color development and maintained postharvest quality of 'Crimson Seedless' grapes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.46, n.3, p.237–241, 2007.

CARREÑO, J.; MARTÍNEZ, A.; ALMELA, L.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Proposal of an index for the objective evaluation of the colour of red table grapes. **Food Research International**, Monticello, v.28, n.4, p.373–377, 1995.

CASTELLARIN, S. D.; PFEIFFER, A.; SIVILOTTI, P.; DEGAN, M.; PETERLUNGER, E.; DI GASPERO, G. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.30, n.11, p. 1381–1399, 2007.

CASTELLARIN, S. D.; GAMBETTA, G. A.; WADA, H.; KRASNOW, M. N.; CRAMER, G. R.; PETERLUNGER, E.; SHACKEL, K. A.; MATTHEWS, M. A. Characterization of major ripening events during softening in grape: Turgor, sugar accumulation, abscisic acid metabolism, colour development, and their relationship with growth. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.67, n.3, p.709–722, 2015.

CAVIGLIONE, J. H.; KIIHL, L. R. B.; CARAMORI, P. H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000.

CHASSY, A. W.; ADAMS, D. O.; LAURIE, V. F.; WATERHOUSE, A. L. Tracing phenolic biosynthesis in *Vitis vinifera* via in situ C-13 labeling and liquid chromatography-diodearray detector-mass spectrometer/mass spectrometer detection. **Analytica Chimica Acta**, v.747, n.1, p.51–57, 2012.

CHEN, C. **Pigments in fruits and vegetables**: Genomics and dietetics. Netherlands: Springer, 1<sup>o</sup>ed. 2015, 277p.

COSTANTINI, L.; MALACARNE, G.; LORENZI, S.; TROGGIO, M.; MATTIVI, F.; MOSER, C.; GRANDO, M. S. New candidate genes for the fine regulation of the colour of grapes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.66, n.15, p.4427–4440, 2015.

DAVIES, C.; BOSS, P. K.; ROBINSON, S. P. Treatment of Grape Berries, a Nonclimacteric Fruit with a Synthetic Auxin, Retards Ripening and Alters the Expression of Developmentally Regulated Genes. **Plant physiology**, Rockville, v.115, n.1, p.1155–1161, 1997.

FERRANDINO, A.; LOVISOLO, C. Abiotic stress effects on grapevine (*Vitis vinifera* L.): Focus on abscisic acid-mediated consequences on secondary metabolism and berry quality. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v.103, n.1, p.138–147, 2014.

FERRARA, G.; MAZZEO, A.; MATARRESE, A. M. S.; PACUCCI, C.; PACIFICO, A.;

GAMBACORTA, G.; FACCIA, M.; TRANI, A.; GALLO, V.; CAFAGNA, I.; MASTRORILLI, P. Application of Abscisic Acid (S-ABA) to 'Crimson Seedless' Grape Berries in a Mediterranean Climate: Effects on Color, Chemical Characteristics, Metabolic Profile, and S-ABA Concentration. **Journal of Plant Growth Regulation**, Londres, v.32, n.3, p.491–505, 2013.

FERRARA, G.; MAZZEO, A.; MATARRESE, A. M. S.; PACUCCI, C.; PUNZI, R.; FACCIA, M.; TRANI, A.; GAMBACORTA, G. Application of abscisic acid (S-ABA) and sucrose to improve colour, anthocyanin content and antioxidant activity of cv. Crimson Seedless grape berries. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.21, n.1, p.18–29, 2015.

GAGNÉ, S.; CLUZET, S.; MÉRILLON, J.-M.; GÉNY, L. ABA Initiates Anthocyanin Production in Grape Cell Cultures. **Journal of Plant Growth Regulation**, Londres, v.30, n.1, p.1–10, 2011.

GAMBETTA, G. A.; MATTHEWS, M. A.; SHAGHASI, T. H.; MCELDRONE, A. J.; CASTELLARIN, S. D. Sugar and abscisic acid signaling orthologs are activated at the onset of ripening in grape. **Planta**, Nova York, v.232, n.1, p.219–234, 2010.

GIRIBALDI, M.; HARTUNG, W.; SCHUBERT, a. The effects of abscisic acid on grape berry ripening are affected by the timing of treatment. **International Journal of Vine and Wine Science**, Bordeaux, n. esp, p.9–15, 2010.

GONZÁLEZ, Á. S.; OLEA, P.; BORDEU, E.; ALCALDE, J. A.; GÉNY, L. S-Abscisic acid, 2-chloroethylphosphonic acid and indole-3-acetic acid treatments modify grape (*Vitis vinifera* L. 'Cabernet Sauvignon') hormonal balance and wine quality. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.51, n.2, p.45–52, 2012.

GOULD, K.; DAVIES, K. M.; WINEFIELD, C. **Anthocyanins biosynthesis, functions and applications**. Netherlands: Springer, 2009. 329p.

GU, S.; JACOBS, S.; DU, G. Efficacy, rate and timing of applications of abscisic acid to enhance fruit anthocyanin contents in 'Cabernet Sauvignon' grapes. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Berlin, v.86, n.5, p.505–510, 2011.

HE, F.; MU, L.; YAN, G. L.; LIANG, N. N.; PAN, Q. H.; WANG, J.; REEVES, M. J.; DUAN, C. Q. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. **Molecules**, Basel, v.15, n.12, p.9057–9091, 2010.

JEONG, S. T.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KOBAYASHI, S.; ESAKA, M. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. **Plant Science**, Londres, v.167, n.2, p.247–252, 2004.

KATAYAMA-IKEGAMI, A.; SAKAMOTO, T.; SHIBUYA, K.; KATAYAMA, T. Effects of Abscisic Acid Treatment on Berry Coloration and Expression of Flavonoid Biosynthesis Genes in Grape. **American Journal of Plant Sciences**, Irvine, v.7, n.1, p.1325–1336, 2016.

KELLER, M. **The science of grapevines: anatomy and physiology**. 2 ed.

Amsterdam: Elsevier. 2015. 509p.

KOYAMA, K.; SADAMATSU, K.; GOTO-YAMAMOTO, N. Abscisic acid stimulated ripening and gene expression in berry skins of the Cabernet Sauvignon grape. **Functional and Integrative Genomics**, Lisboa, v.10, n.3, p.367–381, 2010.

KOYAMA, R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; BORGES, W. F.; SÁ BORGES, R. de; PRUDÊNCIO, S. H.; ROBERTO, S. R. Exogenous abscisic acid increases the anthocyanin concentration of berry and juice from 'Isabel' grapes (*Vitis labrusca* L.). **HortScience**, Alexandria, v.49, n.4, p.460–464, 2014.

LACAMPAGNE, S.; GAGNÉ, S.; GÉNY, L. Involvement of Abscisic Acid in Controlling the Proanthocyanidin Biosynthesis Pathway in Grape Skin: New Elements Regarding the Regulation of Tannin Composition and Leucoanthocyanidin Reductase (LAR) and Anthocyanidin Reductase (ANR) Activities and Expres. **Journal of Plant Growth Regulation**, Londres, v.29, n.1, p.81–90, 2010.

LANCASTER, J. E.; LISTER, C. E.; REAY, P. F. Y.; TRIGGS, C. M. Influence of pigment composition on skin color in a widerange of fruits and vegetables. **Journal of American Society of Horticultural Science**, Amsterdam, v.122, p.594-598, 1997.

LEÃO, P. C. de S.; LIMA, M. A. C.; COSTA, J. P. D.; DA TRINDADE, D. C. G. Abscisic acid and ethephon for improving red color and quality of crimson seedless grapes grown in a tropical region. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.66, n.1, p.37–45, 2015.

LIANG, Z.; YANG, C.; YANG, J.; WU, B.; WANG, L.; CHENG, J.; LI, S. Inheritance of anthocyanins in berries of *Vitis vinifera* grapes. **Euphytica**, Wageningen, v.167, n.1, p.113–125, 2009.

LIMA, V. L. A. G. de; MÉLO, E. de A.; GUERRA, N. B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.10, n.1, p.51–55, 2007.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. **Methods**, San Diego, v.25, p.402-408, 2001.

LURIE, S.; OVADIA, R.; NISSIM-LEVI, A.; OREN-SHAMIR, M.; KAPLUNOV, T.; ZUTAHY, Y.; WEKSLER, H.; LICHTER, A. Abscisic acid improves colour development in 'Crimson Seedless' grapes in the vineyard and on detached berries. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, Berlin, v.84, n.6, p.639–644, 2009.

MORI, K.; SAITO, H.; GOTO-YAMAMOTO, N.; KITAYAMA, M.; KOBAYASHI, S.; SUGAYA, S.; GEMMA, H.; HASHIZUME, K. Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in Pinot noir grapes. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.44, n.4, p.161–165, 2005.

ORAK, H. H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.111, n.3, p.235–241, 2007.

OWEN, S. J.; LAFOND, M. D.; BOWEN, P.; BOGDANOFF, C.; USHER, K.; ABRAMS, S. R. Profiles of abscisic acid and its catabolites in developing Merlot grape (*Vitis vinifera*) berries. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.60, n.3, p.277–284, 2009.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation, and color of 'Flame Seedless' grapes. **HortScience**, Alexandria, v.41, n.6, p.1440–1445, 2006.

PEPPI, M. C.; FIDELIBUS, M. W.; DOKOOZLIAN, N. K. Application timing and concentration of abscisic acid affect the quality of 'Redglobe' grapes. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Ashford, v.82, n.2, p.304–310, 2007.

PEPPI, M. C.; WALKER, M. A.; FIDELIBUS, M. W. Application of abscisic acid rapidly upregulated UFGT gene expression and improved color of grape berries. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, Siebeldingen, v.47, n.1, p.11–14, 2008.

PETRONI, K.; TONELLI, C. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. **Plant Science**, Londres, v.181, n.3, p.219–229, 2011.

REYNOLDS, A.; ROBBINS, N.; LEE, H.-S.; KOTSAKI, E. Impacts and Interactions of Abscisic Acid and Gibberellic Acid on Sovereign Coronation and Skookum Seedless Table Grapes. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.67, n.3, p.327–338, 1 jul. 2016.

RINALDO, A. R.; CAVALLINI, E.; JIA, Y.; MOSS, S. M. A.; MCDAVID, D. A. J.; HOOPER, L. C.; ROBINSON, S. P.; TORNIELLI, G. B.; ZENONI, S.; FORD, C. M.; BOSS, P. K.; WALKER, A. R. A Grapevine Anthocyanin Acyltransferase, Transcriptionally Regulated by VvMYBA, Can Produce Most Acylated Anthocyanins Present in Grape Skins. **Plant physiology**, Rockville, v.169, n.3, p.1897–916, 2015.

ROBERTO, S. R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; MIOTTO, L. C. V.; SATO, A. J.; KOYAMA, R.; GENTA, W. Application timing and concentration of abscisic acid improve color of 'Benitaka' table grape. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.142, p.44–48, 2012.

ROBERTO, S. R.; DE ASSIS, A. M.; YAMAMOTO, L. Y.; MIOTTO, L. C. V.; KOYAMA, R.; SATO, A. J.; BORGES, R. D. S. Ethephon use and application timing of abscisic acid for improving color of 'Rubi' table grape. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.48, n.7, p.797–800, 2013.

ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A. **Grapevine molecular physiology & biotechnology**. 2 ed. Netherlands: Springer. 2009. 610p.

RYBKA, A. C. P.; DE FREITAS, S. T.; NETTO, A. F.; BIASOTO, A. C. T. Central composite rotatable design approach to optimize 'Italia' raisin drying conditions.

**Comunicata Scientiae**, Bom Jesus, v.6, n.4, p.454, 2015.

SANDHU, A. K.; GRAY, D. J.; LU, J.; GU, L. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant capacities, anthocyanins, and flavonol contents of muscadine grape (*Vitis rotundifolia*) skins. **Food Chemistry**, Berking, v.126, n.3, p.982–988, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.

THOMAS, T. R.; SHACKEL, K. A.; MATTHEWS, M. A. Mesocarp cell turgor in *Vitis vinifera* L. berries throughout development and its relation to firmness, growth, and the onset of ripening. **Planta**, Nova York, v.228, n.6, p.1067–1076, 2008.

VILLALOBOS-GONZÁLEZ, L.; PEÑA-NEIRA, A.; IBÁÑEZ, F.; PASTENES, C. Long-term effects of abscisic acid (ABA) on the grape berry phenylpropanoid pathway: Gene expression and metabolite content. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v.105, n.1, p.213–223, 2016.

WADA, H.; SHACKEL, K. A.; MATTHEWS, M. A. Fruit ripening in *Vitis vinifera*: Apoplastic solute accumulation accounts for pre-*veraison* turgor loss in berries. **Planta**, Nova York, v.227, n.6, p.1351–1361, 2008.

WANG, J.; WANG, S.; LIU, G.; EDWARDS, E. J.; DUAN, W.; LI, S.; WANG, L. The Synthesis and Accumulation of Resveratrol Are Associated with *Veraison* and Abscisic Acid Concentration in Beihong (*Vitis vinifera* × *Vitis amurensis*) Berry Skin. **Frontiers in Plant Science**, Londres, v.7, n.1, p.1–11, 2016.

WHEELER, S.; LOVEYS, B.; FORD, C.; DAVIES, C. The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Adelaide, v.15, n.3, p.195–204, 2009.

YAMAMOTO, L. Y.; DE ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R.; BOVOLENTA, Y. R.; NIXDORF, S. L.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Application of abscisic acid (*S*-ABA) to cv. Isabel grapes (*Vitis vinifera* × *Vitis labrusca*) for color improvement: Effects on color, phenolic composition and antioxidant capacity of their grape juice. **Food Research International**, Amsterdam, v.77, n.1, p.572–583, 2015.

YANG, F. W.; FENG, X. Q. Abscisic acid biosynthesis and catabolism and their regulation roles in fruit ripening. **Phyton**, Buenos Aires, v.84, n.2, p.444–453, 2015.

ZHANG, D.-P. **Abscisic acid: metabolism, transport and signaling**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014. 465p.

ZHANG, N.; SUN, Q.; LI, H.; LI, X.; CAO, Y.; ZHANG, H.; LI, S.; ZHANG, L.; QI, Y.; REN, S.; ZHAO, B.; GUO, Y.-D. Melatonin Improved Anthocyanin Accumulation by Regulating Gene Expressions and Resulted in High Reactive Oxygen Species Scavenging Capacity in Cabbage. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.7, n.3, p.197, 2016.

ZHU, L.; ZHANG, Y.; ZHANG, W.; LU, J. Effects of exogenous abscisic acid on

phenolic characteristics of red *Vitis vinifera* grapes and wines. **Food Science and Biotechnology**, Nova Jersey, v.25, n.2, p.361–370, 2016.