



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

Fábio Ribeiro de Freitas

Adaptação de isolados de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio, frente a mecanismos de defesa conferidos por diferentes genes de resistência em videira.

Florianópolis, fevereiro de 2022.

Fábio Ribeiro de Freitas

Adaptação de isolados de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio, frente a mecanismos de defesa conferidos por diferentes genes de resistência em videira.

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Leocir José Welter

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Ribeiro de Freitas, Fábio

Adaptação de isolados de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio, frente a mecanismos de defesa conferidos por diferentes genes de resistência em videira. / Fábio Ribeiro de Freitas; orientador, Leocir José Welter, 2022.

78 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, 2022.

Inclui referências. 1.

Recursos Genéticos Vegetais. 2. Genética. 3. Melhoramento de plantas. I. Welter, Leocir José. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

Fábio Ribeiro de Freitas

Adaptação de isolados de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio, frente a mecanismos de defesa conferidos por diferentes genes de resistência em videira.

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Leocir José Welter

Universidade Federal de Santa Catarina - Orientador

Dr. Marco Antônio Dalbó

Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina - Membro

Prof. Dr. Rubens Onofre Nodari

Universidade Federal de Santa Catarina - Membro

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

Prof. Dr. Claudio Roberto Fonseca Sousa Soares
Coordenador do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Leocir José Welter
Orientador

Florianópolis, 2022.

Dedico este trabalho a minha família.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Vanderlei e Rosa pelo apoio e coragem que me foi passado, pelo amor incondicional, pelo incentivo e por acreditarem em mim todos os momentos.

Ao meu irmão e parceiro eterno Fabiano, que acreditou e me incentivou em todos os momentos.

Aos meus tios Simoni e Paulo, que me acompanharam e incentivaram em todos os momentos, obrigado por tudo. Obrigado também pela honram em ser padrinho do pequeno João.

Agradeço aos meus avós que muito contribuíram na construção da pessoa que sou hoje, muito obrigado e saudades eternas.

Aos meus familiares que sempre foram fonte de apoio e estímulo a continuar.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Leocir José Welter, por todos os ensinamentos, atenção, apoio, e paciência nessa jornada, os meus agradecimentos, respeito e admiração.

A minha namorada Rebeca que esteve comigo em todos os momentos, muito obrigado nega.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina e os professores do PPGRGV pelos momentos de troca de conhecimentos e informações, não somente no mestrado, mas também na graduação, agradeço muito.

A Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina-Epagri, que possibilitou a execução dessa pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo fornecimento da bolsa que possibilitou a realização desse trabalho.

Ao todos os amigos do grupo NEUVIN que estiveram sempre dispostos a ajudar, muito obrigado.

A banca, por disponibilizar seu tempo e conhecimento para contribuir com este trabalho.

A todos os amigos de Iporã do Oeste, mesmo a distância a nossa amizade foi muito importante para mim.

Aos meus amigos de Florianópolis, pelas risadas, conselhos e conversas, agradecido.

Agradeço a todos que de alguma forma fizeram parte da minha vida e que contribuíram de alguma forma para este momento, obrigado

Resumo

O melhoramento genético da videira com ênfase na resistência a doenças é uma das principais estratégias na promoção da sustentabilidade na vitivinicultura mundial. Contudo, patógenos biotróficos com sistema misto de reprodução e heterotalismo, como o *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira, apresentam alto potencial evolutivo que confere alta capacidade de superação de genes de resistência. Dessa forma, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a adaptação de populações e subpopulações de *Plasmopara viticola* a diferentes alelos de resistência, como indicador de durabilidade de resistência conferida por estes alelos, no estado de Santa Catarina. Para isso foram realizadas amostragens de conjuntos de isolados de *P. viticola* das populações do patógeno nos municípios de Curitiba nos anos de 2020 e 2021 e Urussanga nos anos de 2020 e 2021, bem como de quatro subpopulações coletadas de hospedeiros específicos no município de Urussanga no ano de 2021 (Subpopulação 1: hospedeiros contendo apenas *Rpv3*; Subpopulação 2: hospedeiros contendo apenas *Rpv10*; Subpopulação 3: hospedeiros contendo *Rpv3+10*; Subpopulação 4: hospedeiro contendo *Rpv1+3*). A partir das amostragens foram elaboradas suspensões de esporângio utilizadas na inoculação cruzada em discos foliares da cultivar suscetível Cabernet Sauvignon e um painel de dez cultivares/genótipos contendo diferentes alelos de resistência (*Rpv3.1*, *Rpv3.1+3.2*, *Rpv3.1+3.3*, *Rpv1+3.1*, *Rpv10*, *Rpv10+3.3*, *Rpv10+3.1+3.3*, *Rpv12* e *Rpv12+3.1*). Aos seis dias após a inoculação cruzada foi avaliado a severidade da doença, nível de resistência (descriptor OIV 452-1) e incidência de esporulações; aos sete dias após a inoculação foi mensurado a produção de esporângios. Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade e variância, seguido dos testes de Friedman e Dunn's Tukey. O alelo *Rpv12* é a fonte de resistência de maior efeito quando inoculado com as populações e subpopulações de míldio coletadas no estado de Santa Catarina, limitando completamente a esporulação do patógeno. O *Rpv10* também se mostrou altamente eficiente, não permitindo a detecção de efeito aditivo da piramidação com o alelo *Rpv3*. Foi identificado ainda um processo de erosão do mecanismo de resistência genética do alelo *Rpv3*, particularmente os haplótipos *Rpv3.1* e *Rpv3.3*, uma vez que as cultivares Felicia e Regent, de maneira geral, apresentaram esporulação tão densa quanto a Cabernet Sauvignon. Por outro lado, *Rpv1+3* conferiu elevado nível de resistência, embora foram identificados isolados que esporularam em hospedeiros contendo os dois alelos piramidados no estado de Santa Catarina. O presente estudo fornece informações quanto ao nível de resistência dos principais genes *Rpv* no estado de Santa Catarina, bem como, o indicativo da presença de isolados de *P. viticola* com potencial superação do efeito do alelo *Rpv3*. Este conhecimento é fundamental para a definição de estratégias que promovam a durabilidade conferida por estes alelos de resistência.

Palavras-chave: Resistência a doenças. Melhoramento genético. PIWI. Durabilidade.

Abstract

The grapevine breeding for disease resistance is one of the main strategies to promote the viticulture sustainability worldwide. However, biotrophic pathogens with a mixed reproduction systems and heterotalism, such as *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew, have a high evolutionary potential that confers a high capacity to overcome resistance mechanism conferred by R-genes. Thus, the main objective of this work was to evaluate the adaptation of populations and subpopulations of *Plasmopara viticola* to different resistance alleles, as an indicator of resistance durability in Santa Catarina state. For this purpose, a set of *P. viticola* isolates from populations of the pathogen were collected in Curitibaanos in the year 2021 and Urussanga in the years 2020 and 2021, as well as four subpopulations collected from specific hosts in Urussanga in the year of 2021 (Subpopulation 1: hosts containing only *Rpv3*; Subpopulation 2: hosts containing only *Rpv10*; Subpopulation 3: hosts containing *Rpv3+10*; Subpopulation 4: host containing *Rpv1+3*). From these sets of isolates, suspensions of sporangia were prepared and used in cross inoculations of leaf discs of the susceptible cultivar Cabernet Sauvignon and a panel of ten cultivars/genotypes containing different resistance alleles (*Rpv3.1*, *Rpv3.1+3.2*, *Rpv3.1+3.3*, *Rpv1+3.1*, *Rpv10*, *Rpv10+3.3*, *Rpv10+3.1+3.3*, *Rpv12* and *Rpv12+3.1*). At six days after cross-inoculation, disease severity, resistance level (OIV 452-1 descriptor) and incidence were evaluated; at seven days after inoculation, sporangia production was measured. The data obtained were subjected to analysis of normality and variance, followed by the Freedman, Dunn's and Tukey tests. The *Rpv12* allele is the most effective source of resistance when inoculated with the populations and subpopulations of downy mildew collected in the state of Santa Catarina, having completely limited the sporulation of the pathogen. *Rpv10* was also highly efficient, not allowing the detection of the additive effect of pyramidation with the *Rpv3* allele. A process of genetic resistance erosion of the *Rpv3* allele was identified, particularly the *Rpv3.1* and *Rpv3.3* haplotypes, since the cultivars Felicia and Regent presented sporulation density as Cabernet Sauvignon. On the other hand, *Rpv1+3* showed a high level of resistance, although isolates with potential risk to the durability of resistance of pyramided *Rpv1* and *Rpv3.1* genes were identified in Santa Catarina state. The present study provides information regarding the level of resistance of the main *Rpv* genes in Santa Catarina state, also an indication of the presence of *P. viticola* isolates with potential to overcome the *Rpv3* allele. This knowledge is fundamental for the definition of strategies that promote the resistance durability conferred by these alleles.

Key-words: Disease resistance. Plant breeding. PIWI. Durability.

Lista de figuras

Figura 1: Evolução histórica do melhoramento genético da videira voltado a resistência a doenças.....	22
Figura 2: Ciclo primário e secundário de infecção do <i>P. viticola</i> , agente causal do míldio da videira.....	24
Figura 3: Modelo de reconhecimento molecular de padrões associados a patógenos.....	29
Figura 4: Vinhedos experimentais localizados em Curitiba e Urussanga dos quais foram coletados isolados de <i>P. viticola</i> de uma coleção de 31 cultivares/genótipos PIWI. No detalhe, folhas da cultivar PIWI Felicia manifestando esporulação do patógeno.	39
Figura 5: Avaliação de severidade de esporulação via software ImageJ, utilizando imagens dos discos foliares, capturadas com câmera Olympus DP71, acoplada a estereomicroscópio Olympus SZH10.....	45
Figura 6: Gradiente de resistência a <i>Plasmopara viticola</i> manifestado em discos foliares de videira, de acordo com a escala OIV 452-1.....	46
Figura 7: Heatmap da severidade, representada pela escala de cores, e notas da escala OIV-452-1, representada pelos números, manifestadas por cultivares/genótipos contendo diferentes alelos de resistência Rpv em resposta à infecção por diferentes populações e subpopulações de isolados de <i>P. viticola</i>	48
Figura 8: Quadro representativo da resposta a inoculação cruzada de suspensões de esporângios de <i>P. viticola</i> amostrada das populações PC21 e PU21 e subpopulações SPRpv3, SPRpv10, SPRpv3+10 e SPRpv3+1, sobre discos foliares de 11 cultivares/genótipos testadoras resistentes e suscetíveis aos seis dias após a inoculação.	49

Lista de tabelas

Tabela 1: Principais alelos de resistência ao <i>P. viticola</i> empregados no melhoramento da videira.	31
Tabela 2: Coleção de cultivares PIWI mantidas nos vinhedos experimentais nos municípios de Curitiba e Urussanga.	38
Tabela 3: Local, data e cultivares/genótipos das quais foram coletadas folhas para a preparação das suspensões de esporângios das populações e subpopulações de <i>P. viticola</i>	41
Tabela 4: Cultivares/genótipos testadoras utilizadas nos ensaios de inoculação artificial cruzada em discos foliares.	43
Tabela 5: Efeito da inoculação das suspensões de esporângios de <i>P. viticola</i> da população PU20 e PU21 sobre cultivares contendo os haplótipos Rpv3 e Rpv3.1+Rpv1 em comparação com hospedeiros suscetível, nos anos de 2020 e 2021.	53

Lista de gráficos

Gráfico 1: Box Plot representando os dados de produção de esporângios (esporos por mL⁻¹) de *P. viticola* aos sete dias após a inoculação das populações de isolados PC21 e PU21 sobre cultivares/genótipos testadoras suscetível e com diferentes alelos de resistência ao míldio..... 51

Gráfico 2: Box Plot representando os dados de produção de esporângios (esporos por mL⁻¹) de *P. viticola* aos sete dias após a inoculação das subpopulações de isolados SPRpv3, SPRpv10, SPRpv3+10 e SPRpv3+1 sobre cultivares/genótipos testadoras suscetível e com diferentes alelos de resistência ao míldio..... 52

Lista de tabelas complementares

Tabela complementar 1: Teste de Freedman seguido do teste Dunns's a 5% de significância para Severidade em porcentagem do tecido foliar coberto por esporulações, referente a inoculação cruzada de 11 cultivares com diferentes níveis de resistência por diferentes suspensões de isolados de *P. viticola*. 75

Tabela complementar 2: Moda dos resultados da aplicação da escala comparativa OIV 452-1 referente a inoculação cruzada de 11 cultivares com diferentes níveis de resistência por diferentes suspensões de isolados de *P. viticola*. 75

Tabela complementar 3: Teste Tukey a 5% de significância dos dados de severidade e incidência referente a inoculação cruzada de diferentes populações e subpopulações de *P. viticola* sobre a cultivar suscetível Cabernet Sauvignon. 76

Tabela complementar 4: Teste Tukey a 5% de significância para a análise do efeito da piramidação de genes Rpv10 e Rpv3 sobre a severidade da doença em discos foliares das cultivares Cabernet Carbon (Rpv10), Cabernet Cantor (Rpv10+Rpv3.1+Rpv3.3) e Baron (Rpv10+Rpv3.1) quando inoculadas pelas populações de *P. viticola* PC e PU. 76

Tabela complementar 5: Teste Tukey a 5% de significância para a análise da interação entre o efeito da piramidação de genes Rpv10 e Rpv3 sobre a severidade da doença em discos foliares das cultivares Cabernet Carbon (Rpv10), Cabernet Cantor (Rpv10+ Rpv3.1+Rpv3.3) e Baron (Rpv10+Rpv3.1) quando inoculadas pelas populações de *P. viticola* PC e PU. 76

Tabela complementar 6: Teste Tukey a 5% de significância para a análise do efeito da piramidação de genes Rpv10 e Rpv3 sobre a severidade da doença em discos foliares das cultivares Cabernet Carbon (Rpv10), Cabernet Cantor (Rpv10+Rpv3.1+Rpv3.3) e Baron (Rpv10+Rpv3.1) quando inoculadas pelas subpopulações de *P. viticola* SPRpv3, SPRpv3+10, SPRpv10 e SPRpv3+1. 77

Tabela complementar 7: Teste Tukey a 5% de significância para a análise da interação entre o efeito da piramidação de genes Rpv10 e Rpv3 sobre a severidade da doença em discos foliares das cultivares Cabernet Carbon (Rpv10), Cabernet Cantor (Rpv10+ Rpv3.1+Rpv3.3) e Baron (Rpv10+Rpv3.1) quando inoculadas pelas subpopulações de *P. viticola* SPRpv3, SPRpv3+10, SPRpv10 e SPRpv3+1. 77

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	VIDEIRA	18
2.1.1	Melhoramento da videira para resistência a doenças.....	20
2.2	MÍLDIO DA VIDEIRA.....	23
2.2.1	Plasmopara viticola.....	23
2.2.2	Manejo fitossanitário	25
2.3	INTERAÇÃO PATÓGENO/HOSPEDEIRO	27
2.3.1	Interação e resistência	27
2.3.2	Sistema imune associado a alelos Rpv.....	28
2.3.3	Alelos Rpv	30
2.3.4	Mecanismos de avirulência do P. viticola	33
2.3.5	Riscos à durabilidade da resistência conferida pelos alelos Rpv	34
2.3.6	Superação da resistência ao P. viticola	35
3.	OBJETIVOS	37
3.1	OBJETIVO GERAL	37
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	INÓCULO DE P. viticola.....	38
4.1.1	Origem do inóculo de P. viticola	38
4.1.2	Preparo das suspensões de esporângios de P. viticola.....	40
4.2	PAINEL DE GENÓTIPOS TESTADORES	42
4.2.1	Escolha de cultivares e confecção de mudas	42
4.3	INOCULAÇÃO CRUZADA	44

4.4	AVALIAÇÕES	44
4.4.1	Severidade.....	44
4.4.2	Incidência.....	45
4.4.3	Nota escala OIV 452-1	45
4.4.4	Produção de esporângios	46
4.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS	46
5.	RESULTADOS	47
5.1	RESPOSTA FENOTÍPICA DA INOCULAÇÃO CRUZADA EM DISCOS FOLIARES.....	47
5.2	POTENCIAL DE DISPERSÃO	50
5.3	RESPOSTA DOS ALELOS Rpv3 A INOCULAÇÃO DA SUSPENSÕES PU20 E PU21	52
6.	DISCUSSÃO	54
6.1	NÍVEIS DE RESISTÊNCIA	54
6.2	EROSÃO DA RESISTÊNCIA DOS ALELOS Rpv3.1 E Rpv3.3	56
6.3	ADAPTAÇÃO DE POPULAÇÕES E SUBPOPULAÇÕES DE P. viticola.	58
6.4	RISCOS AO MELHORAMENTO DA VIDEIRA NO BRASIL	60
7.	CONCLUSÕES	62
8.	PERSPECTIVAS FUTURAS	63
9.	REFERÊNCIAS	64
10.	DADOS COMPLEMENTARES	75

1. INTRODUÇÃO

A videira é uma das principais frutíferas cultivadas pela humanidade. A influência e importância socioeconômica e cultural da viticultura são imensuráveis, uma vez que, indícios históricos sugerem que a videira foi uma das primeiras frutas cultivadas pelo homem (Peña-Chocarro et al., 2017). Análises químicas realizadas em artefatos arqueológicos evidenciam que, o cultivo da uva e a produção de vinho datam de ao menos seis mil anos antes de Cristo (McGovern et al., 2017).

A produção mundial de uvas foi responsável pela movimentação econômica de cerca de U\$ 66 bilhões de dólares no ano de 2019 (Faostat, 2021). São produzidos mais de 77 milhões de toneladas de uvas por ano, sendo plantadas em uma área superior a 6,9 milhões de hectares em todo o mundo. O Brasil é um importante produtor desta fruta, sendo produzidos anualmente cerca de 1,5 milhões de toneladas de uva, em uma área plantada de vinhedos superior a 74 mil ha (Faostat, 2021).

A demanda por sistemas produtivos sustentáveis e produtos saudáveis, é um dos principais desafios da viticultura e da agricultura como um todo. As variedades de videira mais cultivadas em todo o mundo pertencem à espécie *Vitis vinifera*, e têm como principal desafio ao cultivo, a alta suscetibilidade a patógenos (Töpfer et al., 2011). O míldio da videira, causado pelo oomiceto *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. and de Toni, de origem norte-americana, é mundialmente um dos principais patógenos da videira, incluindo o Brasil (Gessler et al., 2011).

O *P. viticola* ao infectar o hospedeiro, gera perdas de área fotossinteticamente ativa, podendo evoluir para quadros de perda total de folhas, ramos e frutos (Amorim et al., 2011). A aplicação curativa e preventiva de fungicidas é uma prática histórica utilizada no manejo do míldio da videira, fato que tem tornado a produção de uvas viníferas altamente dependente de produtos químicos (Gessler et al., 2011).

Uma série de práticas culturais foram desenvolvidas e aperfeiçoadas com o intuito de reduzir o uso de produtos tóxicos ao homem e ao meio ambiente, tais como, técnicas de integração biótica em cultivos dinâmicos e o uso de mecanismos naturais de defesa da videira contra patógenos (Pertot, et al., 2017). O uso de cultivares de videira resistentes a doenças, denominadas PIWI (do Alemão: *Pilzwiderstandsfähige*, “resistente a doenças fúngicas”) tem sido eficaz no manejo do míldio da videira, permitindo a redução no uso de fungicidas e, conseqüentemente, reduzindo os custos de produção e minimizando o impacto ambiental e os riscos à saúde humana e (Viret et al., 2019; Zanghelini et al., 2019).

Até o momento foram identificados 31 locos gênicos contendo alelos associados à resistência da videira ao *P. viticola* (Maul et al., 2022). Estes foram nomeados como *Rpv* (*resistance to Plasmodiopsis viticola*), seguido de um número. No presente estudo, utilizaremos a terminologia *Rpv*, com a letra “R” em maiúsculo, para indicar o alelo do(s) gene(s) de cada loco *Rpv* (alelo *Rpv*) associado à resistência. Dentre os alelos *Rpv* mais utilizados em programas de melhoramento da videira, se destacam *Rpv1* e *Rpv3* (haplótipos *Rpv3.1*, *Rpv3.2* e *Rpv3.3*), de origem americana, e *Rpv10* e *Rpv12*, de origem asiática (Heyman et al., 2021). Estes alelos de resistência, quando isolados, conferem resistência parcial ao patógeno, porém, quando combinados (piramidados) apresentam efeito aditivo, incrementando a resposta de resistência (Eibach et al., 2007; Schwander et al., 2011; Venuti et al., 2013; Merdinoglu et al., 2018; Sanchez-Mora, et al., 2017).

Estudos realizados na Europa demonstraram que genótipos com resistência parcial conferida por somente um alelo *Rpv*, têm apresentado perdas de eficiência na resistência contra o míldio (Peressotti et al., 2010 e Delmotte et al., 2014). Recentemente foi descrita a existência de um isolado com a habilidade de superar a resistência conferida pelos alelos *Rpv3.1* e *Rpv12* piramidados (Wingerter et al., 2021). Patógenos com sistema misto de reprodução (sexuado e assexuado), associado à fecundação cruzada (heterotalismo), como é o caso do míldio da videira, apresentam elevado potencial evolutivo e, portanto, apresentam maior probabilidade de quebra de resistência (McDonald e Linde, 2002).

Recentemente foi comprovada a existência da reprodução sexuada do *P. viticola* no estado de Santa Catarina (Bitencourt et al., 2021). Também foi observada alta diversidade genética do patógeno nesta mesma região (Tomazetti, 2020) e no Rio Grande do Sul (Santos et al., 2020). Avaliações feitas a campo identificaram esporulações de míldio em cultivares PIWI e genótipos contendo diferentes alelos *Rpv* isolados ou piramidados, em particularmente no final do ciclo de cultivo (Zanghelini et al., 2019). Nestes mesmos genótipos foi comprovada a formação de oósporos (Bitencourt et al., 2021). Sendo assim, levantamos a hipótese de que há alto risco de perda da eficiência e da durabilidade da resistência conferida pelos alelos *Rpv* no estado de Santa Catarina.

Para testar a hipótese H_0 , de que há isolados nas populações e sub-populações de *P. viticola* em Santa Catarina adaptadas aos alelos *Rpv*, inoculações cruzadas foram realizadas entre misturas de isolados de *P. viticola* coletados de dois locais de Santa

Catarina (Urussanga e Curitibanos) e de hospedeiros contendo diferentes alelos *Rpv*, com um painel de genótipos selecionados por conter diferentes alelos *Rpv*. A pesquisa foi executada na Universidade Federal de Santa Catarina, nos Centros de Ciência Agrárias/ Florianópolis e Ciências Rurais/Curitibanos, em parceria com a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 VIDEIRA

A videira pertence à família *Vitaceae*, gênero *Vitis* e possui 79 espécies distribuídas pela América do Norte, Europa e Ásia (The Plant List, 2013). Estudos sugerem que o surgimento da família *Vitaceae* se deu no período Paleoceno há cerca de 60 milhões de anos, onde atualmente se localiza a Groenlândia (Fortes; Pais, 2016). *Vitis vinifera* é a principal espécie utilizada na vitivinicultura.

Embora haja dúvidas acerca da localização exata do centro de domesticação da videira (*V. vinifera*) na Eurásia, estudos sugerem a região Transcaucasiana como provável sítio inicial (Myles et al., 2011). No entanto, também é citada a região sul da França (Languedoc) como um local onde a domesticação se deu em paralelo (Terral et al., 2009). A videira foi difundida por povos Fenícios, Gregos e Romanos (Töpfer et al., 2011), os quais selecionaram características de formato e tamanho de baga, favorecendo o processamento e consumo do fruto (This et al., 2006).

Por conta do sabor agradável de suas bagas, os frutos selvagens de videira eram consumidos muito antes de sua domesticação (Zohary; Spiegel-Roy, 1975). A medida que a humanidade se desenvolveu, o cultivo e a vinificação da uva se tornaram importantes, assumindo papel relevante na história da humanidade (Töpfer et al., 2011). A fermentação e a elaboração de bebidas tiveram importante papel na formação da sociedade atual, uma vez que, o ser humano, no processo de evolução da humanidade, passou a utilizar a fermentação em paralelo ao processo de domesticação de plantas (Liu et al., 2018).

A popularização e a valorização da vitivinicultura no velho mundo foram incentivadas pela associação do vinho a rituais religiosos, que tinham a bebida como sagrada, não somente no cristianismo, mas em diversos povos da antiguidade (This et al., 2006; Töpfer et al., 2011). Com isso, o cultivo da videira se alastrou inicialmente por conta do processo de colonização de novos territórios pelos povos europeus. Por volta do século XVI, a videira *V. vinifera* foi introduzida no continente americano, inicialmente por meio de sementes, e posteriormente via estacas (This et al., 2006), semelhante ao ocorrido na África e na Austrália séculos depois.

A vitivinicultura no Brasil é recente quando comparada a países europeus, visto que, o primeiro registro de introdução da videira no país se deu por volta do ano de 1532, trazida por Martim Alfonso de Sousa à capitania hereditária de São Vicente. Mantida como atividade agrícola pouco relevante economicamente no período colonial,

a videira foi usada principalmente no cultivo doméstico, uma vez que os esforços se concentravam principalmente na agricultura de subsistência, onde se produziam grãos, tubérculos e outros itens essenciais para a alimentação humana e animal (Sousa, 1956).

Devido as primeiras introduções de videira terem ocorrido principalmente nos estados de São Paulo e Pernambuco, o desenvolvimento de cultivos não se deu de forma satisfatória, principalmente por fatores ambientais, além de não ser um dos interesses coloniais, uma vez que a mineração era a atividade central, principalmente no centro-oeste do país (Dickenson, 1995). Somente no século XVIII, a partir da chegada de imigrantes europeus e a realização de expedições jesuíticas na região sul, a viticultura e a produção de vinho passou a representar uma importante atividade agrícola no Brasil (Dickenson, 1995).

A viticultura no sul do Brasil, impulsionada pela cultura trazida pelos imigrantes europeus, se deu efetivamente a partir da introdução de cultivares híbridas americanas (*Vitis labrusca* e *Vitis rupestris*) no século XIX, sendo Isabel a primeira cultivar plantada, seguida de outros materiais como Herbemont, Seibel 2, Niágara Branca, Niágara Rosada, Bordô, Concord e Jacquez (Camargo et al., 2011). A utilização de tais materiais é explicada pelas condições climáticas da região, onde cultivares americanas e híbridas demonstrou menor suscetibilidade a doenças fúngicas como o míldio e o oídio e, portanto, maior adaptação.

Entretanto, tais cultivares não foram capazes de proporcionar produtos de qualidade enológica semelhante a castas viníferas. Dessa forma, materiais de origem italiana foram introduzidas no Rio Grande do Sul na década de 1950, sendo substituídas mais tarde por castas francesas, tais como Cabernet Sauvignon, Tannat, Sémillon e Chardonnay (Camargo et al., 2011). Somente nas últimas décadas do século XX que a indústria de vinhos finos se estabeleceu na região Sul do Brasil, particularmente no Rio Grande do Sul (Dickenson, 1995).

Atualmente o Brasil produz anualmente cerca de 1,5 milhões de toneladas de uva, em sua maioria por meio do cultivo de cultivares híbridas americanas, em uma área plantada de aproximadamente 74 mil ha (Faostat, 2020), sendo 46,5% desta produção processada em vinhos e sucos e 53,5% de uvas de mesa (Roca, 2019). O Brasil é o 15º maior produtor mundial de uvas e o 9º maior produtor de uvas de mesa do planeta, o que demonstra a importância brasileira no cenário vitivinícola mundial (Roca, 2019).

São produzidos cerca de 310 milhões de litros de vinhos e consumidos em torno de 330 milhões de litros anualmente no Brasil (Roca, 2019). Dentre os quase 260

milhões de litros de vinho produzidos no Rio Grande do Sul no ano de 2018, cerca de 220 milhões foram elaborados a partir de uvas híbridas ou americanas, e cerca de 40 milhões de litros a partir de uvas viníferas (Mello, 2019).

O Brasil é um importante exportador de uva *in natura*, gerando a movimentação anual de cerca de 100 milhões de dólares. No entanto, a importação, em especial de vinhos finos, é relativamente alta, chegando a quase 350 milhões de dólares (Mello, 2019). Dessa forma, o consumo de vinho no Brasil, demonstra a importância do cultivo da uva para o país.

2.1.1 Melhoramento da videira para resistência a doenças

A seleção e utilização de genótipos resistentes ao míldio e ao oídio foram práticas inexistentes na domesticação e cultivo inicial da videira na Europa. A inocorrência de problemas sanitários restritivos, possibilitava o cultivo de variedades autóctones na Europa. Por outro lado, imigrantes europeus fracassaram sucessivamente na tentativa de produzir uvas viníferas na América do Norte, uma vez que as cultivares europeias apresentavam alta suscetibilidade a patógenos e pragas autóctones deste continente (Di Gaspero et al., 2011, Töpfer et al., 2011).

A primeira cultivar produzida com êxito na América do Norte foi a Alexander, casta selecionada na espécie *V. labrusca* por volta do ano 1800 (Töpfer et al., 2011). Entretanto, devido à má qualidade do vinho gerado pela vinificação de cultivares originadas de espécies nativas americanas, cruzamentos passaram a ser realizados entre espécies americanas e cultivares viníferas, com o objetivo de associar a adaptação ao ambiente e a resistência a doenças com a qualidade para vinificação. Na primeira metade do século XIX foram desenvolvidos os primeiros híbridos interespecíficos, tais como Sage (1811), Cunningham (1812), Isabella (1816), Catawba (1819), Flowers (1819), Ives, conhecida no Brasil como Bordô (1840), Niágara (1868) e Concord (1869) (Maul et al., 2022, Di Gaspero et al., 2011, Töpfer et al., 2011).

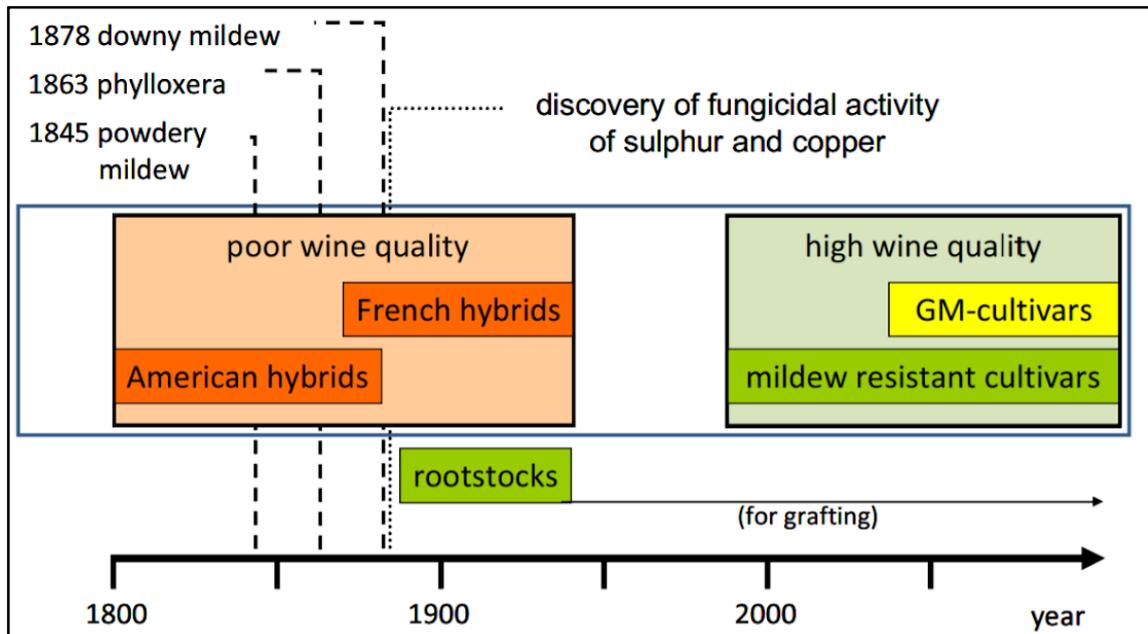
Devido ao intercâmbio de materiais entre continentes do novo e do velho mundo, ocorreu a introdução inadvertida dos principais patógenos e pragas da videira na Europa: o oídio (*Erysiphe necator*) em 1845; a filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*) em 1863 e o míldio (*P. viticola*) em 1878 (Töpfer et al., 2011). A introdução destes patógenos e praga resultou no colapso da viticultura na Europa, visto que as principais cultivares de *V. vinifera* se demonstraram altamente suscetíveis a estes agentes patogênicos, e como resposta, novos programas de melhoramento genético foram

estabelecidos para mitigar tais problemas por meio de cruzamentos interespecíficos (Alleweldt; Possingham, 1988).

O governo francês, frente ao desastre causado à viticultura europeia no final do século XIX, promoveu a importação de germoplasma de espécies de videira americano e os cruzamentos interespecíficos de cultivares *V. vinifera* com espécies selvagens norte americanas (*V. riparia*, *V. rupestris*, *V. lincecumii*, *V. aestivalis*, *V. cinerea*, *V. berlandieri*, *V. labrusca*) por viticultores e melhoristas privados (Alleweldt; Possingham, 1988). Os melhores híbridos produzidos serviram como base tanto para o melhoramento quanto para a produção de vinhos na França (Töpfer et al., 2011). Estes híbridos, conhecidos como híbridos franceses, foram amplamente utilizados em programas de melhoramento em toda a Europa, em especial após a segunda guerra mundial (Di Gaspero et al., 2011).

Os híbridos franceses foram amplamente cultivados na primeira metade do século XX, caindo em desuso por conta do desenvolvimento da técnica da enxertia, empregando cultivares interespecíficas de porta-enxertos resistentes à filoxera, e com a descoberta da ação fungicida do cobre e do enxofre, que permitiram manejo químico do oídio e míldio, conforme mostra a Figura 1 (Töpfer et al., 2011). Os primeiros porta-enxertos testados foram obtidos das espécies *V. riparia* e *V. rupestris*, substituídos posteriormente por híbridos interespecíficos tolerantes a solos calcários (Ollat et al., 2014). Os porta-enxertos mais populares são híbridos interespecíficos obtidos empregando as espécies *V. berlandieri*, *V. cinerea*, *V. champini* e *V. vinifera* (Alleweldt; Possingham, 1988). Grande parte dos porta enxertos hoje conhecidos foram desenvolvidos e popularizados entre o final do século XIX ao início do século XX, (Ollat et al., 2014).

Figura 1: Evolução histórica do melhoramento genético da videira voltado a resistência a doenças.



(Fonte: adaptado de Töpfer et al., 2011).

Por conta do advento das técnicas de cultivo acima descritas e da qualidade enológica inferior dos híbridos franceses quando comparados a cultivares viníferas, os híbridos franceses deixaram de ser cultivados como mostra a linha do tempo exposta na Figura 1. Os híbridos franceses passaram a representar um produto de má qualidade, fato que levou a França a abandonar o melhoramento da videira para doenças, diferentemente de outros países, como a Alemanha e a Hungria, que seguiram combinando características de qualidade e resistência a doenças por meio de sucessivos cruzamentos (Töpfer et al., 2011).

Apesar de o cultivo de híbridos franceses e americanos ter sido banido na Europa ocidental, estes recursos genéticos vegetais foram de grande valor, sendo mantidos em Bancos de Germoplasma em institutos de pesquisa, servindo como fonte de resistência explorados no desenvolvimento de novas cultivares resistentes a doenças (Alleweldt, 1997). A persistência de melhoristas visionários, particularmente alemães e húngaros, resultou no desenvolvimento de uma nova geração de cultivares de videira resistentes a doenças, com significativa melhora na qualidade do vinho, popularizadas como cultivares PIWI, um acrônimo ao termo em alemão “Pilzwiederstandafähig”, que significa resistente a doenças fúngicas. Regent é uma das cultivares PIWI mais

populares, com área cultivada superior a 2 mil hectares somente na Alemanha (Töpfer et al., 2011).

A utilização de técnicas de genética molecular em programas de melhoramento genético da videira, a partir da década de 1990, tem possibilitado a localização de locos gênicos contendo alelos de resistência a doenças, principalmente ao míldio e oídio, e o emprego da seleção assistida por marcadores moleculares para acelerar o processo de introgressão e a piramidação de alelos de resistência (Merdinoglu et al., 2018). Vale ressaltar ainda, que a piramidação de mecanismos de defesa complementares garante maior segurança no que se refere a durabilidade da resistência. O cultivo de cultivares PIWI tem proporcionado redução no uso de fungicidas e práticas de manejo mais sustentáveis, sendo amplamente empregadas em sistemas de cultivo alternativos (Wingerter et al., 2021).

2.2 MÍLDIO DA VIDEIRA

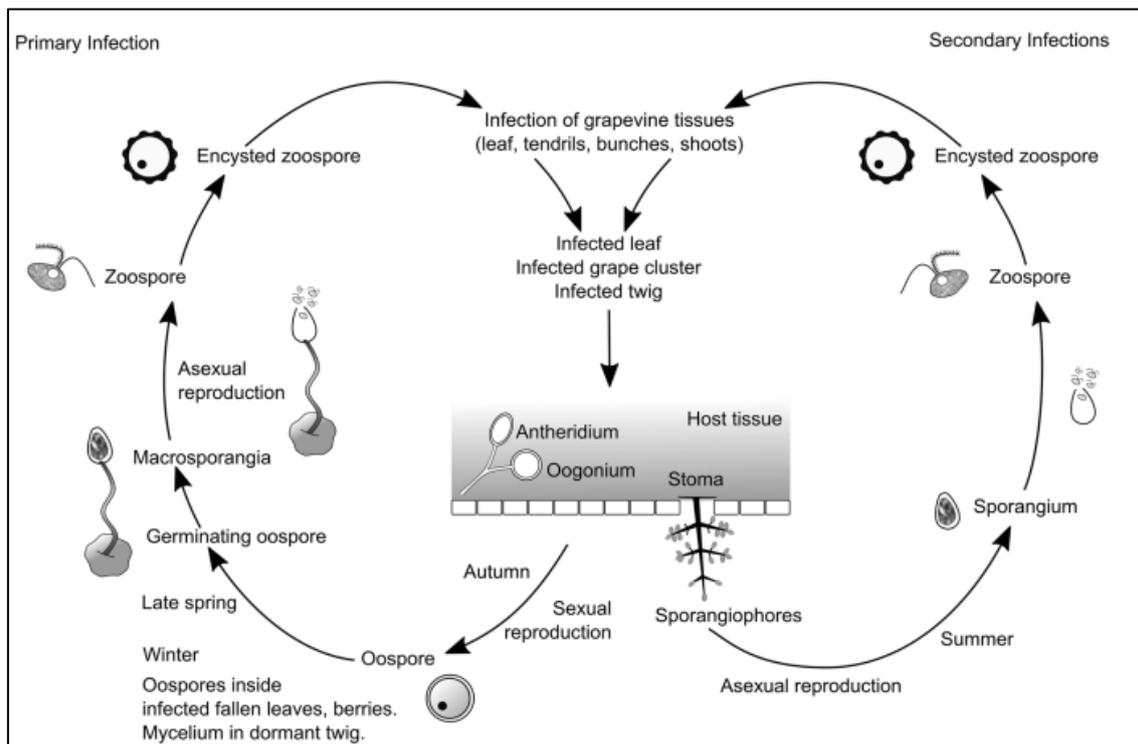
2.2.1 *Plasmopara viticola*

O oomiceto *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira, pertence à família *Peronosporaceae* do reino *Stramenopila*, originalmente classificado como fungos. Os oomicetos possuem esporos flagelados (zoósporos), fase vegetativa diploide e possuem parede celular constituída por celulose, semelhante as algas, sendo uma classe de patógenos significativamente importante na agricultura (Fawke et al., 2015). *P. viticola* é um patógeno biotrófico obrigatório, ou seja, necessita obrigatoriamente de um hospedeiro vivo para se desenvolver e completar o ciclo de infecção (Gesseler et al., 2011). Originário da América do Norte, o míldio da videira foi descrito pela primeira vez no Brasil em 1891, no Instituto Agrônomo de Campinas, com a introdução de videiras americanas no estado de São Paulo (Sousa, 1996).

O *P. viticola* apresenta a fase sexuada e assexuada, conforme descrita na Figura 2. A fase sexual do míldio, embora ocorra em uma larga faixa de temperaturas, se dá com maior frequência quando a esporulação assexuada é impossibilitada, tais como, fim de ciclo ou períodos de estiagem ou desidratação das folhas, gerando assim, estruturas de resistência chamadas oósporos (Buonassisi et al., 2017 e Gesseler et al., 2011). Os oósporos são o resultado da fecundação da oogônia pelo anterídio, estruturas heterotáticas advindas de dois indivíduos distintos (Wong et al., 2001). Os oósporos

podem permanecer maturando por longos períodos no solo, germinando de modo intermitente ao longo do ciclo produtivo da videira (Gesseler et al., 2011).

Figura 2: Ciclo primário e secundário de infecção do *P. viticola*, agente causal do míldio da videira.



(Fonte: Adaptado de Buonassisi et al., 2017).

A germinação dos oósporos resulta na infecção primária do hospedeiro, quando o oósporo maturado durante o inverno, ao estar exposto a uma lâmina de água permanente na superfície do solo, com temperaturas de 12 a 13 °C, germina formando a estrutura denominada macroesporângio, que por sua vez, irá gerar o esporângio que é disseminado pelo vento. O esporângio germina e libera zoósporos biflagelados (Gesseler et al., 2011). Havendo uma lâmina de água na superfície abaxial das folhas, os zoósporos “nadam” e encistam próximo aos estômatos, emitindo um tubo germinativo que invade o estômato, desenvolve hifas intercelulares que não causam a morte celular, mas que por meio do apressório penetram as células e formam uma estrutura denominada haustório, que nutre o patógeno, causando os sintomas clássicos de mancha óleo (Fawke et al., 2015). Cerca de quatro dias após a colonização dos tecidos vegetais, o patógeno desenvolve esporulações (esporangióforos contendo esporângios) na face inferior da folha. Os esporângios se destacam dos esporangióforos e são disseminados

pelo vento até o hospedeiro, onde em uma lâmina d'água libera zoósporos biflagelados que darão início a infecção secundária (Agrios, 2005).

O ciclo secundário é desencadeado pela infecção de tecidos verdes da videira por zoósporos gerados a partir da esporulação oriunda da infecção primária, ou a reinfeção por zoósporos de ciclo secundário (Buonassisi et al., 2017). Por ser policíclica, o *P. viticola* causa vários ciclos de infecção em único ciclo produtivo da videira. As esporulações do míldio da videira são caracterizadas por se darem na face abaxial das folhas, sendo que o patógeno se desenvolve em temperaturas que variam de 9 a 35 °C, fora destes limites o desenvolvimento do patógeno é impossibilitado (Francesca et al., 2006).

A epidemia do míldio da videira é favorecida em ambientes com umidade relativa do ar próxima a 100%, molhamento da face abaxial da folha e temperaturas na faixa de 18 a 22 °C (Amorim et al., 2011). O sintoma que indica o início da infecção é denominado de mancha óleo, observada na superfície adaxial da folha, sob a qual, em um período de 4 a 6 dias após a infecção dos tecidos, se formam esporulações que disseminam o inóculo para novos hospedeiros (Allègre et al., 2006). O míldio da videira causa declínio de área fotossintética, podendo evoluir facilmente para quadros de necrose e perda total dos tecidos verdes da planta, sendo possível infectar ainda, órgãos como caule, cacho e bagas caso não haja controle imediato (Gessler et al., 2011).

2.2.2 Manejo fitossanitário

Devido à alta suscetibilidade ao *P. viticola* das cultivares viníferas de videira (*V. vinifera*) mais cultivadas em todo o mundo, uma série de práticas culturais e tratamentos fitossanitários são empregados no manejo do míldio da videira. A principal estratégia de manejo do míldio da videira nestas cultivares é a aplicação de produtos com ação fungicida protetora e curativa e a aplicação de produtos bioestimulantes (Gessler et al., 2011). Também é recomendada a utilização da cobertura plástica de vinhedos, uma prática de manejo altamente eficiente, visto que reduz o molhamento foliar e, conseqüente, impossibilita a infecção do tecido vegetal pelo patógeno (Holcman et al., 2019).

A aplicação de fungicidas é a principal estratégia utilizada no manejo do míldio em cultivos de viníferas no Brasil. O Sul proporciona condições ambientais de temperatura média em torno de 20 °C e molhamento foliar frequente, fatores propícios ao desenvolvimento do patógeno (Zanghelini et al., 2019). Por conta disso, a aplicação

curativa ou preventiva de fungicidas pode chegar a 60 aspersões anuais em variedades suscetíveis com dois cultivos anuais, das quais a maior parte é aplicada no manejo do míldio da videira (Cappello et al., 2017).

Embora eficiente no combate ao míldio, os agrotóxicos apresentam composição química potencialmente danosa ao meio ambiente e ao ser humano, potencializados pelo método de aplicação, que de maneira geral segue um calendário predefinido (Angelotti et al., 2012). A redução do impacto ambiental tem se tornado um critério importante em programas de melhoramento da videira, visto que a intoxicação já presente, por exemplo, em solos de vinhedos brasileiros, cuja presença de metais pesados como cobre oriundo do uso de produtos como calda bordalesa já fora relatada (Mirlean et al., 2007 e 2008).

Na Europa, a viticultura é responsável por 33% do uso de fungicidas em toda a união europeia (Muthmann, 2007), embora a área de cultivo corresponda a menos de 50% da fruticultura e cerca de 3% do território ocupado pela produção de cereais (Faostat, 2020). Na Europa foram utilizados no ano de 2014, aproximadamente 340 mil toneladas de produtos químicos destinados à proteção de plantas (Peña et al., 2018), sendo que, estima-se que cerca de 56 das 169 mil toneladas dos produtos classificados como fungicidas deste mesmo ano foram aplicados exclusivamente no cultivo da videira.

O cenário de mudanças climáticas tem causado incertezas no que se refere a epidemiologia da *P. viticola*. O aumento da temperatura, a maior ocorrência de chuvas e o aumento das concentrações dos gases (vapor d'água, CO₂, CH₄, N₂O, O₃ e hidrofluorcarbonos) na atmosfera favorecem o desenvolvimento do patógeno (Das et al., 2017). A previsão de aumento da temperatura média do planeta tem incentivado estudos e simulações, que em sua maioria, indicam um aumento na ocorrência do míldio da videira em vinhedos localizados principalmente em ambientes não áridos (Caffarra et al., 2012).

Simulações indicam que as condições climáticas futuras na Europa, tendem a favorecer o aumento da ocorrência e da severidade do míldio da videira, resultando no acréscimo de duas aplicações de fungicida por ciclo e aumento de 20 a 50% nos custos de produção (Francesca et al., 2006). O Brasil, devido a sua dimensão continental, possui cenários contrastantes quanto a ocorrência e severidade do míldio da videira. Enquanto que está previsto um decréscimo da severidade da doença na região Nordeste

do país, no Sul prevê-se o aumento dos problemas fitossanitários relacionados ao míldio da videira (Angelotti et al., 2017).

A utilização de cultivares com resistência genética e física ao míldio da videira é considerada uma das estratégias mais eficiente e ambientalmente saudável no manejo da doença (Gessler et al., 2011 e Morais, 2020). O desenvolvimento de cultivares com resistência durável tem possibilitado o manejo efetivo do oomiceto *P. viticola*, reduzindo a demanda por aplicações sucessivas de fungicidas, minimizando assim impactos ambientais e riscos à saúde humana, bem como os custos econômicos (Töpfer et al., 2011, Merdinoglu et al., 2018, e Caffarra et al., 2012).

2.3 INTERAÇÃO PATÓGENO/HOSPEDEIRO

2.3.1 Interação e resistência

As plantas são imunes a grande maioria dos organismos patogênicos, devido a existência de mecanismos que conferem respostas físicas e bioquímicas ao ataque de patógenos não específicos (Ceresini et al., 2018). A defesa da planta a patógenos engloba um conjunto de características que não são necessariamente atribuídas diretamente a tal função, tais como a capacidade de crescimento, nutrição, fenologia, características fisiológicas, toxicidade, interação com outros organismos e fatores de sinergismo entre estes fatores (Agrawal; Fishbein, 2006).

A coexistência natural entre patógenos e hospedeiros é um fator de seleção recíproca, onde populações de plantas submetidas ao ataque de organismos virulentos tendem a desenvolver e selecionar indivíduos com mecanismos particulares de resistência ou tolerância ao patógeno (Koskella, 2018). Por outro lado, os patógenos evoluem mecanismos que não permitem o seu reconhecimento pelo hospedeiro e, conseqüentemente, o sistema de defesa não é ativado, resultando em uma reação de suscetibilidade (Damgaard, 1999).

De acordo com o modelo de interação patógeno/hospedeiro gene-a-gene descrita por Flor (1971), para cada gene de resistência do hospedeiro (gene *R*), existe um gene de avirulência (gene *Avr*) complementar nos patógenos. Dessa forma, a resistência do hospedeiro somente é ativada caso a interação seja reconhecida pela planta infectada. Um modelo em nível molecular da interação e defesa entre patógenos biotróficos e hospedeiros foi proposto por Jones e Dangl, (2006). Segundo este modelo, que vai ao encontro do modelo gene-a-gene, há receptores que reconhecem padrões específicos

associados ao patógeno que desencadeiam imunidade no hospedeiro, evitando o sucesso do patógeno na tentativa de infecção. No entanto, isolados ou raças dos patógenos adaptados secretam efetores que suprimem os mecanismos de defesa do hospedeiro, levando a uma reação de suscetibilidade.

Há distinções quanto ao nível e efeito da resistência a patógenos. Os genes *R*, de efeito qualitativo, conferem resistência vertical a patógenos, e são de fácil identificação fenotípica, pois geram resposta de resistência total ou nula. De acordo com Kushalappa et al. (2016), respostas de hipersensibilidade e morte celular programada podem ser associadas a resistência qualitativa, comumente monogênica. A resistência de caráter quantitativo é de difícil avaliação, sendo necessários métodos apurados de caracterização, uma vez que estes são geralmente associados a diversos genes, influência do ambiente e metabolismo do hospedeiro. Genes de efeito quantitativo são associados a resistência horizontal, e tem como característica a variação no nível de suscetibilidade do hospedeiro ao patógeno (Kushalappa et al., 2016).

É importante ressaltar que genes são regiões do genoma responsáveis pela expressão de características específicas, e alelos são a variação destes mesmos genes. Os genes de resistência ao míldio da videira seguem a lógica de interação gene-a-gene indicada por Flor (1971). As respostas de defesa ativadas pelos alelos *Rpv* incluem o acúmulo de proteínas de resistência (PR-proteínas), espécies reativas de oxigênio e/ou fitoalexinas (Nascimento-Gavioli et al., 2017), além de morte celular programada ou resposta de hipersensibilidade (HR), levando ao aparecimento de lesões necróticas nos pontos de infecção do patógeno (Heyman et al., 2021).

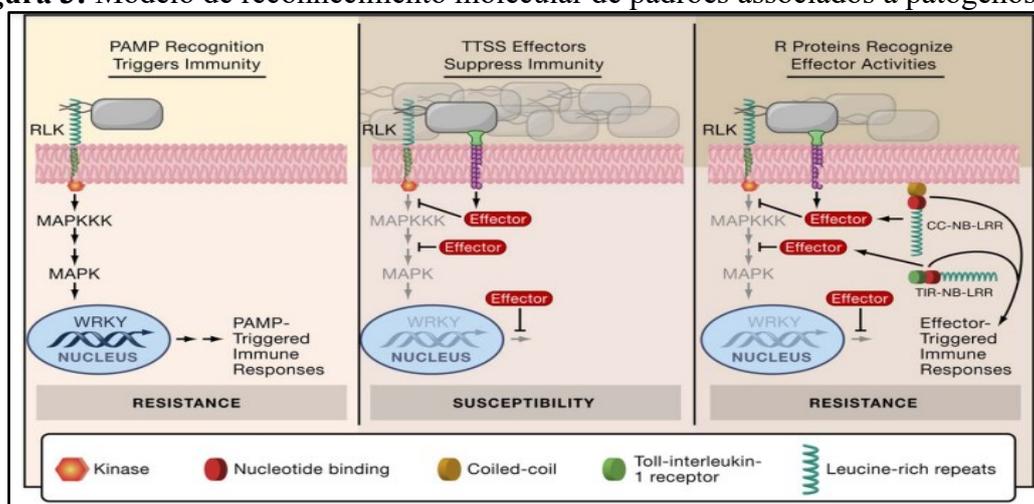
2.3.2 Sistema imune associado a alelos *Rpv*

Para que se entenda o efeito dos genes de resistência é importante que se conheça o princípio de funcionamento do sistema imune da planta. A primeira fase do sistema imune se dá por meio da detecção dos chamados padrões moleculares associados aos patógenos (PAMP), por receptores de reconhecimento de padrões (PRRs). Esses receptores levam a vias de sinalização que levam a Imunidade Desencadeada por PAMPs (PTI) (Poltronieri et al., 2020 e Jones e Dangl, 2006). Os mecanismos de defesa PTI estão ligados a genes do tipo TM-LRR (Transmembrane-leucine rich repeat) que codificam receptores semelhantes a quinases (RLKs) e receptores semelhantes a proteínas (RLPs), que atuam ligados a membrana, conforme demonstrado na Figura 3 (Chisholm et al., 2006 e Poltronieri et al., 2020).

Isolados virulentos do patógeno superam as defesas PTI das plantas, transferindo para a célula efetores, por meio de haustórios, que são proteínas com atividade enzimática que manipulam e modificam as proteínas relacionadas à imunidade das plantas envolvidas nos sinais que levam à defesa. Em contrapartida, as modificações desencadeadas por estes efetores são detectadas por proteínas de resistência, tanto citoplasmáticas quanto ligadas à membrana. O reconhecimento destes efetores por proteínas de resistência leva a Imunidade Desencadeada por Efetores (ETI). Isso leva a ativação de MAP quinases, produção de espécies reativas de oxigênio, sinalização e síntese de proteínas relacionadas a defesa a patógenos (PR-Proteins), transporte e secreção de substâncias na membrana, deposição de calosidades e resposta de hipersensibilidade (HR) (Poltronieri et al., 2020).

As proteínas ETI estão associadas a família de genes de defesa NBS-LRR (NLR) (Nucleotide binding site-leucine rich repeat), que confere alta velocidade de resposta a infecção por patógenos. Estes genes também estão associados à resistência ao míldio e oídio na videira (Poltronieri et al., 2020). Dentro dessa família de genes são descritos dois principais grupos funcionais, os CC-NBS-LRR (CNL) e os e TIR-NBS-LRR (TNL) (McHale et al., 2006). Dentre os 31 locos *Rpv* detectados na videira, os alelos de resistência de apenas dois foram caracterizados, sendo eles *Rpv1* e *Rpv3.1*, tendo ambos sido identificados como genes da classe dos TIR-NB-LRR (TNL) (Feechan et al., 2013 e Foria et al., 2020). Os alelos *Rpv10* e *Rpv12* embora ainda não tenham sido funcionalmente caracterizados, estão localizados em regiões genômicas que contêm clusters de genes do tipo NBS-LRR.

Figura 3: Modelo de reconhecimento molecular de padrões associados a patógenos.



(Fonte: Adaptado de Chisholm et al., 2006).

Estudos que analisaram a ativação da expressão gênica causada pela infecção do tecido foliar de plantas contendo os alelos *Rpv3.1* e *Rpv10*, em comparação a plantas suscetíveis, observou-se que cultivares suscetíveis possuem os mesmos mecanismos de defesa *downstream* presentes em plantas resistentes. Entretanto, plantas com a presença dos alelos de resistência *Rpv* apresentam maior síntese de estilbenóides e maior velocidade de ativação de respostas metabólicas, promovendo reações de incompatibilidade entre o patógeno e hospedeiro de maneira eficiente (Fröbel et al., 2019). Fatores de transcrição, a exemplo do VvWRKY33, associada a indução do gene VvPR10.1, estão intimamente relacionados com a velocidade da resposta à infecção ao *P. viticola* em cultivares resistentes, reduzindo o tempo de resposta e, conseqüentemente, a esporulação do patógeno de 50 a 70%, quando comparado a genótipos suscetíveis (Merz et al., 2014).

2.3.3 Alelos Rpv

A busca por fontes de resistência genética ao míldio tem sido um dos principais objetivos de geneticista e melhoristas de videira nas últimas décadas. A detecção de tais recursos genéticos era feita exclusivamente por meio de análises fenotípicas (Töpfer et al., 2011). A partir da década de 1990, este cenário mudou com o surgimento de técnicas de biologia molecular, que permitiu a construção de mapas genéticos densos para o gênero *Vitis*, a identificação de locos gênicos contendo alelos associados com a resistência a patógenos, por meio da análise de caracteres quantitativos (Quantitative Trait Loci – QTL analysis) e o sequenciamento completo do genoma nuclear da *V. vinifera* (Jaillon et al., 2007).

Dessa forma, a identificação de regiões do genoma da videira contendo alelos que conferem resistência ao míldio tem se multiplicado, tendo sido identificados até o presente momento 31 locos gênicos contendo alelos que conferem resistência genética ao míldio (Maul et al., 2022). O conhecimento acerca da localização dos locos gênicos associados à resistência ao míldio e a identificação de marcadores moleculares que permitem discriminar os alelos que conferem a resistência, tem permitido o melhoramento assistido por marcadores moleculares, favorecendo a piramidação de diferentes fontes de resistência ao míldio (Eibach, et al., 2007).

Dentre os 31 locos associados à resistência ao míldio, apenas os alelos de maior efeito *Rpv1*, *Rpv3.1*, *Rpv3.2*, *Rpv3.3*, *Rpv10* e *Rpv12*, presentes em cultivares

comerciais de videira, são monitorados por marcadores moleculares (Tabela 1) (Heyman et al., 2021). Os alelos de genes de menor efeito, a exemplo do *Rpv4* (Welter et al., 2007), de origem americana, embora contribuam na defesa da planta, são comumente desconsiderados no melhoramento devido ao menor efeito no fenótipo, dificultando a sua seleção.

Tabela 1: Principais alelos de resistência ao *P. viticola* empregados no melhoramento da videira.

Alelo	Cromossomo	Origem da resistência	Nível	Referência
<i>Rpv1</i>	12	<i>V. rotundifolia</i>	Parcial	Merdinoglu et al. (2003)
<i>Rpv3.1</i> *	18	<i>V. rupestris</i>	Parcial	Welter et al. (2007)
<i>Rpv3.2</i> *	18	<i>V. rupestris</i> ou <i>V. lincecumii</i>	Parcial	Zyprian et al. (2016)
<i>Rpv3.3</i> *	18	<i>V. labrusca</i> ou <i>V. riparia</i>	Parcial	Di Gaspero et al. (2011)
<i>Rpv10</i>	9	<i>V. amurensis</i>	Alto	Schwander et al. (2012)
<i>Rpv12</i> *	14	<i>V. amurensis</i>	Alto	Venuti et al. (2013)

*Relatos na literatura científica de quebra da resistência por isolado de *P. viticola*.

Uma das espécies alvo da seleção para resistência genética ao míldio na viticultura foi a *Muscadinia rotundifolia*, cujas populações apresentam alta resistência não somente ao míldio, mas também ao oídio, causado pelo patógeno *E. necator*. Após o mapeamento do primeiro alelo de resistência ao oídio (*Run1*), estudos identificaram também o alelo *Rpv1* (resistência ao míldio), que está proximamente ligado a *Run1*, localizado no cromossomo 12 (Merdinoglu et al., 2003, Katula-Debreceni et al., 2010). Genótipos que contêm o *Rpv1* apresentam redução na intensidade da doença, sendo considerada uma fonte de resistência parcial a doença (Merdinoglu et al., 2018, Saifert, et al., 2018). Estudos recentes demonstraram que o alelo *Rpv1*, embora apresente resistência parcial ao *P. viticola*, manteve os níveis de eficiência, se mostrando uma fonte até o momento durável (Heyman et al., 2021).

O alelo de resistência *Rpv3* foi mapeado no cromossomo 18 da cultivar Regent (Welter et al., 2007). Até o momento sete diferentes haplótipos associados ao *Rpv3* foram descobertos, sendo originados das espécies *V. rupestris*, *V. lincecumii*, *V. riparia*, e *V. labrusca* (Di Gaspero, et al., 2011). Destes, destacam-se o *Rpv3.1* (Welter et al., 2007), *Rpv3.2* (Zyprian, et al., 2016) e *Rpv3.3*, (Vezzulli, et al., 2019). *Rpv3.1* é originado da espécie *V. rupestris* nativa da América do Norte, sendo uma das fontes de resistência mais utilizadas no desenvolvimento de cultivares resistentes ao míldio.

Os haplótipos *Rpv3* conferem resistência parcial ao míldio (Tabela 1). Quanto aos mecanismos de defesa desencadeados, foi possível identificar uma forte correlação entre a expressão e biossíntese de estilbenos, síntese de polifenóis, respostas de hipersensibilidade e morte celular programada, que auxiliam na redução da intensidade e progresso da doença (Casagrande et al., 2011).

Genótipos resistentes contendo haplótipos *Rpv3* quando desafiados com *P. viticola* têm apresentado altos níveis de síntese de estilbenos e fitoalexinas. Os estilbenos são tóxicos ao *P. viticola* e são considerados uma das principais respostas de defesa de cultivares resistentes ao míldio, reduzindo níveis de esporulação e severidade da doença (Malacarne et al., 2011 e Alonso-Villaverde et al., 2011). Na Europa isolados virulentos, que quebraram a resistência conferida pelos haplótipos *Rpv3*, já foram relatados (Peressotti et al., 2010; Heyman et al., 2021).

A piramidação dos alelos de resistência *Rpv1* e *Rpv3* causa efeito aditivo na resistência ao míldio da videira, tornando os genótipos com resistência total ao patógeno, fato altamente benéfico para eficiência e durabilidade da resistência (Eibach et al., 2007; Nascimento-Gavioli et al., 2017; Saifert et al., 2018).

O alelo de resistência associado ao loco *Rpv10*, localizado no cromossomo 9, foi herdado da espécie *V. amurensis*, de origem asiática (Schwander et al., 2012). O alelo *Rpv10* confere resistência parcial ao míldio, sendo superior ao *Rpv3* (Heyman et al., 2021). Estudos observaram que cultivares que possuem o alelo *Rpv10*, apresentam alta resistência ao míldio, sendo uma fonte altamente promissora (Heyman et al., 2021). Genótipos contendo os alelos *Rpv10* e *Rpv3.3* piramidados manifestaram redução na esporulação do *P. viticola* em tecido foliar, demonstrando o efeito aditivo entre eles (Possamai et al., 2020). Análises de expressão gênica de tecido foliar em decorrência da inoculação com *P. viticola* indicaram um incremento de genes expressos em materiais com os alelos *Rpv10* e *Rpv3* piramidados (Frobel et al., 2019).

Também originado da espécie *V. amurensis*, o alelo *Rpv12*, localizado no cromossomo 14, foi inicialmente introgridido em background genético de *V. vinifera* por melhoristas soviéticos, e vem sendo usado por décadas no desenvolvimento de cultivares resistentes ao míldio (Venuti et al., 2013). Quanto ao nível de resistência, Venuti et al. (2013) classificaram o alelo de resistência *Rpv12* como resistência alta ao míldio. Assim como para o *Rpv10*, a piramidação dos alelos *Rpv12* e *Rpv3.1* gerou efeito aditivo no nível de resistência ao *P. viticola* (Possamai et al., 2020).

Os alelos *Rpv10* e *Rpv12* se mostraram mais eficientes quando comparados aos alelos *Rpv1* e *Rpv3*, sendo observada menor intensidade de esporulação de míldio em tecido foliar destes materiais (Heyman et al., 2021). Análises histológicas demonstraram ainda, que os alelos *Rpv10* e *Rpv12* geraram resposta à infecção ao *P. viticola* em menor tempo quando comparado aos alelos *Rpv1* e *Rpv3*. O estudo em questão indicou que a velocidade de resposta a infecção é um dos fatores determinantes na defesa da videira ao míldio (Wingerter et al., 2021).

De modo geral, devido a especificidade da interação gene-a-gene, há uma tendência de adaptação dos patógenos aos genes de resistência vertical, especialmente quando cultivados em áreas de monocultivo (Mundt, 2014). Isso tem levantado preocupações quanto a durabilidade dos genes *Rpv*. A quebra de resistência já foi relatada tanto para o míldio (Peressotti et al., 2010), quanto para o oídio (Feechan et al., 2013). Portanto, estabelecer estratégias que promovam a durabilidade da resistência é fundamental (Delmotte et al., 2014).

2.3.4 Mecanismos de avirulência do *P. viticola*

Determinados organismos apresentam capacidade variada de superar a barreira de resistência de plantas. Esta capacidade está correlacionada com o potencial evolutivo do patógeno, sendo que organismos com alta capacidade evolutiva, tendem a neutralizar mecanismos de defesa da planta (Ceresini et al., 2018). Os patógenos oomicetos são organismos aos quais se atribui alta capacidade evolutiva, baseado principalmente pela alta especialização com seus hospedeiros, reprodução mista (sexuada e assexuada), heterotalismo (fecundação cruzada) e potencial de disseminação (fluxo gênico) alto (Thines; Kamoun, 2010).

De maneira geral, patógenos biotróficos apresentam cinco características atribuídas ao método de infecção e colonização do tecido de seu hospedeiro: (1) Estruturas de infecção altamente especializadas; (2) Atividade secretora, especialmente de enzimas líticas; (3) Camadas da membrana celular que separam o patógeno e hospedeiro; (4) Longo período de supressão da defesa do hospedeiro; (5) Presença de haustório, hifa especializada de absorção de nutrientes das células do hospedeiro (Mendgen; Hahn, 2002).

O controle do metabolismo das células do hospedeiro é uma característica do patógeno biotrófico, que concentra esforços para manter a compatibilidade entre ambos os organismos. Ao analisar a expressão gênica gerada pela interação entre *P. viticola* e a

videira, foi possível observar uma mudança considerável da expressão gênica, havendo uma supressão em 70% dos genes do tecido infectado (Polesani et al., 2008). Dentre os principais elementos ao qual se atribui o sucesso de infecção da videira pelo míldio, os efetores são tidos como fator chave na supressão do sistema imune e manutenção da interação (Gómez-Zeledón, 2018).

Assim como exposto anteriormente, efetores são proteínas secretadas que possuem efeito imunossupressor sobre o hospedeiro. A expressão de proteínas efetoras está associada a genes de avirulência nos patógenos (Stergiopoulos; Wit, 2009). Estudos identificaram duas famílias principais de efetores secretados pelo oomiceto *P. viticola*, sendo os efetores das famílias dos RXLR e CRN (Yin et al., 2017 e Brilli et al., 2018). Estudos identificaram a família dos efetores RXLR como sendo a principal ferramenta de supressão de resposta de hipersensibilidade no míldio da videira (Chen et al., 2020 e Liu et al., 2018).

De maneira geral, os efetores podem agir tanto no apoplasto quanto no citoplasma das células, entretanto estudos observaram comportamentos variados quanto ao sítio de ação dos efetores (Liu et al., 2018). Neste estudo, os autores observaram o acúmulo dos efetores no núcleo, citosol, membrana plasmática, cloroplasto e mitocôndria, tendo havido em alguns casos mais de um local alvo de um mesmo efetor.

Por meio do sequenciamento do genoma completo do *P. viticola*, mais de 600 genes que codificam para efetores RXLR foram identificados (Yin et al., 2017 e Brilli et al., 2018). Análises comparativas do genoma de isolados de *P. viticola* de origem chinesa e europeia, permitiram observar que dos 100 efetores RXLR do genoma do isolado chinês, somente 20 estavam presentes no isolado originário da Europa (Yin et al., 2017). A partir do sequenciamento de RNA 24, 48 e 72 h após a inoculação do *P. viticola*, foi identificada a expressão de 1592 proteínas secretadas pelo patógeno no processo de infecção (Dussert et al., 2019). Isso mostra a alta complexidade e risco que o míldio da videira representa à durabilidade dos mecanismos de defesa conferidos pelos alelos *Rpv* de maior efeito.

2.3.5 Riscos à durabilidade da resistência conferida pelos alelos *Rpv*

A durabilidade de alelos de resistência está diretamente relacionada a estrutura populacional do patógeno e a capacidade evolutiva a ele atribuída. O *P. viticola* apresenta alto poder evolutivo, entretanto é fundamental que haja um sistema de

reprodução misto no ambiente de ocorrência, alto fluxo de genótipos, populações grandes e altas taxas de mutação (McDonald e Linde, 2002).

Análises de diversidade genética do míldio apontaram alta diversidade dentro e entre populações do patógeno, não somente na América do Norte, mas também na Europa, China e Austrália (Gobbin et al., 2006; Li et al., 2016; Taylor et al., 2019). A presença de variabilidade genética do patógeno na região Sul do Brasil também foi confirmada por meio de marcadores microssatélites (Santos et al., 2020, Tomazetti, 2020). Análise de diversidade genética do míldio em vinhedos experimentais no estado de Santa Catarina, nos quais estão sendo testadas cultivares PIWI com diferentes alelos *Rpv*, sugerem que a presença dos mesmos nos hospedeiros foi o principal fator promotor de diversidade do patógeno (Tomazetti et al., 2020).

Um estudo realizado no Brasil identificou a formação de oósporos do patógeno, o que confirma a presença da fase sexuada do patógeno em vinhedos no sul do país (Bitencourt et al., 2021). Isso representa maior risco à quebra da resistência conferida pelos alelos *Rpv*, uma vez que a reprodução sexuada favorece o cruzamento de indivíduos virulentos e a segregação de seus genes/alelos. Com base no acompanhamento da progressão do míldio da videira a campo, foi observado que mesmo em cultivares com alelos de resistência *Rpv* piramidados, o patógeno foi capaz de gerar esporulação no final do ciclo produtivo e consequente perpetuação destes isolados (Zanghelini et al., 2019) e formar oósporos (Bitencourt et al., 2021). Dessa forma, assim como já mencionado anteriormente, há uma gama de fatores que indicam elevada propensão de superação de fontes de resistência parcial ao míldio da videira no Brasil assim como já foi relatado na Europa.

2.3.6 Superação da resistência ao *P. viticola*

A superação de mecanismos de resistência genética presentes nos hospedeiros por patógenos é um fenômeno comum na agricultura (Zhan et al., 2015). Na videira, assim como em outras espécies, perdas de resistência têm sido relatadas. Estudos realizados na Europa demonstraram que genótipos com resistência parcial têm apresentado perdas de eficiência na resistência ao míldio (Merdinoglu et al., 2018).

Ensaio em discos foliares demonstraram que isolados de *P. viticola* superaram a resistência da cultivar Bianca, conferida pelo alelo *Rpv3.1*, sendo essa a primeira descrição de quebra de resistência pelo patógeno na videira (Peressotti et al., 2010). Também foi possível observar no experimento em questão que isolados avirulentos e

virulentos a cultivar Bianca apresentaram o mesmo nível de agressividade quando inoculados na cultivar suscetível Chardonnay, sugerindo que tal fenômeno de superação de resistência não afetou a agressividade do isolado em questão (Peressotti et al., 2010).

Contudo, estudos relacionados à diversidade genética e agressividade do patógeno tem apontado outro comportamento, sendo observado um acréscimo na agressividade de isolados coletados das cultivares Regent (*Rpv3.1*), Bronner (*Rpv10* e *Rpv3.3*) e Prior (*Rpv3.1* e *Rpv3.3*), quando inoculados em plantas suscetíveis (Delmas et al., 2016). Bioensaios realizados com populações de *P. viticola* coletados na França, Alemanha e Hungria, demonstraram perdas na eficiência da resistência da cultivar Regent, conferida pelo alelo *Rpv3.1*, havendo ainda, um incremento na agressividade destes isolados quando inoculado em plantas suscetíveis (Delmotte et al., 2014). Os haplótipos *Rpv3.2* e *Rpv3.3* tiveram a quebra de resistência descrita mais recentemente (Heyman et al., 2021).

O alelo *Rpv10*, assim como *Rpv12*, são considerados uma fonte eficiente de resistência. Entretanto, ao ser inoculado por isolados puros de *P. viticola*, foi observado decréscimo na eficiência de defesa, fato que sugere a existência de isolados com adaptação parcial ao alelo *Rpv10* (Heyman et al., 2021). A superação da resistência também foi descrita para o alelo *Rpv12* (Wingerter et al., 2021). Neste estudo também foi reportado o primeiro caso de superação de resistência de dois alelos piramidados, tendo sido identificado um isolado que superou as barreiras de defesa conferidas pelos alelos *Rpv3.1* e *Rpv12* (Wingerter et al., 2021).

Alelos *Rpv* são recursos finitos e devem ser utilizados de maneira racional por melhoristas na elaboração e lançamento de cultivares, uma vez que se mal empregados, tendem a perder o efeito e importância no combate ao míldio da videira. Estudos quanto a interação entre patógeno e hospedeiro são fundamentais no entendimento da dinâmica da doença e de como tais informações podem contribuir no melhoramento e manejo sustentável da videira. Dessa forma, o presente estudo avaliou o desenvolvimento fenotípico de amostras de diferentes populações e subpopulações de *P. viticola* inoculados em diferentes hospedeiros. Os resultados deste trabalho fornecem uma base sólida para programas de melhoramento e estudos futuros quanto a possível presença de isolados resistentes a genes *Rpv* no estado de Santa Catarina.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial de adaptação de populações de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira, a diferentes alelos de resistência *Rpv*, como um indicador da durabilidade da resistência, em Santa Catarina.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o nível de resistência conferido por diferentes alelos de resistência *Rpv* desafiados com populações e subpopulações de *P. viticola* coletados no estado de Santa Catarina.
2. Avaliar o comportamento fenotípico de populações e subpopulações de *P. viticola* coletados de diferentes locais e hospedeiros em Santa Catarina, frente a alelos de resistência *Rpv*.
3. Identificar isolados de *P. viticola* com potencial de superação a resistência conferida por alelos *Rpv* no estado de Santa Catarina.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 INÓCULO DE *P. viticola*

4.1.1 Origem do inóculo de *P. viticola*

O inóculo do *P. viticola* foi coletado em dois vinhedos experimentais contrastantes implantados nos municípios de Curitiba e Urussanga, no estado de Santa Catarina. Em Curitiba, o vinhedo está implantado na Área Experimental Agropecuária da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Campus de Curitiba, a 1.000 m de altitude em relação ao nível do mar. Em Urussanga, o vinhedo está implantado na Estação Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), localizada no Vale da Uva Goethe, a 48 metros de altitude em relação ao nível mar.

Os dois vinhedos experimentais são formados por uma coleção de cultivares/genótipos PIWI, que no conjunto têm os alelos *Rpv1*, *Rpv3.1*, *Rpv3.2*, *Rpv3.3*, *Rpv10* e *Rpv12* isolados ou em diferentes combinações (piramidados) (Tabela 2). Ambos os vinhedos são conduzidos em espaldeira, com espaçamento de 3 m entre linhas e 1,20 m entre plantas (Figura 4A e 4B). Ao menos 20 folhas de todas as cultivares/genótipos manifestando esporulações do patógeno foram coletadas separadamente em ambos os vinhedos no final do ciclo produtivo, no mês de fevereiro de 2020 e 2021, momento no qual se observa uma redução significativa na eficiência do sistema de defesa das plantas (Figura 4C e 4D).

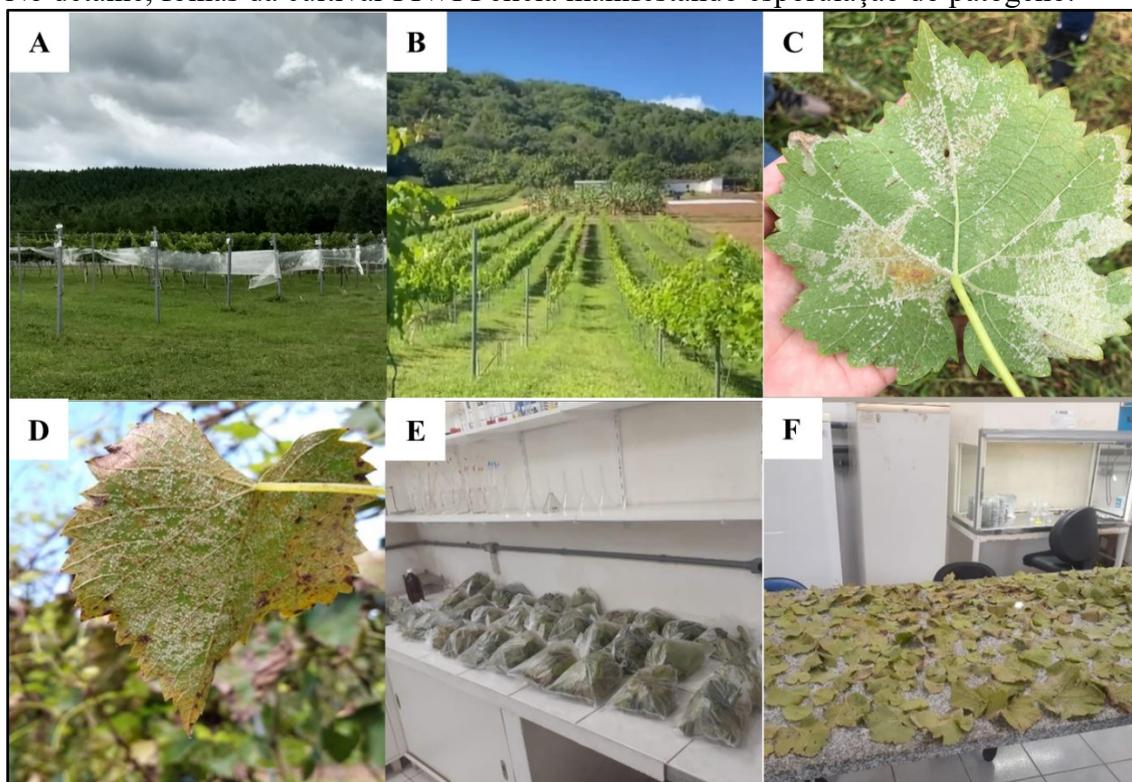
Tabela 2: Coleção de cultivares PIWI mantidas nos vinhedos experimentais nos municípios de Curitiba e Urussanga.

Cultivar/genótipo	Gene <i>Rpv</i>	Instituto/melhorista	Cor baga
Aromera	<i>Rpv3.1</i>	KRF ¹	Branca
Baron	<i>Rpv10</i> , <i>Rpv3.3</i>	SWFAW ²	Tinta
Calandro	<i>Rpv3.1</i>	JKI ³	Tinta
Helios	<i>Rpv3.1</i>	SWFAW	Branca
Prior	<i>Rpv3.1</i> , <i>Rpv3.3</i>	SWFAW	Tinta
Regent	<i>Rpv3.1</i>	JKI	Tinta
Calardis Blanc	<i>Rpv3.1</i> , <i>Rpv3.2</i>	JKI	Branca
Felicia	<i>Rpv3.1</i> , <i>Rpv3.3</i>	JKI	Branca
Bronner	<i>Rpv10</i> , <i>Rpv3.3</i>	SWFAW	Branca
Souvignier Gris	<i>Rpv3.2</i>	SWFAW	Rosada
Johanniter	<i>Rpv3.1</i>	SWFAW	Branca
Cabernet Cortis	<i>Rpv10</i> , <i>Rpv3.3</i>	SWFAW	Tinta
Cabernet Cantor	<i>Rpv10</i> , <i>Rpv3.1</i> , <i>Rpv3.3</i>	SWFAW	Tinta

Cabernet Carbon	<i>Rpv10</i>	SWFAW	Tinta
Gf.2004-043-0024	<i>Rpv1, Rpv3.1</i>	JKI	Branca
Gf.2004-043-0015	<i>Rpv1, Rpv3.1</i>	JKI	Branca
Gf.2004-043-0004	<i>Rpv1, Rpv3.1</i>	JKI	Branca
Gf.2004-043-0010	<i>Rpv1, Rpv3.1</i>	JKI	Branca
GI2004-043-0013	<i>Rpv1, Rpv3.1</i>	JKI	Branca
Gf.2004-043-0021	<i>Rpv1, Rpv3.1</i>	JKI	Branca
Fluertai		IGA ⁴	Branca
Soreli	<i>Rpv12, Rpv3.1</i>	IGA	Branca
Sauvignon Rytos		IGA	Branca
Sauvignon Kretos	<i>Rpv12</i>	IGA	Branca
Merlot Khorus		IGA	Tinta
Merlot Kanthus		IGA	Tinta
Cabernet Volos		IGA	Tinta
Cabernet Eidos		IGA	Tinta

¹KRF Research Station for Viticulture and Enology University of Horticulture and Food Industry Kölyuktető; ²Staatliches Weinbauinstitut Freiburg Abteilung Weinbau; ³Julius Kühn-Institut; ⁴University of Udine and Institute of Applied Genetics.

Figura 4: Vinhedos experimentais localizados em Curitiba e Urussanga dos quais foram coletados isolados de *P. viticola* de uma coleção de 31 cultivares/genótipos PIWI. No detalhe, folhas da cultivar PIWI Felicia manifestando esporulação do patógeno.



A: Vinhedo experimental localizado na Área Experimental Agropecuária da UFSC, Campus de Curitiba; B: Vinhedo experimental localizado na Estação Experimental da EPAGRI em Urussanga; C: Folha da cultivar Felicia com esporulação de míldio

coletada no vinhedo experimental da UFSC, campus de Curitibanos; D: Folha da cultivar Felicia com esporulação de míldio coletada no vinhedo experimental de Urussanga; E: Recepção das amostras de folhas com esporulações de míldio no Centro de Ciências Agrárias, campus Florianópolis; F: Desidratação das folhas coletadas para elaboração das suspensões de esporângios de *P. viticola*.

(Fonte: Acervo do autor, Rebeca Poluceno Souza e Camila Bitencourt).

4.1.2 Preparo das suspensões de esporângios de *P. viticola*

As folhas foram coletadas em sacolas plásticas devidamente vedadas e identificadas com o nome da cultivar e transportadas para o Centro de Ciências Agrárias da UFSC, campus Florianópolis como mostra a Figura 4E. As folhas foram então acondicionadas em ambiente úmido e escuro, dentro de caixas de isopor, por um período de 24 a 48 h para promover a esporulação do patógeno. As folhas foram então dispostas sobre uma superfície seca e arejada para desidratação do tecido foliar, como mostra a Figura 4F. Os esporângios foram então varridos com o auxílio de um pincel para dentro de um Becker contendo água destilada. A suspensão de esporos foi ajustada para a concentração de 5×10^4 esporos por mL. Foram elaboradas no total sete suspensões de esporângios de *P. viticola*, conforme descrito na Tabela 3, representando duas populações (PC21: Curitibanos e PU20 e PU21: Urussanga) e quatro subpopulações de Urussanga, definidas com base no(s) alelo(s) *Rpv* dos hospedeiros (SPR_{pv3}: isolados coletados de hospedeiros contendo apenas o alelo *Rpv3*; SPR_{pv10}: isolados coletados de hospedeiros contendo os alelos *Rpv10*; SPR_{pv3+10}: isolados coletados de hospedeiros contendo apenas o alelo *Rpv3+Rpv10* e SPR_{pv3+1}: isolados coletados de hospedeiros contendo o alelo *Rpv3+Rpv1* (Tabela 3).

Tabela 3: Local, data e cultivares/genótipos das quais foram coletadas folhas para a preparação das suspensões de esporângios das populações e subpopulações de *P. viticola*.

Pop/Subpop.	Data/coleta	Origem/local	Hospedeiros dos quais esporângios de <i>P. viticola</i> foram coletados	Combinações de alelos <i>Rpv</i>
PC21	14/02/2021	Curitibanos	Sauvignon Blanc, Felicia, Regent, Aromera, Calandro, Prior, Gf.2004-043-0024, Gf.2004-043-0010, Gf.2004-043-0015, Cabernet Carbon, Cabernet Cortis, Cabernet Cantor, Baron.	<i>Rpv</i> 3.1+3.3; <i>Rpv</i> 3.1; <i>Rpv</i> 10; <i>Rpv</i> 1+3.1; <i>Rpv</i> 3.1+10; <i>Rpv</i> 3.1+3.3+10.
PU21	05/02/2021	Urussanga	Felicia, Regent, Calandro, Johaniter, Helios, Calardis Blanc, Aromera, Prior, Sauvignier Gris, Gf.2004-043-0024, Gf.2004-043-0015, Cabernet Carbon, Cabernet Cortis, Cabernet Cantor, Baron.	<i>Rpv</i> 3.1+3.3; <i>Rpv</i> 3.1; <i>Rpv</i> 3.1+3.2; <i>Rpv</i> 3.2; <i>Rpv</i> 1+3.3; <i>Rpv</i> 10; 3.1+10; <i>Rpv</i> 3.1+3.3+10.
PU20	24/02/2020	Urussanga	Felicia, Regent, Calandro, Johanniter, Helios, Calardis Blanc	<i>Rpv</i> 3.1+3.3; <i>Rpv</i> 3.1; <i>Rpv</i> 3.1+3.2.
SPRpv3	05/02/2021	Urussanga	Felicia, Regent, Calandro, Johaniter, Helios, Calardis Blanc, Aromera, Prior, Sauvignier Gris.	<i>Rpv</i> 3.1+3.3; <i>Rpv</i> 3.1; <i>Rpv</i> 3.1+3.2; <i>Rpv</i> 3.2.
SPRpv10	05/02/2021	Urussanga	Cabernet Carbon.	<i>Rpv</i> 10.
SPRpv3+10	05/02/2021	Urussanga	Cabernet Cortis, Cabernet Cantor, Baron, Bronner.	<i>Rpv</i> 3.1+10; <i>Rpv</i> 3.1+3.3+10; <i>Rpv</i> 3.3+10.
SPRpv3+1	05/02/2021	Urussanga	Gf.2004-043-0024, Gf.2004-043-0015, Gf.2004-043-0004, Gf.2004-043-0010.	<i>Rpv</i> 1+3.1.

PC21: População Curitibanos; PU21: população Urussanga; SPRpv3: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv*3 em Urussanga; SPRpv10: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv*10 em Urussanga; SPRpv3+10: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv*3+*Rpv*10 em Urussanga; SPRpv3+1: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv*3+*Rpv*1 em Urussanga.

4.2 PAINEL DE GENÓTIPOS TESTADORES

4.2.1 Escolha de cultivares e confecção de mudas

O painel de genótipos testadores foi composto de 11 cultivares/genótipos PIWI que foram selecionadas de modo a representar diferentes combinações de alelos *Rpv* (Tabela 5). As plantas utilizadas no estudo foram produzidas por meio de propagação vegetativa de estacas lenhosas e semilenhosas em bandejas alveoladas de 72 células e volume de 113 ml, contendo substrato Multplant®. Após dez semanas, as estacas que enraizaram foram transplantadas para vasos de oito litros, contendo o mesmo substrato utilizado nas bandejas. As plantas foram mantidas em estufa e práticas de manejo, como poda, adubação e tratamento fitossanitário foram adotados quando necessário ao longo do período de dezembro de 2019 e abril de 2021. Não foi permitida a formação de frutos nas plantas, fator que tende a reduzir a eficiência de defesa uma vez que a planta passa a demandar energia no desenvolvimento dos cachos.

Tabela 4: Cultivares/genótipos testadoras utilizadas nos ensaios de inoculação artificial cruzada em discos foliares.

Cultivar/genótipo	Alelos <i>Rpv</i>	Cruzamento	Instituto	Cor da baga
Cabernet Sauvignon		Cabernet Franc x Sauvignon Blanc		Tinta
Felicia	<i>Rpv3.1, Rpv3.3</i>	Sirius x Vidal Blanc	JKI ¹	Branca
Regent	<i>Rpv3.1</i>	Diana x Chambourcin	JKI	Tinta
Calardis Blanc	<i>Rpv3.1, Rpv3.2</i>	Calardis Musque x Seyve Villard 39- 639	JKI	Branca
Cabernet Carbon	<i>Rpv10</i>	Cabernet Sauvignon x Bronner	SWFAW	Tinta
Cabernet Cantor	<i>Rpv10, Rpv3.1, Rpv3.3</i>	Chancellor x Solaris	SWFAW	Tinta
Baron	<i>Rpv10, Rpv3.3</i>	Cabernet Sauvignon x Bronner	SWFAW	Tinta
Gf.2004-043-0021	<i>Rpv1, Rpv3.1</i>	Seleção	JKI	Branca
Gf.2004-043-0024	<i>Rpv1, Rpv3.1</i>	Seleção	JKI	Branca
Sauvignon Kretos	<i>Rpv12</i>	Sauvignon Blanc x Kozma 20-3	IGA ³	Branca
Soreli	<i>Rpv12, Rpv3.1</i>	Friulano x Kozma 20-3	IGA	Branca

¹Julius Kühn-Institut; ²Staatliches Weinbauinstitut Freiburg Abteilung Weinbau; ³University of Udine and Institute of Applied Genetics.

4.3 INOCULAÇÃO CRUZADA

Experimentos de inoculação cruzada foram realizados em discos foliares das cultivares testadoras descritas na Tabela 5. Para isso foram coletadas as 3^a, 4^a e 5^a folhas mais jovens das plantas mantidas em casa de vegetação livres de qualquer doença ou danos mecânicos. As folhas foram destacadas e transportadas em embalagens plásticas até uma câmara de fluxo laminar para posterior confecção dos discos foliares. Com o auxílio de um vazador, discos de 12 mm de diâmetro foram confeccionados. Com base em testes anteriores, os discos foliares foram submetidos a desinfestação, no qual o material vegetal foi imerso em solução de 1% de cloro ativo por 30 s e posterior tríplex lavagem em água destilada. Os discos foram então dispostos com a face abaxial voltada para cima em placas de Petri contendo meio ágar-água (6g/L) solidificado. Os discos foliares dos genótipos testadores foram então inoculados com as diferentes suspensões de esporos descritas na Tabela 3.

As inoculações foram realizadas em câmara de fluxo laminar por meio da deposição, com auxílio de uma pipetada graduada, de uma gota de 30 µL da suspensão de esporângios no centro dos discos foliares. As placas foram então celadas e mantidas em ambiente escuro por 24 h, momento em que foi retirada a gota disposta sobre os discos foliares. As placas foram então transferidas para câmara BOD (Demanda bioquímica de oxigênio) a 24°C com fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro, onde permaneceram até os sete dias pós a inoculação (dpi)

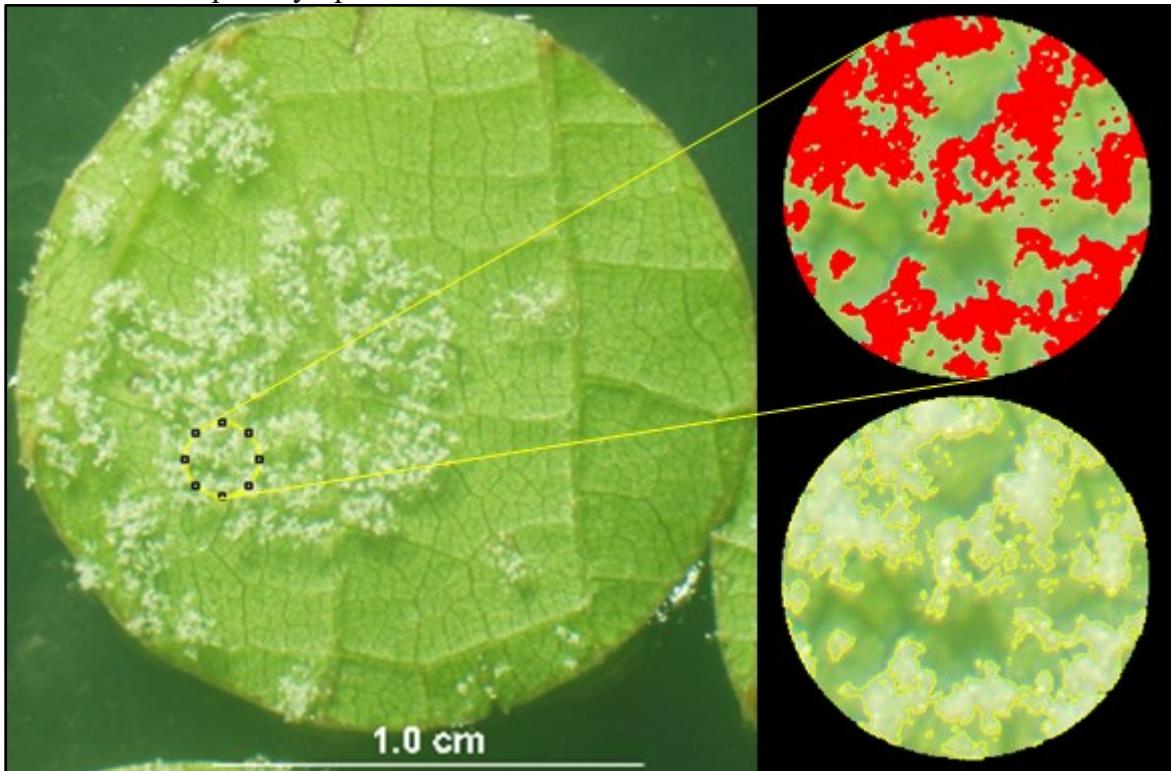
4.4 AVALIAÇÕES

As avaliações consistiram na determinação da severidade (densidade de esporulação) e incidência da doença, nível de resistência, determinada indiretamente pela escala OIV 452-1 e produção de esporângios.

4.4.1 Severidade

A severidade foi mensurada por meio da análise de imagens dos discos foliares feitas aos seis dias pós-inoculação (dpi), usando um estereomicroscópio Olympus SZH10, equipado com câmera Olympus DP71. As imagens foram avaliadas empregando o software ImageJ (Schneider et al., 2012). Uma área circular de 1.13 mm² foi determinada para medir a intensidade de desenvolvimento dos esporangióforos em porcentagem do tecido foliar coberto pela esporulação.

Figura 5: Avaliação de severidade de esporulação via software ImageJ, utilizando imagens dos discos foliares, capturadas com câmera Olympus DP71, acoplada a estereomicroscópio Olympus SZH10.



(Fonte: Acervo do autor).

4.4.2 Incidência

A incidência da doença foi determinada empregando as mesmas imagens utilizadas para a determinação da severidade. A avaliação foi feita por meio da verificação da presença (nota 1) ou ausência (nota 0) de estruturas reprodutivas (esporangióforos) do *P. viticola* no tecido foliar aos seis dpi.

4.4.3 Nota escala OIV 452-1

Complementarmente os discos foliares foram avaliados por meio do uso da escala OIV-452-1 (OIV, 2009), amplamente utilizada como uma medida indireta do nível de resistência ao míldio, que categoriza os genótipos de videira em cinco graus de resistência: (1) suscetível; (3) pouco resistente; (5) resistente; (7) muito resistente; (9) imune, com base na intensidade de esporulação, conforme esquematizado na Figura 6. A nota de cada hospedeiro foi definida com base na moda dos dados, com o intuito de

representar a resistência das cultivares de acordo com o nível de resposta mais observado nas inoculações.

Figura 6: Gradiente de resistência a *Plasmopara viticola* manifestado em discos foliares de videira, de acordo com a escala OIV 452-1.



(Fonte: Acervo do autor).

4.4.4 Produção de esporângios

O número médio de esporângios por disco foliar, que determina o potencial de dispersão do patógeno, foi mensurado com base na metodologia adaptada de Delmas et al. (2014). Aos sete dpi os discos foliares foram lavados com cinco mL de água destilada com o auxílio de uma pipeta graduada de um mL. A contagem dos esporângios foi feita imediatamente após a lavagem, de modo manual, utilizando um estereomicroscópio (ampliação de $\times 400$) e uma câmara de Neubauer. Foi avaliado um disco por bloco, totalizando quatro discos por tratamento.

4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os ensaios foram conduzidos em placas de Petri com delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo que cada repetição foi constituída de três discos foliares. Os testes de normalidade dos dados, análise de variância, teste de separação de média de Freedman, seguido do teste Dunn e teste Tukey, foram feitos usando o software SigmaPlot 12.0 (Systat Software, Inc., San Jose, California, USA). O heatmap e o blockspot foram desenvolvidos usando Microsoft Excel (2019).

5. RESULTADOS

5.1 RESPOSTA FENOTÍPICA DA INOCULAÇÃO CRUZADA EM DISCOS FOLIARES

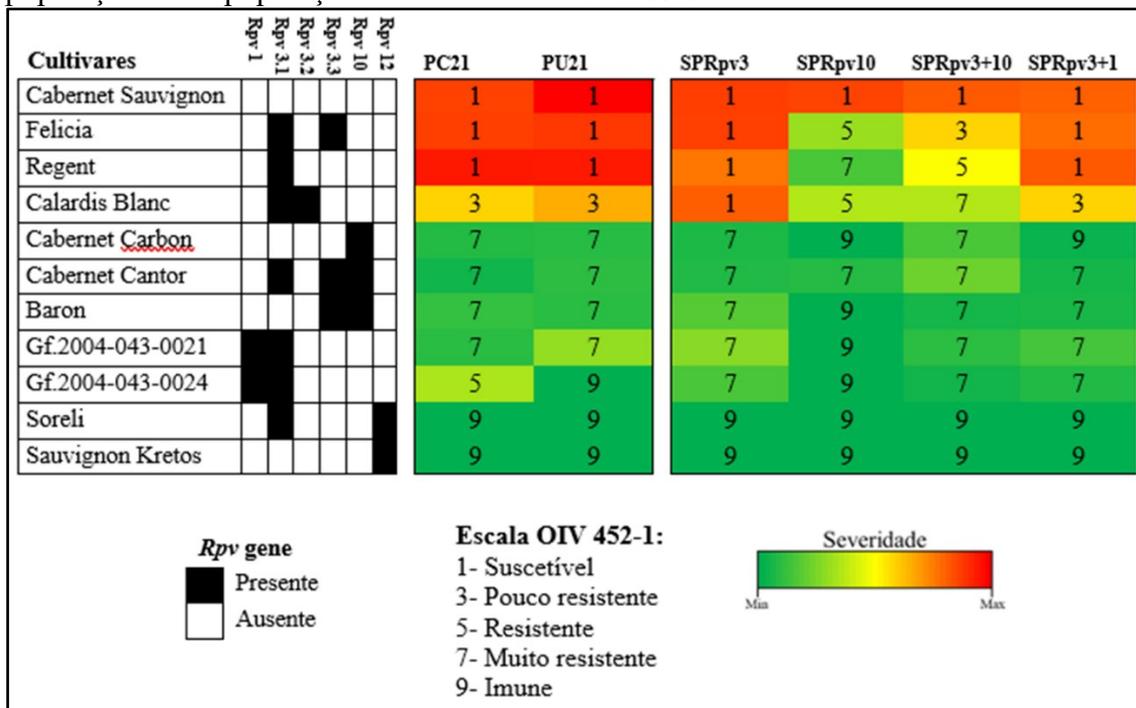
Os resultados obtidos com as inoculações de suspensões de esporângios das populações e subpopulações de *P. viticola* no painel de cultivares/genótipos contendo diferentes alelos de resistência *Rpv* são apresentados nas Figuras 7 e 8. De maneira geral, as análises de severidade e nota da escala OIV 452-1 apresentaram coeficiente de variação dos dados inferior a 20%, como mostram as Tabelas complementares 1 e 2.

A cultivar Cabernet Sauvignon, que não possui alelos de resistência de grande efeito ao *P. viticola*, se mostrou suscetível em todos os ensaios de inoculação, com esporulação densa do patógeno, resultando em severidade acima de 42,4% e nota 1 (tabela complementar 1 e 2). Isso demonstra que todas as suspensões utilizadas no presente estudo apresentavam esporângios viáveis e com capacidade de infecção do tecido vegetal como demonstrado na Figura 8.

As cultivares que possuem somente os alelos de resistência *Rpv3.1* e *Rpv3.3*, isolados ou em conjunto, também apresentaram alto nível de severidade e nota 1 na escala OIV, exceto quando inoculadas com esporângios coletados de hospedeiros contendo os alelos *Rpv10* (SPRpv10) e *Rpv3+Rpv10* (SPRpv3+10). A cultivar Calardis Blanc, que possui os alelos *Rpv3.1* e *Rpv3.2*, apresentou resistência superior às demais cultivares que contêm os alelos *Rpv3.1* ou *Rpv3.1+Rpv3.3*. No entanto, nesta também foi observado o desenvolvimento pleno de esporulações do patógeno quando inoculada com a subpopulação composta por isolados coletados de hospedeiros contendo os diferentes haplótipos de *Rpv3* (SPRpv3) (Figura 8). Por outro lado, quando *Rpv3.1* foi combinado com *Rpv1*, foi observado que os genótipos manifestaram alta resistência e baixa severidade à doença (Figura 7), demonstrando a eficácia da piramidação destes. Apesar disso, esporulações foram observadas no genótipo Gf.2004-043-0024 (*Rpv1+3*) quando inoculado com a suspensão de esporângios da população PC21 (Figura 8).

Nenhuma das populações ou subpopulações gerou alto nível de severidade em cultivares que possuem o alelo *Rpv10*. Não foi detectada redução na severidade da doença nas cultivares que possuem o alelo *Rpv10* piramidado com o alelo *Rpv3.3* e *Rpv3.1* (Cabernet Cantor e Baron), uma vez que estas não diferiram de Cabernet Carbon (*Rpv10*) (Figura 7 e Tabela complementar 4 e 6). Nenhuma população de isolados foi capaz de gerar esporulações em discos foliares das cultivares Soreli e Sauvignon Kretos, que possuem os alelos *Rpv3.1+Rpv12* e *Rpv12*, respectivamente (Figura 8).

Figura 7: Heatmap da severidade, representada pela escala de cores, e notas da escala OIV-452-1, representada pelos números, manifestadas por cultivares/genótipos contendo diferentes alelos de resistência *Rpv* em resposta à infecção por diferentes populações e subpopulações de isolados de *P. viticola*.

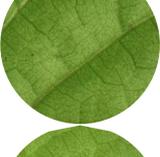
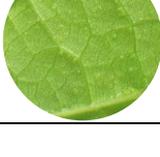
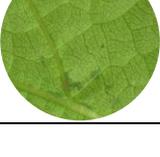


Os alelos *Rpv* foram definidos com base em Maul et al. 2022.

*Os números referentes a nota da escala OIV 452-1 são a moda dos dados; PC21: população Curitibaanos; PU21: população Urussanga; SPR_{pv3}: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3* em Urussanga; SPR_{pv10}: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv10* em Urussanga; SPR_{pv3+10}: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3+Rpv10* em Urussanga; SPR_{pv3+1}: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3+Rpv1* em Urussanga.

A subpopulação de isolados SPR_{pv3}, coletados de hospedeiros que carregam os alelos *Rpv3.1*, *Rpv3.2* e *Rpv3.3*, se mostrou igualmente virulenta e com severidade da doença por vezes superior quando comparada às populações PC21 e PU21, como mostra o quadro representativo das inoculações cruzadas (Figura 8). A subpopulação de isolados SPR_{pv10}, coletados de hospedeiros com o gene *Rpv10*, apresentou virulência inferior aos demais inóculos, gerando reação de suscetibilidade somente nos discos foliares do hospedeiro suscetível (Cabernet Sauvignon). A suspensão SPR_{pv3+10}, coletada de hospedeiros contendo *Rpv3+Rpv10*, embora tenha gerado maior severidade e virulência que SPR_{pv10}, se mostrou menos agressiva que as subpopulações SPR_{pv3} e SPR_{pv3+1}.

Figura 8: Quadro representativo da resposta a inoculação cruzada de suspensões de esporângios de *P. viticola* amostrada das populações PC21 e PU21 e subpopulações SPRpv3, SPRpv10, SPRpv3+10 e SPRpv3+1, sobre discos foliares de 11 cultivares/genótipos testadoras resistentes e suscetíveis aos seis dias após a inoculação.

	PC21	PU21	SPRpv3	SPRpv10	SPRpv3+10	SPRpv3+1
Cabernet Sauvignon (suscetível)						
Felicia (<i>Rpv3.1</i> e <i>Rpv3.3</i>)						
Regent (<i>Rpv3.1</i>)						
Calardis Blanc (<i>Rpv3.1</i> e <i>Rpv3.2</i>)						
Cabernet Carbon (<i>Rpv10</i>)						
Cabernet Cantor (<i>Rpv10</i> , <i>Rpv3.1</i> e <i>Rpv3.3</i>)						
Baron (<i>Rpv10</i> e <i>Rpv3.3</i>)						
Gf.2004-043-0021 (<i>Rpv1</i> e <i>Rpv3.3</i>)						
Gf.2004-043-0024 (<i>Rpv1</i> e <i>Rpv3.3</i>)						
Sauvignon Kretos (<i>Rpv12</i>)						
Soreli (<i>Rpv12</i> e <i>Rpv3.1</i>)						

PC21: População Curitibanos; PU21: população Urussanga; SPRpv3: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3* em Urussanga; SPRpv10: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv10* em Urussanga; SPRpv3+10: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3+Rpv10* em Urussanga; SPRpv3+1: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3+Rpv1* em Urussanga.

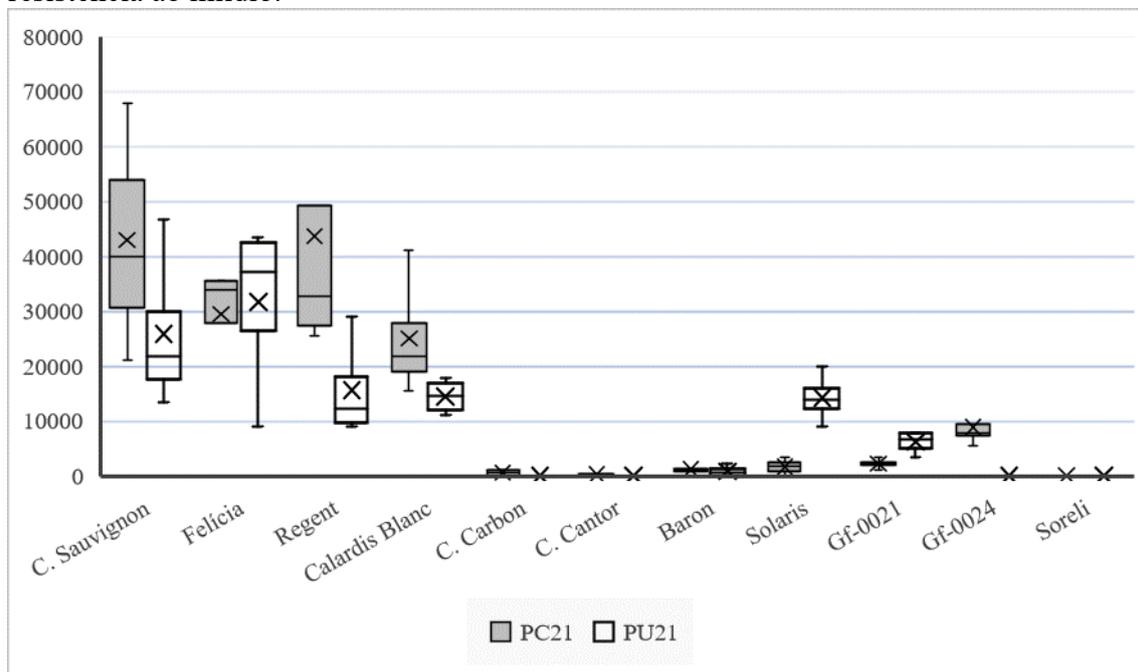
5.2 POTENCIAL DE DISPERSÃO

Nas Figuras 9 e 10 são apresentados os dados referentes a produção de esporângios (potencial de dispersão) das populações e subpopulações estudadas, quando inoculadas nas 11 cultivares/genótipos de videira testadoras. Tanto a cultivar suscetível quanto as cultivares que possuem apenas o alelo *Rpv3*, independentemente do haplótipo, apresentaram expressiva produção de esporângios do patógeno quando inoculadas com ambas as populações (PU21 e PC21). Desta forma, ambas as populações de *P. viticola* possuem isolados com plena capacidade de infecção e esporulação nestes genótipos, apresentando alto potencial de dispersão com uma produção média de esporos superior as 14.4×10^3 esporos mL^{-1} .

Os genótipos que possuem os alelos de resistência *Rpv3.1+Rpv1* apresentaram, no geral, produção baixa de esporângios (Figura 9). No entanto, o genótipo Gf.2004-043-0021 ao ser inoculado por PU21 e o genótipo Gf.2004-043-0024 ao ser inoculado com a população PC21 manifestaram a produção média de esporos por disco foliar superior a 6.1×10^3 8.8×10^3 esporos por mL^{-1} , respectivamente.

As cultivares que possuem os alelos *Rpv10* isolados ou em combinação com haplótipos de *Rpv3* apresentaram produção de esporângios média inferior a 1.2×10^3 esporos mL^{-1} (Figura 9). As cultivares que possuem os alelos *Rpv12*, isolado ou combinado com *Rpv3.1*, se mostraram imunes às populações PC21 e PU21, não tendo sido identificado a produção de esporângios de *P. viticola* nestas.

Gráfico 1: Box Plot representando os dados de produção de esporângios (esporos por mL⁻¹) de *P. viticola* aos sete dias após a inoculação das populações de isolados PC21 e PU21 sobre cultivares/genótipos testadoras suscetível e com diferentes alelos de resistência ao míldio.



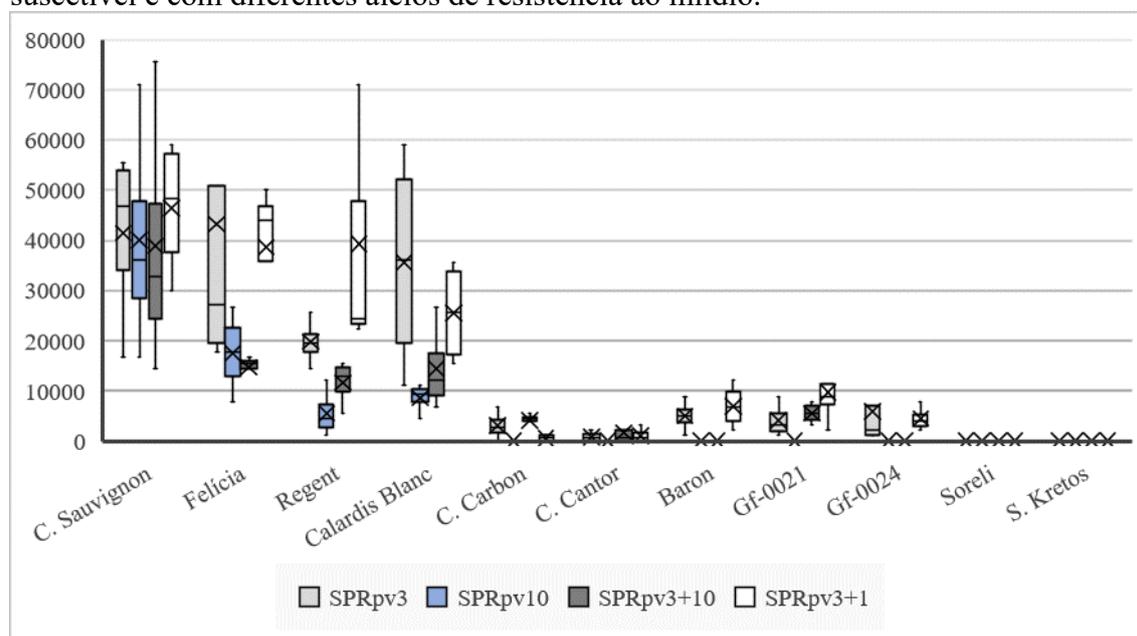
PC21= População de *P. viticola* coletada em Curitiba; PU21 = População de *P. viticola* coletada em Urussanga; X= Média; — = Mediana.

Todas as subpopulações foram capazes de gerar alta produção de esporângios quando inoculados na cultivar suscetível Cabernet Sauvignon, sendo observada a produção superior a 38×10^3 esporos por mL⁻¹ (Figura 10). Nas cultivares que possuem somente os haplótipos *Rpv3* também foi observada alta produção de esporângios (produção média superior a 22×10^3 esporos por mL⁻¹) quando inoculadas com as subpopulações coletadas de hospedeiros contendo os alelos *Rpv3* e *Rpv1+3.1* (SPR_{pv3} e SPR_{pv3+1}). Por outro lado, nestas mesmas cultivares foi observada a menor produção de esporângios quando inoculadas com as subpopulações SPR_{pv10} e SPR_{pv3+10}.

Os genótipos que possuem os alelos de resistência *Rpv3.1+Rpv1* apresentaram produção baixa de esporângios (Figura 10). No entanto, foi possível observar que o genótipo Gf.2004-043-0021 ao ser inoculado por SPR_{pv3} e SPR_{pv3+1} gerou uma produção média de esporângios entre 6.9 e 9.7×10^3 esporos por mL⁻¹. Também foi possível observar que o genótipo Gf.2004-043-0024 ao ser inoculado pelas subpopulações de *P. viticola* SPR_{pv3} e SPR_{pv3+1}, apresentou produção média de esporângios que variou de 4.4 a 5.8×10^3 esporos por mL⁻¹.

As cultivares que possuem o alelo *Rpv10* manifestaram produção de esporângios inferior a 6.9×10^3 esporos por mL^{-1} . As cultivares Soreli e Sauvignon Kretos, que possuem o alelo *Rpv12*, não apresentaram desenvolvimento de esporangióforos no tecido foliar, tendo se mostrado imunes a todas as populações e subpopulações do patógeno testadas.

Gráfico 2: Box Plot representando os dados de produção de esporângios (esporos por mL^{-1}) de *P. viticola* aos sete dias após a inoculação das subpopulações de isolados SPRpv3, SPRpv10, SPRpv3+10 e SPRpv3+1 sobre cultivares/genótipos testadoras suscetível e com diferentes alelos de resistência ao míldio.



SPRpv3: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3* em Urussanga;
 SPRpv10: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv10* em Urussanga;
 SPRpv3+10: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3+Rpv10* em Urussanga;
 SPRpv3+1: Subpopulação coletada de hospedeiro contendo *Rpv3+Rpv1* em Urussanga;
 X= Média; — = Mediana.

5.3 RESPOSTA DOS ALELOS *Rpv3* A INOCULAÇÃO DA SUSPENSÕES PU20 E PU21

Os resultados de severidade, incidência e nota da escala OIV 452-1 referentes a inoculação com as populações de esporos coletados no município de Urussanga nos ciclos de cultivos 2019/2020 e 2020/2021 (PU20 e PU21) nas cultivares/genótipos Cabernet Sauvignon, Felicia, Regent, Calardis Blanc e Gf.2004-043-0024 são apresentados na Tabela 5. Não foram observadas diferenças significativas atribuídas ao ano de coleta sobre a severidade, incidência e nota da estaca OIV 452-1. As cultivares

Felicia (*Rpv3.1+Rpv3.3*) e Regent (*Rpv3.1*) não diferiram estatisticamente da cultivar suscetível Cabernet Sauvignon quanto a severidade da doença e apresentaram incidência e nota da escala OIV 452-1 idêntica a Cabernet Sauvignon. A cultivar Calardis Blanc, por outro lado, se mostrou mais eficiente que as demais cultivares que possuem somente os haplótipos *Rpv3*, tendo apresentado menor severidade da doença nos dois anos de testes (Tabela 5). Estes resultados tornam visível a erosão de resistência conferida pelos alelos *Rpv3* no presente estudo, porém em menor intensidade ao alelo *Rpv3.2*, ou a combinação *Rpv3.1+3.2*.

Tabela 5: Efeito da inoculação das suspensões de esporângios de *P. viticola* da população PU20 e PU21 sobre cultivares contendo os diferentes haplótipos *Rpv3* ou *Rpv3.1+Rpv1* em comparação com hospedeiros suscetível, nos anos de 2020 e 2021.

Cultivar	PU20			PU21		
	Severidade (%)	Incidência (%)	OIV 451-2	Severidade (%)	Incidência (%)	OIV 451-2
Cabernet Sauvignon	57.4 a	100 a	1	52.3 a	100 a	1
Felicia	56.8 a	100 a	1	46.7 a	100 a	1
Regent	59.3 a	100 a	1	49.8 a	100 a	1
Calardis Blanc	46.1 b	100 a	3	34.5 b	100 a	3
Gf.2004-043-0024	6.6 c	66.7 b	7	0.0 c	0.0 b	9
CV%	9.9	13.4	23.5	10.9	0.0	14.6

A severidade e incidência foi submetida ao teste Tukey a 5% de significância; A nota OIV452-1 exposta é referente moda dos dados; CV: Coeficiente de variação; PU2020: População Urussanga 2020; PU: População Urussanga 2021;

Foi possível observar que o alelo *Rpv3.1*, quando piramidado ao alelo *Rpv1*, apresentou menor severidade, incidência da doença e maior nível de resistência que as demais cultivares listadas na Tabela 5.

6. DISCUSSÃO

6.1 NÍVEIS DE RESISTÊNCIA

Diferentes níveis de resistência foram observados nas 10 cultivares/genótipos testadoras que contêm os principais alelos de resistência *Rpv* usados no melhoramento genético da videira, quando inoculadas por duas populações de *P. viticola*, coletadas em dois locais (Urussanga e Curitibanos) do estado de Santa Catarina, e quatro subpopulações, coletadas em Urussanga. Diferenças na incidência, severidade e na nota da escala OIV 452-1 foram observadas em discos foliares dependendo da presença do(s) alelo(s) *Rpv* e da origem das suspensões do inóculo. Resultados semelhantes foram observados recentemente por Heyman et al. (2021) na Alemanha.

Dentre os alelos de resistência testados, o *Rpv12* se destacou como a fonte de resistência mais eficiente contra o míldio da videira no presente trabalho. Originalmente introgridido da espécie *V. amurensis*, o alelo *Rpv12* é um recurso valioso ao melhoramento da videira (Venuti et al., 2013). Estudos tem demonstrado que o alelo *Rpv12* confere alto nível de resistência ao *P. viticola*, seja quando utilizado isoladamente ou piramidado com outro alelo de resistência (Heyman et al., 2021; Possamai et al., 2020). Embora não tenha sido identificado o desenvolvimento de esporulações no tecido foliar de cultivares que carregam o alelo *Rpv12* no presente estudo, isolados que superaram esta fonte de resistência já foram relatados na Europa (Wingerter et al., 2021). Estudo realizado na Europa observou que o alelo *Rpv12* confere maior velocidade de ativação do sistema de defesa e maior acúmulo de metabolitos associados a defesa da planta logo após a infecção do patógeno quando comparado ao *Rpv3.1*, (Chitarrini et al., 2020).

O alelo *Rpv10*, assim como o *Rpv12*, tem sido descrito como uma fonte de resistência ao *P. viticola* eficiente (Bove; Rossi, 2020; Zini et al., 2019). Também de origem Asiática, essa fonte de resistência apresenta potencial de resposta imune a infecção pelo míldio da videira, em especial quando piramidado a outras fontes de resistência (Zini et al., 2019). Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com estas afirmações, visto que foi observada baixa severidade da doença e níveis de resistência altos nas cultivares C. Carbon, C. Cantor e Baron.

Embora ambos os alelos *Rpv10* e *Rpv12* tenham sido introgrididos da espécie asiática *V. amurensis* (Schwander et al., 2012 e Venuti et al., 2013), diferença quanto a eficiência de resposta foi observada. Enquanto *Rpv12* suprimiu completamente o desenvolvimento de esporulações na superfície abaxial foliar, esporulações foram

observadas em cultivares contendo *Rpv10*. Superioridade no nível de resistência do gene *Rpv12* em relação ao *Rpv10* foram descritos também por Possamai et al. (2020), que no estudo em questão observou nível de esporulação moderada associada ao alelo *Rpv10* e esporulação baixa ou nula associada ao gene *Rpv12*. Outro estudo também atribuiu alto nível de resistência ao alelo *Rpv10*, contudo, no artigo em questão foi identificado um isolado capaz de gerar altos índices de severidade da doença em discos foliares, fato que confere fragilidade a durabilidade da resistência desempenhada pelo alelo *Rpv10* (Heyman et al., 2021).

Estudos têm confirmado que a combinação do alelo *Rpv10* e os haplótipos *Rpv3* gera incremento de eficiência de defesa da planta (Schwander et al., 2012; Venuti et al., 2013; Possamai et al., 2020). No entanto, o mesmo não foi detectado no presente estudo, uma vez que as cultivares que possuem somente os alelos *Rpv10* (C. Carbon) e *Rpv12* (S. Kretus) não diferiram das cultivares contendo estes alelos piramidados com o alelo *Rpv3* (Figuras 7 e 8, Tabelas complementares 4 e 6). Apesar de a combinação de dois alelos *Rpv* não necessariamente representar um acréscimo no nível de resistência da planta, se assume que há uma barreira adicional que provê maior segurança quanto a durabilidade de resistência (Zini et al., 2019).

Outro alelo de resistência amplamente utilizado no melhoramento da videira é o *Rpv1*, de origem americana, introgridido de *Muscadinia rotundifolia*, que confere resistência parcial ao míldio da videira (Merdinoglu et al., 2003). Embora não tenha sido avaliado isoladamente no presente estudo, ensaios de resistência em discos foliares realizados no Brasil também observaram resistência parcial (Sánchez-Mora et al., 2017; Saifert et al., 2018). O alelo foi o primeiro alelo funcionalmente caracterizado (Feechan et al., 2013). Estudos sugerem que a resistência parcial conferida pelo alelo *Rpv1* não possui risco iminente de perda de efetividade na Europa (Heyman et al., 2021).

Estudos anteriores observaram importante efeito aditivo na resistência do alelo *Rpv1* na piramidação com o alelo *Rpv3.1* (Eibach et al., 2007; Nascimento-Gavioli et al., 2017; Saifert et al., 2018). O mesmo efeito foi observado no presente trabalho, onde a combinação destes permitiu baixo nível de severidade e boa resposta de resistência em comparação a cultivares que possuem somente haplótipos *Rpv3* (Figura 7, 8 e Tabela 5). No entanto, foi possível observar desenvolvimento considerável de esporangióforos em discos foliares do material Gf.2004-043-0024, quando este foi inoculado com a suspensão PC21 (Figura 8). Isso aponta para um possível processo de adaptação do *P. viticola* aos mecanismos de defesas conferidos pelos alelos *Rpv1* e *Rpv3.1* associados.

Até o momento não há relatos de isolados que tenham superado a resistência dos alelos *Rpv1* e *Rpv3.1* piramidados. Entretanto, há a descrição de isolados que superaram os alelos *Rpv12* e *Rpv3.1* combinados (Wingerter et al., 2021), fato que indica a possibilidade de o mesmo ocorrer em outras combinações de alelos *Rpv* piramidados.

Isolado de espécies nativas da América do Norte, o alelo *Rpv3* foi inicialmente mapeado na cultivar Regent (Welter et al., 2007). Sete haplótipos foram descobertos no loco gênico (Di Gaspero et al., 2011), sendo que somente três deles foram devidamente mapeados e seu efeito sobre o míldio caracterizados (Welter et al., 2007, Zyprian, et al., 2016, Vezzulli, et al., 2019). Os três haplótipos de *Rpv3* conferem resistência parcial ao míldio, em concordância com o encontrado no Brasil (Sánchez-Mora et al., 2017; Saifert et al., 2018). No entanto, têm sido identificados inúmeros isolados que quebraram a resistência conferida por estes alelos de resistência na Europa (Peressotti et al., 2010; Delmotte et al., 2014; Delmas et al., 2016; e Heyman et al., 2021).

Nossos resultados sugerem que os haplótipos *Rpv3*, possuem o menor efeito de resistência dentre os diferentes alelos testados isoladamente. Estes resultados vão ao encontro do observado por Tomazetti et al. (2020), que observou maior diversidade genética de isolados coletados da cultivar com a combinação *Rpv3.1+Rpv3.3* quando comparado ao hospedeiro que carrega *Rpv3.1+Rpv3.2*. Em concordância com o presente trabalho, experimento de inoculação artificial realizado na Europa, relatou diferenças no nível de resistência atribuídos aos diferentes haplótipos de *Rpv3* (Heyman et al., 2021). No artigo em questão foi possível observar superioridade do alelo *Rpv3.1* em relação ao *Rpv3.2* e *Rpv3.3*. Estes resultados contrastam, no entanto, com o exposto por Zini et al. (2019), que não observou superioridade do *Rpv3.1* em relação ao *Rpv3.2*.

6.2 EROÇÃO DA RESISTÊNCIA DOS ALELOS *Rpv3.1* E *Rpv3.3*

O efeito de um alelo de resistência parcial está relacionado ao custo que o patógeno tem ao infectar o hospedeiro e gerar descendentes (Delmas et al., 2016). Os resultados do presente estudo mostraram que as cultivares Felicia e Regent apresentaram a mesma severidade e nota da escala OIV 452-1, que a cultivar suscetível (Tabela 5), exceto quando inoculadas com suspensões das subpopulações SPRpv10 e SPRpv3+10 (Figura 7 e 9). Estes resultados evidenciam a erosão da resistência conferida pelos alelos *Rpv3.1* e *Rpv3.3*. É possível observar ainda que a cultivar Calardis Blanc, que possui os alelos *Rpv3.1* e *Rpv3.2*, se mostrou pouco resistente, embora esta tenha sido superior a Felicia, Regent e Cabernet Sauvignon (Tabela 5).

O primeiro relato de superação de resistência ao míldio da videira foi descrito na cultivar Bianca, que possui o alelo *Rpv3.1* (Peressotti et al., 2010). Mais tarde, em experimentos utilizando isolados de *P. viticola* coletados na França, Alemanha e Hungria, foi observado perdas na eficiência da resistência da cultivar ‘Regent’, conferida pelo loco *Rpv3.1* (Delmotte et al., 2014). Ainda referente aos haplótipos *Rpv3*, Heyman et al. (2021) relatou a ineficiência de resistência dos genes *Rpv3.2* e *Rpv3.3*, quando inoculados por diferentes isolados puros de *P. viticola*.

No Brasil, a diversidade genética do patógeno observada (Tomazetti et al., 2020), aliada a ocorrência da reprodução sexuada (Bitencourt et al., 2021) do *P. viticola* no estado de Santa Catarina, indicam alta possibilidade de seleção de isolados plenamente adaptados a genes de resistência parcial. Os resultados obtidos no presente trabalho comprovam a presença de isolados nas populações do patógeno de Santa Catarina com amplo potencial de desenvolvimento de esporulações em discos foliares de cultivares que carregam somente o alelo *Rpv3* (Figura 8), indicando a superação da resistência destes alelos. Adicionalmente, não foi possível observar efeito aditivo de resistência dos alelos *Rpv3.1* e *Rpv3.3* associados ao *Rpv10* no presente estudo, semelhante ao observado por Zini et al. (2019). Entretanto, outros estudos descreveram um acréscimo significativo na eficiência de defesa de plantas que possuem a piramidação dos alelos *Rpv10* e *Rpv3.3* (Fröbel et al., 2019; Possamai et al., 2020). Dessa forma, é possível pressupor que os haplótipos *Rpv3.1* e *Rpv3.3* tiveram mecanismo de defesa totalmente superadas no estado de Santa Catarina.

Vale ressaltar que embora haja isolados que superaram a barreira de defesa conferida pelos haplótipos *Rpv3.1* e *Rpv3.3*, foram identificados isolados de subpopulações que não foram capazes de desenvolver resposta de suscetibilidade nas cultivares Felicia e Regente. Os isolados coletados de hospedeiros que possuem o alelo *Rpv10*, isolado ou em conjunto com haplótipos *Rpv3*, não desenvolveram severidade da doença em intensidade semelhante ao observado na cultivar suscetível Cabernet Sauvignon (Figura 7 e 9). Contudo, quando inoculadas as quatro subpopulações sobre cultivares que possuem o alelo *Rpv10* (C. Carbon, C. Cantor e Baron), foi possível observar que isolados coletados de hospedeiros que contêm os alelos *Rpv10+Rpv3* produziram maior severidade da doença nas cultivares C. Carbon e C. Cantor (Tabela complementar 7), diferente das populações PC e PU (Tabela complementar 5), que não diferiram entre si. Isso mostra diferenças no nível de adaptação de isolados a

hospedeiros específicos, e um risco a superação do alelo *Rpv10*, que segundo Heyman et al. (2021) é uma fonte resistência frágil quanto a durabilidade da resistência.

6.3 ADAPTAÇÃO DE POPULAÇÕES E SUBPOPULAÇÕES DE *P. viticola*.

A cultivar Cabernet Sauvignon, que não possui alelos de resistência ao míldio da videira de grande efeito, assim como esperado, se mostrou altamente suscetível a todas as suspensões de esporângios. Ao analisar isolados de *P. viticola*, um estudo observou o acréscimo na agressividade de isolados coletados das cultivares ‘Regent’, ‘Bronner’ e ‘Prior’, quando inoculados em plantas suscetíveis (Delmas et al., 2016). Este efeito não foi observado no presente trabalho, onde a cultivar suscetível Cabernet Sauvignon ao ser inoculada com suspensões coletadas de diferentes combinações de hospedeiros, não apresentou diferenças significativas quanto a severidade da doença (Tabela complementar 3).

Foi possível observar ainda, diferenças na intensidade de esporulação geradas pelas diferentes populações e subpopulações de *P. viticola* quando inoculadas nas cultivares/genótipos testadores (Figuras 7 e 8). Estes resultados são congruentes com os encontrados por Tomazetti et al. (2020), onde análises da estrutura genética populacional do patógeno em Santa Catarina indicou a presença de alelos de resistência nos hospedeiros como o principal fator que influenciou a diversidade genética de *P. viticola*. Os autores do estudo também constataram a presença de alelos exclusivos nos hospedeiros em função da combinação de alelos *Rpv* que estes carregavam, evidenciando a presença de isolados de *P. viticola* em processo de adaptação a diferentes fontes de resistência (Tomazetti et al., 2020).

Ao analisar a severidade da doença gerada pela subpopulação de isolados SPRpv3, coletada de hospedeiros contendo somente haplótipos *Rpv3*, foi possível observar resultados semelhantes as populações PC21 e PU21. Também foi possível observar resposta de suscetibilidade e máxima severidade da doença em cultivares contendo os haplótipos *Rpv3* e a cultivar Cabernet Sauvignon quando inoculadas por SPRpv3 (Figura 7). Dentre os hospedeiros que possuem alelos de resistência ao míldio no estado de Santa Catarina, as cultivares que contêm os haplótipos *Rpv3* apresentaram a maior diversidade de isolados em seu tecido foliar (Tomazetti et al., 2020). Contudo, não havendo diferenças entre hospedeiros suscetíveis e hospedeiros contendo alelos de resistência, é possível sugerir que o patógeno não possui dificuldade ou custo ao seu

desenvolvimento (*fitness costs*), o que configura superação da resistência (Delmas et al., 2016). Isso é facilitado pelo processo evolutivo atribuído ao oomiceto *P. viticola*, que tende a selecionar indivíduos adaptados a fontes parciais de resistência (Delmotte et al., 2014).

No presente estudo foi observado que as subpopulações apresentam maiores discrepâncias entre si no que se refere a severidade da doença causada nos discos foliares, o que é menos evidente quando comparadas as duas populações de isolados PC21 e PU21 (Figuras 7 e 8). Isto possivelmente se deve ao fato de as amostragens das populações de *P. viticola* reunirem isolados adaptados ou parcialmente adaptados a todos os hospedeiros que manifestaram esporulações da doença a campo, enquanto que as subpopulações selecionaram isolados adaptados ao grupo específico de hospedeiros.

A capacidade de dispersão do *P. viticola* está diretamente relacionada aumento da frequência de isolados adaptados a genes de resistência. Quanto maior o nível de adaptação do patógeno, maior a perpetuação de descendentes e maior o potencial de dispersão (Delmas et al., 2014). Nossos resultados mostram tendências claras associadas ao potencial de dispersão gerado pelas diferentes populações e subpopulações de *P. viticola*. Foi observada alta produção de esporângios tanto na cultivar Cabernet Sauvignon e nas cultivares contendo os haplótipos *Rpv3*, exceto quando inoculadas por SPRpv10 e SPRpv3+10. Semelhante ao descrito por Peressotti et al. (2010), que identificou um isolado capaz de gerar esporulações na cultivar Bianca (*Rpv3.1*) em densidade semelhante ao observado na cultivar suscetível Chardonnay (Figuras 9 e 10).

Também, não foi observado nenhuma população e subpopulação de isolados capaz de gerar alta produção de esporângios em discos foliares de cultivares contendo os alelos *Rpv10*. Nível semelhante de produção de esporângios foi observado por Bove et al. (2020). Contudo, o experimento em questão que caracterizou o nível de resistência de diferentes alelos *Rpv*, observou igual nível de produção de esporângios associados tanto ao alelo *Rpv10*, quanto para o alelo *Rpv12* e os haplótipos *Rpv3*. Resultado diferente do observado no presente trabalho (Figura 9 e 10).

A distribuição de isolados adaptados a alelos de resistência está diretamente relacionada à dinâmica populacional do patógeno e na pressão de seleção exercida no manejo e cultivo dos hospedeiros (McDonald; Linde, 2002). O modelo de experimentação testado no presente trabalho tem por diferencial avaliar amostras amplas de isolados de *P. viticola*, permitindo uma análise geral do comportamento da população do patógeno.

6.4 RISCOS AO MELHORAMENTO DA VIDEIRA NO BRASIL

A superação do efeito de alelos de resistência é um risco ao processo de melhoramento da videira para resistência a doenças. A capacidade do patógeno em infectar o hospedeiro e se perpetuar por meio da produção e disseminação de esporângios está diretamente relacionada ao risco de superação do efeito de alelos *Rpv* pelo oomiceto *P. viticola* (Delmas et al., 2014). De acordo com Delmotte et al. (2014), após a introdução da cultivar Regent em uma determinada região da França, foram necessários somente cinco anos até a superação da resistência do alelo *Rpv3.1* pela população do patógeno.

Tomazetti et al. (2020) ao analisar a estrutura genética de populações de *P. viticola* coletadas no município de Urussanga e Curitiba, identificou alelos comuns a ambos os locais, o que sugere troca ou compartilhamento de material genético entre ambas as regiões. O desenvolvimento de esporulações de míldio e produção considerável de esporângios em tecido foliar de materiais como Gf.2004-043-0024 e Baron ao serem inoculadas por população e subpopulações de *P. viticola*, sugere que esteja havendo um processo de seleção de isolados adaptados não somente aos haplótipos *Rpv3*, mas também *Rpv1* e *Rpv10* no estado de Santa Catarina.

Ao se observar a produção de esporângios em cultivares contendo os alelos *Rpv1*, *Rpv3*, e *Rpv10* (Figuras 9 e 10), é possível aferir que há a perpetuação de isolados adaptados ou parcialmente adaptados a estas fontes de resistência. Sabendo da existência da reprodução sexuada do *P. viticola* no estado de Santa Catarina (Bitencourt et al., 2021), há considerável risco de recombinação entre estes isolados e consequente seleção de isolados com a capacidade quebrar a resistência conferida por estes alelos mesmo que piramidados. Deste modo, estratégias de melhoramento e de dispersão destes alelos em condições de cultivo precisam ser definidas, para evitar a erosão total destes alelos de resistência.

Contudo, a piramidação de alelos de resistência tem se mostrado até então eficiente no aumento da resistência ao *P. viticola* (Saifert et al., 2018) e uma alternativa no aumento da durabilidade de resistência em cultivares PIWI. Entretanto, caso haja superação da resistência conferidas por estes alelos de resistência amplamente utilizados, a exemplo dos haplótipos *Rpv3*, a sua utilização passa a se torna ineficiente para a composição de pirâmides de alelos

A metodologia empregada no presente trabalho é inédita em estudos com o *P. viticola*, possibilitando a análise fenotípica de amostras de populações e subpopulações do patógeno. Dessa forma, os resultados obtidos nos experimentos possibilitam a visualização de dinâmicas semelhantes aos ocorridos a campo. Os resultados encontrados neste estudo de dissertação fornecem informações relevantes quanto ao nível de resistência que diferentes alelos *Rpv* apresentam frente a diferentes populações e subpopulações de *P. viticola* no estado de Santa Catarina.

7. CONCLUSÕES

Rpv12 é o alelo de maior efeito de resistência quando desafiado com populações de míldio coletados no estado de Santa Catarina, seguido pelo alelo *Rpv10*.

Há uma erosão da resistência conferida pelos alelos *Rpv3*, particularmente nos haplótipos *Rpv3.1* e *Rpv3.3*, no estado de Santa Catarina.

Não foi detectado efeito aditivo dos haplótipos *Rpv3.1* e *Rpv3.3* quando piramidados ao alelo *Rpv10*.

Há isolados de *P. viticola* com potencial de superação da resistência dos alelos piramidados *Rpv3.1+Rpv1.3* e *Rpv10+Rpv3.1* no estado de Santa Catarina.

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente estudo resultou em informações valiosas quanto ao nível de eficiência que diferentes alelos de resistência *Rpv* apresentam no estado de Santa Catarina e a presença de isolados de *P. viticola* com potencial de superação da resistência dos diferentes haplótipos *Rpv3*.

Estudos complementares de caracterização do perfil genético associado as inoculações cruzadas das populações e subpopulações de *P. viticola* em diferentes cultivares PIWI são um complemento importante ao trabalho, permitindo a análise da distribuição de alelos em função da presença de genes *Rpv* nos hospedeiros.

Com base nas avaliações fenotípicas é possível selecionar isolados puros com potencial superação de genes *Rpv* isolados ou em combinação no estado de Santa Catarina, isso possibilita a execução de estudos aprofundados quanto a adaptação destes patógenos a mecanismos genéticos de resistência.

A continuidade deste trabalho contribuirá com o entendimento inédito da interação patógenos hospedeiro entre isolados com superação de resistência a genes *Rpv* e cultivares PIWI. Dessa forma, estudos futuros tem potencial contribuição na elaboração de estratégias de melhoramento e manejo sustentável da videira.

9. REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, Anurag A.; FISHBEIN, Mark. PLANT DEFENSE SYNDROMES. **Ecology**, New York, v. 87, n. 7, p. 132-149, jul. 2006.
- AGRIOS, George N. **Plant Pathology**. Amsterdam: Elsevier Academic Press, 5 ed. p.922, 2005.
- ALLÈGRE, Mathilde; DAIRE, Xavier; HÉLOIR, Marie-claire; TROUVELOT, Sophie; MERCIER, Laurence; ADRIAN, Marielle; PUGIN, Alain. Stomatal deregulation in *Plasmopara viticola*-infected grapevine leaves. **New Phytologist**, Dijon, v. 173, n. 4, p. 832-840, 20 dez. 2006.
- ALLEWELDT, G. Progress in Botany. **Progress In Botany**, Heidelberg, p. 441-453, 1997.
- ALLEWELDT, G.; POSSINGHAM, J. V. Progress in grapevine breeding. **Theoretical And Applied Genetics**, Siebeldingen. V. 75, n. 5, p. 669-673, maio 1988.
- ALONSO-VILLAVARDE, Virginia; VOINESCO, Francine; VIRET, Olivier; SPRING, Jean-laurent; GINDRO, Katia. The effectiveness of stilbenes in resistant Vitaceae: ultrastructural and biochemical events during *plasmopara viticola* infection process. **Plant Physiology And Biochemistry**, Pontevedra. v. 49, n. 3, p. 265-274, mar. 2011.
- AMORIM, Lilian; REZENDE, Jorge Alberto Marques; FILHO, Armando Bergamin. Manual de fitopatologia. 2011. 4 ed. Piracicaba: Agronômica Ceres. p.704.
- ANGELOTTI, F.; GAVA, C.A.T.; BATISTA, D.C.; FERNANDES, J.M.C.; PAVAN, W. Sistema de Alerta e Previsão para Doenças da Videira. Ed. 1, Petrolina: EMBRAPA/MAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Semiárido e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 36 p. 2012.
- ANGELOTTI, Francislene; HAMADA, Emília; MAGALHÃES, Edineide Elisa; GHINI, Raquel; GARRIDO, Lucas da Ressureição; PEDRO JÚNIOR, Mário José. **Climate change and the occurrence of downy mildew in Brazilian grapevines. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 52, n. 6, p.426-434, jun. 2017.
- BITENCOURT, Camila; PIERRE, Patricia M. O.; PINTO, Felipe A. M. F.; FERMINO-JUNIOR, Paulo C. P.; GOMES, Beatriz R.; MORAIS, Andriele C.; DIAS, Jhennifer M.; WELTER, Leocir J.. First report of oospore formation in *Plasmopara viticola* , the causal agent of grapevine downy mildew, in highland regions of southern Brazil. **Plant Pathology**, Florianópolis, v. 70, n. 8, p. 1897-1907, 18 jul. 2021.
- BOVE, Federica; ROSSI, Vittorio. Components of partial resistance to *Plasmopara viticola* enable complete phenotypic characterization of grapevine varieties. **Scientific Reports**, Piacenza, v. 10, n. 1, p. 1-12, 17 jan. 2020.
- BRILLI, Matteo; ASQUINI, Elisa; MOSER, Mirko; BIANCHEDI, Pier Luigi; PERAZZOLLI, Michele; SI-AMMOUR, Azeddine. A multi-omics study of the

- grapevine-downy mildew (*Plasmopara viticola*) pathosystem unveils a complex protein coding- and noncoding-based arms race during infection. **Scientific Reports**, San Michele all'Adige, v. 8, n. 1, p. 1-12, 15 jan. 2018.
- BUONASSISI, Daniele; COLOMBO, Monica; MIGLIARO, Daniele; DOLZANI, Chiara; Peressotti, Elisa; MIZZOTTI, Chiara; VELASCO, Riccardo; MASIERO, Simona; PERAZZOLLI, Michele; VEZZULLI, Silvia. Breeding for grapevine downy mildew resistance: a review of omics approaches. **Euphytica**, San Michele all'Adige, v. 213, n. 5, p. 1-21, 13 abr. 2017.
- CAFFARRA, Amelia; RINALDI, Monica; ECCEL, Emanuele; ROSSI, Vittorio; PERTOT, Ilaria. Modelling the impact of climate change on the interaction between grapevine and its pests and pathogens: European grapevine moth and powdery mildew. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, San Michele all'Adige, v. 148, p.89-101, fev. 2012.
- CAMARGO, Umberto Almeida; TONIETTO, Jorge; HOFFMANN, Alexandre. Progressos na viticultura brasileira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 144-149, out. 2011.
- CAPPELLO, Fernando Perez; SPÓSITO, Marcel Bellato; OSAKI, Mauro. PRODUCTION COSTS AND PROFITABILITY OF 'NIAGARA ROSADA' TABLE GRAPE GROWN IN DIFFERENT REGIONS OF SÃO PAULO STATE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 1-10, 27 nov. 2017.
- CASAGRANDE, Karen; FALGINELLA, Luigi; CASTELLARIN, Simone Diego; TESTOLIN, Raffaele; Gaspero, Gabriele di. Defence responses in Rpv3-dependent resistance to grapevine downy mildew. **Planta**, Udine, v. 234, n. 6, p. 1097-1109, jul. 2011.
- CERESINI, P. C., Debona, D., Rodrigues, F., Guimarães, L. M., Thurow, L., Möller, P., & Eiras, M. (2018). Resistência genética de plantas a patógenos.
- CHEN, Tingting; LIU, Ruiqi; DOU, Mengru; LI, Mengyuan; LI, Meijie; YIN, Xiao; LIU, Guo-Tian; WANG, Yuejin; XU, Yan. Insight Into Function and Subcellular Localization of *Plasmopara viticola* Putative RxLR Effectors. **Frontiers In Microbiology**, Yangling, v. 11, p. 1-14, 21 abr. 2020.
- CHISHOLM, Stephen T. COAKER, G., DAY. B., e STASKAWICZ, B. J. Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. **Cell**, Berkeley, v. 124, n. 4, p. 803-814, 2006.
- CHITARRINI, Giulia; RICCADONNA, Samantha; ZULINI, Luca; VECCHIONE, Antonella; STEFANINI, Marco; LARGER, Simone; PINDO, Massimo; CESTARO, Alessandro; FRANCESCHI, Pietro; MAGRIS, Gabriele. Two-omics data revealed commonalities and differences between Rpv12- and Rpv3-mediated resistance in grapevine. **Scientific Reports**, San Michele all'Adige, v. 10, n. 1, p. 1-15, 22 jul. 2020.

- DAMGAARD, Christian. Coevolution of a Plant Host–Pathogen Gene-for-gene System in a Metapopulation Model without Cost of Resistance or Cost of Virulence. **Journal Of Theoretical Biology**, Vejlsøvej, v. 201, n. 1, p. 1-12, nov. 1999.
- DAS, Tanmoy; MAJUMDAR, M. Hajong D; DEVI, Rk Tombisana; RAJESH, T. Climate change impacts on plant diseases. **Saarc Journal Of Agriculture**, Meghalaya, v. 14, n. 2, p. 200-209, 23 jan. 2017.
- DELMAS, Chloé E. L. et al. Adaptation of a plant pathogen to partial host resistance: selection for greater aggressiveness in grapevine downy mildew. *Evolutionary Applications*, Villenave d'Ornon. v. 9, n. 5, p.709-725, 24 fev. 2016.
- DELMAS, Chloé E.L.; MAZET, Isabelle D.; JOLIVET, Jérôme; DELIÈRE, Laurent; Delmotte, François. Simultaneous quantification of sporangia and zoospores in a biotrophic oomycete with an automatic particle analyzer: disentangling dispersal and infection potentials. **Journal Of Microbiological Methods**, Villenave d'Ornon. v. 107, p. 169-175, dez. 2014.
- DELMOTTE, François et al. Rapid and multiregional adaptation to host partial resistance in a plant pathogenic oomycete: Evidence from European populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew. *Infection, Genetics And Evolution*, Villenave d'Ornon. v. 27, p.500-508, out. 2014.
- DICKENSON, John. Viticulture in pre-independence Brazil. **Journal Of Wine Research**, Liverpool, v. 6, n. 3, p. 195-200, jan. 1995.
- DI GASPERO, Gabriele; COPETTI, Dario; COLEMAN, Courtney; CASTELLARIN, Simone Diego; EIBACH, Rudolf; KOZMA, Pál; LACOMBE, Thierry; GAMBETTA, Gregory; ZVYAGIN, Andrey; CINDRIĆ, Petar. Selective sweep at the *Rpv3* locus during grapevine breeding for downy mildew resistance. **Theoretical And Applied Genetics**, Udine. v. 124, n. 2, p. 277-286, 27 set. 2011.
- DUSSERT, Yann; MAZET, Isabelle D; COUTURE, Carole; GOUZY, Jérôme; PIRON, Marie-Christine; KUCHLY, Claire; BOUCHEZ, Olivier; RISPE, Claude; MESTRE, Pere; DELMOTTE, François. A High-Quality Grapevine Downy Mildew Genome Assembly Reveals Rapidly Evolving and Lineage-Specific Putative Host Adaptation Genes. **Genome Biology And Evolution**, Villenave d'Ornon, v. 11, n. 3, p. 954-969, 1 mar. 2019.
- EIBACH, R., Zyprian, E., Welter, L., & Topfer, R. The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. **VITIS-GEILWEILERHOF**, Siebeldingen, v. 46, n. 3, p. 120, 2007.
- EISENMANN, Birgit; CZEMMEL, Stefan; ZIEGLER, Tobias; BUCHHOLZ, Günther; KORTEKAMP, Andreas; TRAPP, Oliver; RAUSCH, Thomas; DRY, Ian; BOGS, Jochen. *Rpv3*–1 mediated resistance to grapevine downy mildew is associated with specific host transcriptional responses and the accumulation of stilbenes. **Bmc Plant Biology**, Neustadt. v. 19, n. 1, p. 1-17, 6 ago. 2019.
- FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nation: Statistic Division < <https://www.fao.org/faostat/en/#data/>>. Acesso em: novembro de 2021.

- FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nation: Statistic Division
<<http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em: março de 2020.
- FAWKE, Stuart; DOUMANE, Mehdi; SCHORNACK, Sebastian. Oomycete interactions with plants: infection strategies and resistance principles. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Cambridge, v. 79, n. 3, p. 263-280, 2015.
- FEECHAN, Angela, Anderson, C., Torregrosa, L., Jermakow, A., Mestre, P., Wiedemann-Merdinoglu, S., & Aubourg, S. Genetic dissection of a TIR-NB-LRR locus from the wild North American grapevine species *Muscadina rotundifolia* identifies paralogous genes conferring resistance to major fungal and oomycete pathogens in cultivated grapevine. **The Plant Journal**, Dublin, v. 76, n. 4, p. 661-674, 2013.
- FLOR, Harold H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annual review of phytopathology**, North Dakota, v. 9, n. 1, p. 275-296, 1971.
- FORIA, Serena; COPETTI, Dario; EISENMANN, Birgit; MAGRIS, Gabriele; VIDOTTO, Michele; SCALABRIN, Simone; TESTOLIN, Raffaele; CIPRIANI, Guido; WIEDEMANN-MERDINOGLU, Sabine; BOGS, Jochen. Gene duplication and transposition of mobile elements drive evolution of the Rpv3 resistance locus in grapevine. **The Plant Journal**, Udine, v. 101, n. 3, p. 529-542, 11 nov. 2019.
- FORTES, Ana M.; PAIS, Maria S. Grape (*Vitis* species). **Nutritional Composition Of Fruit Cultivars**, Lisboa. p. 257-286, 2016.
- FRANCESCA, Salinari; SIMONA, Giosue; NICOLA, Tubiello Francesco; ANDREA, Rettori; VITTORIO, Rossi; FEDERICO, Spanna; CYNTHIA, Rosenzweig; LODOVICA, Gullino Maria. Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change. **Global Change Biology**, Torino, v. 12, n. 7, p.1299-1307, jul. 2006.
- FRÖBEL, Sarah; ZYPRIAN, Eva. Colonization of Different Grapevine Tissues by *Plasmopara viticola*: A Histological Study. **Frontiers In Plant Science**, Siebeldingen, v. 10, p. 1-13, 24 jul. 2019.
- GESSLER, Cesare; PERTOT, Ilaria; PERAZZOLLI, Michele. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. **Phytopathologia Mediterranea**, Zürich, v. 50, n. 1, p. 3-44, abr 2011.
- GOBBIN, Davide; RUMBOU, Artemis; LINDE, Celeste C.; GESSLER, Cesare. Population genetic structure of *Plasmopara viticola* after 125 years of colonization in European vineyards. **Molecular Plant Pathology**, Zürich, v. 7, n. 6, p. 519-531, 20 set. 2006.
- GÓMEZ-ZELEDÓN, Javier; SPRING, Otmar. Up-regulated RxLR effector genes of *Plasmopara viticola* in synchronized host-free stages and infected leaves of hosts with different susceptibility. **Fungal Biology**, Stuttgart, v. 122, n. 12, p. 1125-1133, dez. 2018.
- HEYMAN, Lisa; HÖFLE, Rebecca; KICHERER, Anna; TRAPP, Oliver; BARKA, Essaid Ait; TÖPFER, Reinhard; HÖFTE, Monica. The Durability of Quantitative

- Host Resistance and Variability in Pathogen Virulence in the Interaction Between European Grapevine Cultivars and *Plasmopara viticola*. **Frontiers In Agronomy**, Siebeldingen, v. 3, p. 1-17, 11 jun. 2021.
- HOLCMAN, Ester; SENTELHAS, Paulo Cesar; SPÓSITO, Marcel Bellato; CONCEIÇÃO, Marco Antônio Fonseca; COUTO, Hilton Thadeu Zarate. Yield and quality of grapes cultivated under plastic coverings with different downy mildew control strategies. **Journal Of Phytopathology**, São Paulo, v. 167, n. 3, p. 185-195, jan. 2019
- JAILLON, O., Aury, J. M., Noel, B., Policriti, A., Clepet, C., Cassagrande, A., ... & Wincker, P. The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. **Nature**, Udine, v. 449, n. 7161, p. 463-7, 2007.
- JONES, Jonathan D. G.; DANGL, Jeffery L. The plant immune system. **Nature**, Norwich, v. 444, n. 7117, p. 323-329, nov. 2006.
- KATULA-DEBRECENI, D.; LENCSÉS, A.k.; SZÖKE, A.; VERES, A.; HOFFMANN, S.; KOZMA, P.; KOVÁCS, L.g.; HESZKY, L.; KISS, E.. Marker-assisted selection for two dominant powdery mildew resistance genes introgressed into a hybrid grape population. **Scientia Horticulturae**, Gödöllő. v. 126, n. 4, p. 448-453, out. 2010.
- KOSKELLA, Britt. Resistance gained, resistance lost: An explanation for host– parasite coexistence. **Plos Biology**, Berkeley, v. 16, n. 9, p.313, 24 set. 2018.
- KUSHALAPPA, Ajjamada C.; YOGENDRA, Kalenahalli N.; KARRE, Shailesh. Plant innate immune response: qualitative and quantitative resistance. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Quebec, v. 35, n. 1, p. 38-55, 2016.
- LI, Xinlong; YIN, Ling; MA, Lingjun; ZHANG, Yali; AN, Yunhe; LU, Jiang. Pathogenicity Variation and Population Genetic Structure of *Plasmopara viticola* in China. **Journal Of Phytopathology**, Beijing, v. 164, n. 11-12, p. 863-873, 19 ago. 2016.
- LIU, Li; WANG, Jiajing; ROSENBERG, Danny; ZHAO, Hao; LENGYEL, György; NADEL, Dani. Fermented beverage and food storage in 13,000 y-old stone mortars at Raqefet Cave, Israel: investigating natufian ritual feasting.: Investigating Natufian ritual feasting. **Journal Of Archaeological Science**, California, v. 21, p. 783-793, out. 2018.
- LIU, Y., Lan, X., Song, S., Yin, L., Dry, I. B., Qu, J., ... & Lu, J. In planta functional analysis and subcellular localization of the oomycete pathogen *Plasmopara viticola* candidate RXLR effector repertoire. **Frontiers in Plant Science**, Beijing, v. 9, p. 286, 2018.
- MALACARNE, Giulia; VRHOVSEK, Urska; ZULINI, Luca; CESTARO, Alessandro; STEFANINI, Marco; MATTIVI, Fulvio; DELLEDONNE, Massimo; VELASCO, Riccardo; MOSER, Claudio. Resistance to *Plasmopara viticola* in a grapevine segregating population is associated with stilbenoid accumulation and with specific host transcriptional responses. **Bmc Plant Biology**, San Michele all'Adige, v. 11, n. 1, p. 114, 2011.

- Maul, E., Töpfer, R., Röckel, F., Brühl, U., Hundemer, M., Mahler-Ries, A., et al. (2022). *Vitis International Variety Catalogue*. Available online at: www.vivc.de (accessed January, 2022).
- MCDONALD, Bruce A.; LINDE, Celeste. PATHOGENPOPULATIONGENETICS, EVOLUTIONARYPOTENTIAL, ANDDURABLERESISTANCE. **Annual Review Of Phytopathology**, Zürich, v. 40, n. 1, p. 349-379, set. 2002.
- MCGOVERN, P; JALABADZE, M; BATIUK, S; CALLAHAN, M. P.; SMITH, K. E.; HALL, G. R.; KVAVADZE, E; MAGHRADZE, D.; RUSISHVILI, N.; BOUBY, L. Early Neolithic wine of Georgia in the South Caucasus. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, hiladelphia, v. 114, n. 48, p.309-318, 13 nov. 2017.
- MCHALE, Leah; TAN, Xiaoping; KOEHL, Patrice; MICHELMORE, Richard W. Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards. **Genome Biology**, Davis, v. 7, n. 4, p. 212-223, 2006.
- MELLO, Loiva Maria Ribeiro de. **Viticultura brasileira: panorama 2018**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2019.
- MENDGEN, Kurt; HAHN, Matthias. Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. **Trends In Plant Science**, Konstanz, v. 7, n. 8, p. 352-356, ago. 2002.
- MERDINOGLU, Didier; SCHNEIDER, Christophe; PRADO, Emilce; WIEDEMANN-Merdinoglu, Sabine; MESTRE, Pere. Breeding for durable resistance to downy and powdery mildew in grapevine. **Oeno One**, Colmar, v. 52, n. 3, p. 203-209, 2 ago. 2018.
- MERDINOGLU, Didier; WIEDEMAN-Merdinoglu, Sabine; COSTE, Pascale; DUMAS, Vincent; HAETTY, Stephanie; BUTTERLIN, Gisele; GREIF, Charles. GENETIC ANALYSIS OF DOWNY MILDEW RESISTANCE DERIVED FROM MUSCADINIA ROTUNDIFOLIA. **Acta Horticulturae**, Evry, n. 603, p. 451-456, abr. 2003.
- MERZ, Patrick R.; MOSER, Tina; HÖLL, Janine; KORTEKAMP, Andreas; BUCHHOLZ, Günther; ZYPRIAN, Eva; BOGS, Jochen. The transcription factor VvWRKY33 is involved in the regulation of grapevine (*Vitis vinifera*) defense against the oomycete pathogen *Plasmopara viticola*. **Physiologia Plantarum**, Neustadt, v. 153, n. 3, p. 365-380, 9 out. 2014.
- MIRLEAN, Nicolai; BAISCH, Paulo; MEDEANIC, Svetlana. Copper Bioavailability and Fractionation in Copper-Contaminated Sandy Soils in the Wet Subtropics (Southern Brazil). **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, Campus Carreiros, v. 82, n. 3, p.373-377, 21 nov. 2008.
- MIRLEAN, Nicolai; ROISENBERG, Ari; CHIES, Jaqueline O. Metal contamination of vineyard soils in wet subtropics (southern Brazil). **Environmental Pollution**, Rio Grande, v. 149, n. 1, p.10-17, set. 2007.
- MORAIS, Andrielle Caroline de. **Avaliação de uma população segregante de videira quanto a resistência ao míldio (*Plasmopara viticola*) e ao oídio (*Erysiphe***

- necator**). 2020. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.
- MUNDT, Christopher C. Durable resistance: a key to sustainable management of pathogens and pests. **Infection, Genetics And Evolution**, Corvallis, v. 27, p. 446-455, out. 2014.
- MUTHMANN, R.P.N. European Commission - Eurostat Statistical Books, The Use of Plant Protection Products in the European Union Data 1992–2003. Luxembourg, (2007).
- MYLES, Sean; BOYKO, Adam R.; OWENS, Christopher L.; BROWN, Patrick J.; GRASSI, Fabrizio; ARADHYA, Mallikarjuna K.; PRINS, Bernard; REYNOLDS, Andy; CHIA, Jer-ming; WARE, Doreen. Genetic structure and domestication history of the grape. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, Califórnia, v. 108, n. 9, p. 3530-3535, 18 jan. 2011.
- NASCIMENTO-GAVIOLI, Maria Carolina Andrade; AGAPITO-TENFEN, Sarah Zanon; NODARI, Rubens Onofre; Welter, Leocir José; MORA, Fernando David Sanchez; SAIFERT, Luciano; SILVA, Aparecido Lima da; GUERRA, Miguel Pedro. Proteome of *Plasmopara viticola* -infected *Vitis vinifera* provides insights into grapevine Rpv1 / Rpv3 pyramided resistance to downy mildew. **Journal Of Proteomics**, Florianópolis, v. 151, p. 264-274, jan. 2017.
- OIV Descriptor list for grape varieties and *Vitis* species, 2nd ed O.I.V. (Off. Int. Vigne Vin), Paris, 2009.
- OLLAT, N., Bordenave, L., Tandonnet, J. P., Boursiquot, J. M., & Marguerit, E. (2014, October). Grapevine rootstocks: origins and perspectives. **I International Symposium on Grapevine Roots 1136**. Villenave d'Ornon, p. 11-22. 2014.
- PEÑA, Nancy; ANTÓN, Assumpció; KAMILARIS, Andreas; FANTKE, Peter. **Modeling ecotoxicity impacts in vineyard production: Addressing spatial differentiation for copper fungicides**. **Science Of The Total Environment**, Caldes de Montbui, v. 616-617, p.796-804, mar. 2018.
- PEÑA-CHOCARRO, Leonor; JORDÀ, Guillem Pérez-; ALONSO, Natàlia; ANTOLÍN, Ferran; TEIRA-BRIÓN, Andrés; TERESO, João Pedro; MOYA, Eva María Montes; REYES, Daniel López. **Roman and medieval crops in the Iberian Peninsula: A first overview of seeds and fruits from archaeological sites**. **Quaternary International**, Calle de Albasanz, v. 499, p.49-66, jan. 2019.
- PERESSOTTI, Elisa; WIEDEMANN-Merdinoglu, Sabine; Delmotte, François; BELLIN, Diana; Gaspero, Gabriele di; TESTOLIN, Raffaele; Merdinoglu, Didier; MESTRE, Pere. Breakdown of resistance to grapevine downy mildew upon limited deployment of a resistant variety. **Bmc Plant Biology**, Colmar, v. 10, n. 1, p. 147, 2010.
- PERTOT, I.; CAFFI, T.; ROSSI, V.; MUGNAI, L.; HOFFMANN, C.; GRANDO, M.s.; GARY, C.; LAFOND, D.; DUSO, C.; THIERY, D.. A critical review of plant protection tools for reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for the

- implementation of IPM in viticulture. **Crop Protection**, Michele all'Adige, v. 97, p. 70-84, jul. 2017.
- POLESANI, Marianna; DESARIO, Filomena; FERRARINI, Alberto; ZAMBONI, Anita; PEZZOTTI, Mario; KORTEKAMP, Andreas; POLVERARI, Annalisa. CDNA-AFLP analysis of plant and pathogen genes expressed in grapevine infected with *Plasmopara viticola*. **Bmc Genomics**, Verona, v. 9, n. 1, p. 142-156, 2008.
- POLTRONIERI, Palmiro; MARRAZZO, M. Teresa; CIPRIANI, Guido. Grapevine: resistance genes, srnas and immunity. **Applied Plant Biotechnology For Improving Resistance To Biotic Stress**, Lecce, p. 151-179, 2020.
- POSSAMAI, Tyrone; MIGLIARO, Daniele; GARDIMAN, Massimo; VELASCO, Riccardo; NARDI, Barbara de. Rpv Mediated Defense Responses in Grapevine Offspring Resistant to *Plasmopara viticola*. **Plants**, Udine, v. 9, n. 6, p. 781, 22 jun. 2020.
- ROCA, P. Statistical Report on World Vitiviniculture. **International Organisation of Vine and Wine Intergovernmental Organisation**: Paris, 2019.
- SAIFERT, Luciano; SÁNCHEZ-MORA, Fernando David; ASSUMPCÃO, Wilson Taybar; ZANGHELINI, Jean Alberto; GIACOMETTI, Renan; NOVAK, Eduardo Irineu; VESCO, Lírio Luiz dal; NODARI, Rubens Onofre; EIBACH, Rudolf; WELTER, Leocir José. Marker-assisted pyramiding of resistance loci to grape downy mildew. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Curitiba, v. 53, n. 5, p. 602-610, maio 2018.
- SÁNCHEZ-MORA, Fernando D., Saifert, L., Zanghelini, J., Assumpção, W. T., Guginski-P, Cláudia A., Giacometti, R., Novak, E., Klabunde, Gustavo H., Eibach, R., Dal Vesco, L., Nodari, R. O., & Welter, L. Behavior of grape breeding lines with distinct resistance alleles to downy mildew (*Plasmopara viticola*). **Crop Breeding And Applied Biotechnology**, Florianópolis, v. 17, n. 2, p. 141-149, jun. 2017.
- SANTOS, Ricardo F.; CIAMPI-GUILLARDI, Maisa; FRAAIJE, Bart A.; OLIVEIRA, Amanda A. de; AMORIM, Lilian. The Climate-Driven Genetic Diversity Has a Higher Impact on the Population Structure of *Plasmopara viticola* Than the Production System or QoI Fungicide Sensitivity in Subtropical Brazil. **Frontiers In Microbiology**, São Paulo, v. 11, p. 1-14, 17 set. 2020.
- SCHNEIDER, Caroline; RASBAND, Wayne s; ELICEIRI, Kevin W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, Madison, v. 9, n. 7, p. 671-675, 28 jun. 2012.
- SCHWANDER, Florian; EIBACH, Rudolf; FECHTER, Iris; HAUSMANN, Ludger; ZYPRIAN, Eva; TÖPFER, Reinhard. Rpv10: a new locus from the asian vitis gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. **Theoretical And Applied Genetics**, Siebeldingen, v. 124, n. 1, p. 163-176, 21 set. 2012.
- SOUSA, J. S. Ingle, 1996. Uvas Para o Brasil. Piracicaba, Brazil: FEALQ.

- SOUSA, J. S. Ingle. PASSADO, PRESENTE E FUTURO DA VITICULTURA. In: SOUSA, J. S. Ingle de. **CULTURA DA VIDEIRA**. São Paulo: Edições Melhoramentos, [1956].
- STERGIOPOULOS, Ioannis; WIT, Pierre J.G.M. de. Fungal Effector Proteins. **Annual Review Of Phytopathology**, Wageningen, v. 47, n. 1, p. 233-263, 1 set. 2009
- TAYLOR, Andrew S.; KNAUS, Brian J.; GRÜNWARD, Niklaus J.; BURGESS, Treena. Population Genetic Structure and Cryptic Species of *Plasmopara viticola* in Australia. **Phytopathology®**, Murdoch, v. 109, n. 11, p. 1975-1983, nov. 2019.
- TERRAL, Jean-frédéric; TABARD, Elidie; BOUBY, Laurent; IVORRA, Sarah; PASTOR, Thierry; FIGUEIRAL, Isabel; PICQ, Sandrine; CHEVANCE, Jean-baptiste; JUNG, Cécile; FABRE, Laurent. Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. **Annals Of Botany**, Montpellier, v. 105, n. 3, p. 443-455, 23 dez. 2009.
- The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> Acesso em: 30/06/2020.
- THINES, Marco; KAMOUN, Sophien. Oomycete–plant coevolution: recent advances and future prospects. **Current Opinion In Plant Biology**, Norwich, v. 13, n. 4, p. 427-433, 1 ago. 2010.
- THIS, P; LACOMBE, T; THOMAS, M. Historical origins and genetic diversity of wine grapes. **Trends In Genetics**, Montpellier, v. 22, n. 9, p. 511-519, set. 2006.
- TOMAZETTI, Tiago Camponogara. **Piramidação de genes da Videira (*Vitis vinifera*) para resistência ao Mildio (*Plasmopara viticola*) e caracterização das interações genótipos e ambiente**. 2020. 235 f. Tese (Doutorado) - Curso de Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.
- TÖPFER, Reinhard; HAUSMANN, Ludger; HARST, Margit; MAUL, Erica; ZYPRIAN, Eva; EIBACH, Rudolf. New Horizons for Grapevine Breeding. **Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology**, Siebeldingen, v.5, p. 79-100. 2011.
- VENUTI, Silvia; COPETTI, Dario; FORIA, Serena; FALGINELLA, Luigi; HOFFMANN, Sarolta; BELLIN, Diana; CINDRIĆ, Petar; KOZMA, Pál; SCALABRIN, Simone; MORGANTE, Michele. Historical Introgression of the Downy Mildew Resistance Gene Rpv12 from the Asian Species *Vitis amurensis* into Grapevine Varieties. **Plos One**, Udine, v. 8, n. 4, p. 1-7, 12 abr. 2013.
- VEZZULLI, Silvia; MALACARNE, Giulia; MASUERO, Domenico; VECCHIONE, Antonella; DOLZANI, Chiara; GOREMYKIN, Vadim; MEHARI, Zeraye Haile; BANCHI, Elisa; VELASCO, Riccardo; STEFANINI, Marco. The Rpv3-3 Haplotype and Stilbenoid Induction Mediate Downy Mildew Resistance in a Grapevine

- Interspecific Population. **Frontiers In Plant Science**, San Michele all'Adige, v. 10, p. 1-23, 6 mar. 2019.
- VEZZULLI, Silvia; VECCHIONE, Antonella; STEFANINI, Marco; ZULINI, Luca. Downy mildew resistance evaluation in 28 grapevine hybrids promising for breeding programs in Trentino region (Italy). **European Journal Of Plant Pathology**, San Michele all'Adige, v. 150, n. 2, p. 485-495, 31 jul. 2017.
- VIRET, O.; SPRING, J.-I.; ZUFFEREY, V.; GINDRO, K.; LINDER, C.; GAUME, A.; MURISIER, F.. **Past and future of sustainable viticulture in Switzerland. Bio Web Of Conferences**, Morges, v. 15, p.1013-1016, 2019.
- WELTER, Leocir J.; GÖKTÜRK-BAYDAR, Nilgün; AKKURT, Murat; MAUL, Erika; EIBACH, Rudolf; TÖPFER, Reinhard; ZYPRIAN, Eva M. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L). **Molecular Breeding**, Siebeldingen, v. 20, n. 4, p. 359-374, 5 maio 2007.
- WINGERTER, Chantal; EISENMANN, Birgit; WEBER, Patricia; DRY, Ian; BOGS, Jochen. Grapevine Rpv3-, Rpv10- and Rpv12-mediated defense responses against *Plasmopara viticola* and the impact of their deployment on fungicide use in viticulture. **Bmc Plant Biology**, Bingen, v. 21, n. 1, p. 1-17, 14 out. 2021.
- WONG, F. P.; BURR, H. N.; WILCOX, W. F. Heterothallism in *Plasmopara viticola*. **Plant Pathology**, Geneva, v. 50, n. 4, p. 427-432, 2001.
- YIN, Ling; AN, Yunhe; QU, Junjie; LI, Xinlong; ZHANG, Yali; DRY, Ian; WU, Huijuan; LU, Jiang. Genome sequence of *Plasmopara viticola* and insight into the pathogenic mechanism. **Scientific Reports**, Beijing, v. 7, n. 1, p. 1-12, 18 abr. 2017.
- YU, Ying; ZHANG, Yali; YIN, Ling; LU, Jiang. The Mode of Host Resistance to *Plasmopara viticola* Infection of Grapevines. **Phytopathology**, Beijing, v. 102, n. 11, p. 1094-1101, nov. 2012.
- ZANGHELINI, Jean A.; BOGO, Amauri; VESCO, Lirio L. dal; GOMES, Beatriz R.; MECABÔ, Cristian V.; HERPICH, Claudemar H.; WELTER, Leocir J.. Response of PIWI grapevine cultivars to downy mildew in highland region of southern Brazil. **European Journal Of Plant Pathology**, Curitiba, v. 154, n. 4, p. 1051-1058, 24 abr. 2019.
- ZHAN, Jiasui; THRALL, Peter H.; PAPAÏX, Julien; XIE, Lianhui; BURDON, Jeremy J. Playing on a Pathogen's Weakness: using evolution to guide sustainable plant disease control strategies. **Annual Review Of Phytopathology**, Fuzhou, v. 53, n. 1, p. 19-43, 4 ago. 2015.
- ZINI, Elena; DOLZANI, Chiara; STEFANINI, Marco; GRATL, Verena; BETTINELLI, Paola; NICOLINI, Daniela; BETTA, Giulia; DORIGATTI, Cinzia; VELASCO, Riccardo; LETSCHKA, Thomas. R-Loci Arrangement Versus Downy and Powdery Mildew Resistance Level: a vitis hybrid survey. **International Journal Of Molecular Sciences**, Vadena, v. 20, n. 14, p. 3526, 18 jul. 2019.

ZOHARY, D.; SPIEGEL-ROY, P. Beginnings of Fruit Growing in the Old World. **Science**, Jerusalem, v. 187, n. 4174, p. 319-327, 31 jan. 1975.

ZYPRIAN, Eva; OCHßNER, Iris; SCHWANDER, Florian; HIMON, Silvio; HAUSMANN, Ludger; BONOW-REX, Martina; MORENO-SANZ, Paula; GRANDO, Maria Stella; WIEDEMANN-Merdinoglu, Sabine; Merdinoglu, Didier. Quantitative trait loci affecting pathogen resistance and ripening of grapevines. **Molecular Genetics And Genomics**, Siebeldingen, v. 291, n. 4, p. 1573-1594, 2 abr. 2016.

10. DADOS COMPLEMENTARES

Tabela complementar 1: Teste de Freedman seguido do teste Dunns's a 5% de significância para Severidade em porcentagem do tecido foliar coberto por esporulações, referente a inoculação cruzada de 11 cultivares com diferentes níveis de resistência por diferentes suspensões de isolados de *P. viticola*.

Cultivar	PC21	PU21	SPRpv3	SPRpv10	SPRpv3 +10	SPRpv3 +1
Cabernet Sauvignon	45.5 a	52.3 a	46.0 a	45.4 *	43.1 a	42.4 a
Felicia	45.9 a	46.7 a	45.8 a	15.6	30.5 a	41.1 a
Regent	49.9 a	49.8 a	40.2 ab	7.6	25.8 ab	43.2 a
Calardis Blanc	30.6 ab	34.5 ab	42.7 ab	18.2	18.3 ab	30.6 ab
Cabernet Carbon	3.7 ab	4.0 ab	3.0 ab	0.0	7.6 ab	1.0 ab
Cabernet Cantor	1.7 ab	4.6 ab	3.4 ab	3.8	11.3 ab	2.1 ab
Baron	5.4 ab	4.3 ab	8.8 ab	0.0	2.2 ab	2.6 ab
Solaris	3.5 ab	15.0 ab	27.5 ab	11.0	22.5 ab	14.3 ab
Gf.2004-043-0021	4.3 ab	21.3 ab	13.9 ab	0.0	4.5 ab	7.0 ab
Gf.2004-043-0024	17.5 ab	0.0 b	7.6 ab	0.0	1.9 ab	3.5 ab
Soreli	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0	0.0 b	0.0 b
Sauvignon Kretos	0.0 b	0.0 b	0.0 b	0.0	0.0 b	0.0 b
CV%	19.7	16.2	18.7	31.6	32.7	15.8

* Segundo o teste não paramétrico Friedman há diferença entre os dados, no entanto o teste Dunn's não os identificou; CV%: Coeficiente de variação; PC21: População Curitibaanos; PU21: população Urussanga; SPRpv3: SPRpv3: Subpopulação 1 coletada de hospedeiro contendo *Rpv3* em Urussanga; SPRpv3+10: Subpopulação 2 coletada de hospedeiro contendo *Rpv10* em Urussanga; SPRpv10: Subpopulação 3 coletada de hospedeiro contendo *Rpv10+3* em Urussanga; SPRpv3+1: Subpopulação 4 coletada de hospedeiro contendo *Rpv1+3* em Urussanga.

Tabela complementar 2: Moda dos resultados da aplicação da escala comparativa OIV 452-1 referente a inoculação cruzada de 11 cultivares com diferentes níveis de resistência por diferentes suspensões de isolados de *P. viticola*.

Cultivar	PC21	PU21	SPRpv 3	SPRpv3 +10	SPRpv 10	SPRpv 3+1
Cabernet Sauvignon	1	1	1	1	1	1
Felicia	1	1	1	5	3	1
Regent	1	1	1	7	5	1
Calardis Blanc	3	3	1	5	7	3
Cabernet Carbon	7	7	7	9	7	9
Cabernet Cantor	7	7	7	7	7	7
Baron	7	7	7	9	7	7
Gf.2004-043-0021	7	7	7	9	7	7
Gf.2004-043-0024	5	9	7	9	7	7
Soreli	9	9	9	9	9	9

Sauvignon Kretos	9	9	9	9	9	9
CV%	21.5	13.1	15.6	8.0	18.5	15.4

CV%: Coeficiente de variação; PC21: População Curitibanos; PU21: população Urussanga; SPRpv3: Subpopulação 1 coletada de hospedeiro contendo *Rpv3* em Urussanga; SPRpv3+10: Subpopulação 2 coletada de hospedeiro contendo *Rpv10* em Urussanga; SPRpv10: Subpopulação 3 coletada de hospedeiro contendo *Rpv10+3* em Urussanga; SPRpv3+1: Subpopulação 4 coletada de hospedeiro contendo *Rpv1+3* em Urussanga.

Tabela complementar 3: Teste Tukey a 5% de significância dos dados de severidade e incidência referente a inoculação cruzada de diferentes populações e subpopulações de *P. viticola* sobre a cultivar suscetível Cabernet Sauvignon.

Pop/Sub. pop	Severidade (%)	Incidência (%)
PC21	45.5ns	100ns
PU21	52.3	100
SPRpv3	46.0	100
SPRpv10	45.4	100
SPRpv3+10	43.1	100
SPRpv3+1	42.4	100
CV%	8.6	0

ns: Diferenças não significativas para o teste Tukey a 5% de significância; CV%: Coeficiente de variação; PC21: População Curitibanos; PU21: população Urussanga; SPRpv3: Subpopulação 1 coletada de hospedeiro contendo *Rpv3* em Urussanga; SPRpv3+10: Subpopulação 2 coletada de hospedeiro contendo *Rpv10* em Urussanga; SPRpv10: Subpopulação 3 coletada de hospedeiro contendo *Rpv10+3* em Urussanga; SPRpv3+1: Subpopulação 4 coletada de hospedeiro contendo *Rpv1+3* em Urussanga.

Tabela complementar 4: Teste Tukey a 5% de significância para a análise do efeito da piramidação de genes *Rpv10* e *Rpv3* sobre a severidade da doença em discos foliares das cultivares Cabernet Carbon (*Rpv10*), Cabernet Cantor (*Rpv10+ Rpv3.1+Rpv3.3*) e Baron (*Rpv10+Rpv3.1*) quando inoculadas pelas populações de *P. viticola* PC e PU.

Fator	Severidade (%)
Cabernet Carbon	3.833 ns
Cabernet Cantor	3.167
Baron	2.687
<i>P</i> :0.090	

Fator	Severidade (%)
PC	3.583 ns
PU	2.875
<i>P</i> : 0.189	

ns: Diferenças não significativas para o teste Tukey a 5% de significância; PC21: População Curitibanos; PU21: população Urussanga

Tabela complementar 5: Teste Tukey a 5% de significância para a análise da interação entre o efeito da piramidação de genes *Rpv10* e *Rpv3* sobre a severidade da doença em discos foliares das cultivares Cabernet Carbon (*Rpv10*), Cabernet Cantor (*Rpv10+*

Rpv3.1+Rpv3.3) e Baron (Rpv10+Rpv3.1) quando inoculadas pelas populações de *P. viticola* PC e PU.

Fator	Severidade (%)	
	PC	PU
Cabernet Carbon	3.7 ab*	4.0 b
Cabernet Cantor	1.7 aA	4.6 bB
Baron	5.4 bB	0.0 a

P:0.03

*: Diferenças não significativas para o teste Tukey a 5% de significância; Letra minúscula é referente a diferenças na coluna (entre cultivares); Letra maiúscula é referente a diferenças na linha (entre populações do patógeno); PC21: População Curitibaanos; PU21: população Urussanga.

Tabela complementar 6: Teste Tukey a 5% de significância para a análise do efeito da piramidação de genes Rpv10 e Rpv3 sobre a severidade da doença em discos foliares das cultivares Cabernet Carbon (Rpv10), Cabernet Cantor (Rpv10+ Rpv3.1+Rpv3.3) e Baron (Rpv10+Rpv3.1) quando inoculadas pelas subpopulações de *P. viticola* SPRpv3, SPRpv3+10, SPRpv10 e SPRpv3+1.

Fator	Severidade (%)
Cabernet Carbon	2.9 ns
Cabernet Cantor	5.1
Baron	3.9

P:0.072

Fator	Severidade (%)
SPRpv3	5.0 ab
SPRpv10	1.2 c
SPRpv3+10	7.0 a
SPRpv3+1	1.9 bc

P: 0.002

ns: Diferenças não significativas para o teste Tukey a 5% de significância; SPRpv3: Subpopulação 1 coletada de hospedeiro contendo *Rpv3* em Urussanga; SPRpv3+10: Subpopulação 2 coletada de hospedeiro contendo *Rpv10* em Urussanga; SPRpv10: Subpopulação 3 coletada de hospedeiro contendo *Rpv10+3* em Urussanga; SPRpv3+1: Subpopulação 4 coletada de hospedeiro contendo *Rpv1+3* em Urussanga.

Tabela complementar 7: Teste Tukey a 5% de significância para a análise da interação entre o efeito da piramidação de genes Rpv10 e Rpv3 sobre a severidade da doença em discos foliares das cultivares Cabernet Carbon (Rpv10), Cabernet Cantor (Rpv10+ Rpv3.1+Rpv3.3) e Baron (Rpv10+Rpv3.1) quando inoculadas pelas subpopulações de *P. viticola* SPRpv3, SPRpv3+10, SPRpv10 e SPRpv3+1.

Fator	Severidade (%)			
	SPRpv3	SPRpv10	SPRpv3+10	SPRpv3+1
Cabernet Carbon	3.0 aA	0.0 aA	7.6 bB	1.0 aA
Cabernet Cantor	3.4 aA	3.8 bA	11.2 cB	2.1 aA
Baron	8.8 bB	0.0 aA	2.2 aA	2.6 aA

P:<0.001

SPR $pv3$: Subpopulação 1 coletada de hospedeiro contendo $Rpv3$ em Urussanga;
SPR $pv3+10$: Subpopulação 2 coletada de hospedeiro contendo $Rpv10$ em Urussanga;
SPR $pv10$: Subpopulação 3 coletada de hospedeiro contendo $Rpv10+3$ em Urussanga;
SPR $pv3+1$: Subpopulação 4 coletada de hospedeiro contendo $Rpv1+3$ em Urussanga.