

Bento Gonçalves, RS / Junho, 2025

Impacto do uso de indutores de resistência sobre o potencial enológico de uvas tintas para processamento na Serra Gaúcha

Fabio Rossi Cavalcanti⁽¹⁾, Giuliano Elias Pereira⁽¹⁾ e Juliane Barreto de Oliveira⁽²⁾⁽¹⁾ Pesquisadores, Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS. ⁽²⁾ Professora, Instituto Federal do Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, RS.

Embrapa Uva e Vinho
 Rua Livramento n° 515
 Caixa Postal 130
 95701-008 Bento Gonçalves, RS
 www.embrapa.br/uva-e-vinho
 www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

Henrique Pessoa dos Santos

Secretária-executiva

Renata Gava

Membros

Fernando José Hawerth,

Mauro Celso Zanús, Joelsio

José Lazzarotto, Jorge Tonietto,

Thor Vinícius Martins Fajardo,

Alessandra Russi, Edgardo

Aquiles Prado Perez, Fábio

Ribeiro dos Santos, Luciana

Elena Mendonça Prado, Michele

Belas Coutinho Pereira

e Rochelle Martins Alvorcem

Revisão de texto

Renata Gava

Normalização bibliográfica

Rochelle Martins Alvorcem

(CRB-10/1810)

Projeto gráfico

Leandro Sousa Fazio

Publicação digital: PDF

Todos os direitos
reservados à Embrapa.

Resumo – A qualidade enológica da uva depende da composição química dos tecidos do fruto, especialmente dos compostos fenólicos presentes nas películas e sementes. Este estudo avaliou o impacto de elicitores no potencial enológico de uvas ‘Pinot Noir’ e ‘Merlot’ na Serra Gaúcha, priorizando o acúmulo de polifenóis. Três experimentos foram conduzidos, utilizando ácido benzo-(1-2-3)-tiadiazole-7-carbotióico (BTH, 0,4 g L⁻¹) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂, 2 mM) como indutores aplicados em cachos de ‘Pinot Noir’ (A) e ‘Merlot’ (B e C). Nos experimentos “A” e “B”, os resultados indicaram aumentos significativos ($P < 0,05$) e sustentados de *trans*-resveratrol em ‘Pinot Noir’, e de antocianinas e flavonoides em ‘Merlot’. Compostos como delfinidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo, miricetina e quercetina mostraram-se especialmente responsivos. Já no experimento “C”, a sobre-exposição ao elicitador desencadeou efeitos negativos, como desbalanços metabólicos e estresse oxidativo, principalmente em rotas de ácidos orgânicos. Ainda assim, BTH e H₂O₂ promoveram aumentos significativos de *trans*-resveratrol e piceídeo em ‘Pinot Noir’, além de antocianinas, flavonóis e flavanóis em ‘Merlot’, com exceção de caempferol, rutina e cianidina-3-glicosídeo. Conclui-se que elicitores químicos podem representar uma ferramenta promissora para o manejo do potencial enológico das uvas, contribuindo para a valorização de sua composição bioquímica no processamento.

Termos para indexação: ácido benzo-(1-2-3)-tiadiazole-7-carbotióico, acibenzolar-S-metil, ácido salicílico, cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos, cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas, resistência sistêmica adquirida.

Impact of plant elicitors on the enological potential of red grapes for processing in the Serra Gaúcha region

Abstract – The enological quality of grapes depends on the chemical composition of the fruit tissues, especially phenolic compounds found in skins and seeds. This study evaluated the impact of elicitors on the enological potential of ‘Pinot Noir’ and ‘Merlot’ grapes grown in Serra Gaúcha, focusing on polyphenol accumulation. Three experiments were conducted using benzo(1,2,3)-thiadiazole-7-carboxylic acid (BTH, 0,4 g L⁻¹) and hydrogen peroxide (H₂O₂, 2 mM) as

elicitors, applied to 'Pinot Noir' clusters (A) and 'Merlot' (B and C). In experiments "A" and "B," results revealed significant ($P < 0,05$) and sustained increases in trans-resveratrol in 'Pinot Noir', and in anthocyanins and flavonoids in 'Merlot'. Compounds such as delphinidin-3-glucoside, petunidin-3-glucoside, myricetin, and quercetin were especially responsive. In contrast, experiment "C" showed that overexposure to elicitors led to negative effects, including metabolic imbalance and oxidative stress, especially in organic acid pathways. Nevertheless, both BTH and H_2O_2 significantly increased the contents of trans-resveratrol and the piceid in 'Pinot Noir', as well as anthocyanins, flavonols, and flavanols in 'Merlot', except for kaempferol, rutin, and cyanidin-3-glucoside. In conclusion, chemical elicitors may represent a promising tool for managing the enological potential of grapes, enhancing their biochemical composition for winemaking and other value-added products.

Index terms: benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid, acibenzolar-S-methyl, salicylic acid, high-performance liquid chromatography with diode array detector, ultra-high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry, systemic acquired resistance.

Introdução

As plantas possuem um sistema celular capaz de impulsionar rotas metabólicas para incrementar sua resistência basal contra patógenos. Tal fenômeno é conhecido como indução de resistência (IR). Em certos casos, mecanismos de defesa baseados em IR podem promover atrasos de até 60% no progresso de infecções em plantas e atingir valores de eficiência próximos de 80% das observadas em substâncias de proteção adotadas na fruticultura, como as fitoalexinas (Ahuja et al., 2012). A IR pode representar uma alternativa para o controle de doenças em sistemas orgânicos de produção (Cavalcanti et al., 2014; Cavalcanti et al., 2020). Este atraso, associado ao progresso de lesões causadas por um agente patogênico, está intimamente relacionado à ação de moléculas com propriedades inibitórias ao microrganismo invasor (Lal et al., 2018; Pastor-Fernández et al., 2024).

Substâncias químicas sintetizadas em células vegetais são normalmente divididas em "primárias" e "secundárias". Metabólitos primários são os açúcares, aminoácidos, minerais e ácidos nucleicos envolvidos na nutrição, crescimento e desenvolvimento (Taiz e Zeiger, 2013). Os metabólitos secundários

(MSs) pertencem a um grande grupo de famílias de substâncias químicas: alcalóides, terpenóides e polifenóis. MSs não são simplesmente produtos de degradação metabólica ou necessariamente intermediários transientes de rotas bioquímicas, mas antes, são substâncias que possuem uma função biológica nas plantas que envolve uma adaptação ecológica e evolutiva como, por exemplo, atração de insetos polinizadores e defesa contra patógenos (Wink et al., 2010).

As plantas possuem um importante desdobramento metabólico que leva à biossíntese de aminoácidos fenólicos e, por conseguinte, os MSs envolvidos na defesa vegetal contra patógenos: a via do ácido chiquímico. Aminoácidos fenólicos como a fenilalanina e tirosina são precursores fenilpropanóides de estilbenos e chalconas antimicrobianas, e defesas estruturais como a lignina, que se deposita sobre a parede celular (Cavalcanti et al., 2014).

Em espécies de videira, estilbenos são reportados como fitoalexinas que, por sua vez, são definidas como elementos de baixo peso molecular acumuladas por síntese de novo em resposta a estresses (Carpita et al., 2015). Fitoalexinas são sintetizadas por uma vasta gama de plantas, tais como Brassicaceae, Fabaceae, Solanaceae, Poaceae e Vitaceae (Wink et al., 2010; Jeandet et al., 2014; Lal et al., 2018). Em videira, estilbenos já foram classificados como fitoalexinas: resveratrol, viniferinas, piceídeos e pterostilbenos. Tais moléculas foram evidenciadas em respostas de defesa celular a infecções causadas por *Plasmopara viticola*, *Erysiphe necator* e *Botrytis cinerea* (Ahuja et al., 2012). Além desses compostos, outros polifenóis sintetizados pelo metabolismo secundário da videira, como antocianinas, responsáveis pela cor tinta das uvas e dos vinhos, os flavanóis (taninos), responsáveis pela estrutura e corpo dos vinhos, além de ácidos fenólicos e flavonóis, que participam do processo de polimerização e complexação fenólica, são influenciados fortemente por fatores bióticos e abióticos, ligados ao meio ou induzidos por ação humana (Ribéreau-Gayon et al., 2006; Cohen et al., 2012; Carbonneau et al., 2015; Keller, 2010; Rienth et al., 2014).

A IR em células vegetais promove uma resposta bioquímica ao processo de parasitismo que restringe o desenvolvimento do patógeno no tecido hospedeiro. O processo é persistente, geralmente não específico a um patógeno e é ativado por um reconhecimento de padrões de sinais químicos associados a uma infecção, se desenvolvendo tanto no local de infecção quanto sistemicamente. Caso seja do tipo "Resistência Sistêmica Adquirida" (RSA), a IR fica, de modo conservado em plantas superiores,

condicionada a uma ação de contra-ataque por mobilização da expressão de genes de defesa ligados a “proteínas relacionadas à patogênese” (PR-proteins), rotas de biossíntese de fitoalexinas e enrijecimento de parede celular, com sinalização sistêmica mediada por ácido salicílico (AS) (Hammond-Kosack e Jones, 2015).

Estudos têm relatado que o AS e muitos de seus análogos, quando aplicados sobre tecidos vegetais, podem promover a IR com conseqüente elevação de níveis de defesa química basal da planta (Cavalcanti et al., 2014). O AS perfaz o modelo de definição para “elicitador de IR”, uma vez que se define “elicitador” como sendo qualquer molécula sintética ou derivada de matriz orgânica (microrganismos ou plantas) capaz de ser reconhecida por receptores presentes em células do parênquima celular, para disparar respostas efetivas de IR (Cavalcanti et al., 2014; Hammond-Kosack e Jones, 2015; Tripathi et al., 2019). Paralelamente a moléculas bem conhecidas, muitas delas já adotadas na proteção de plantas agrícolas há muitos anos, como os elicitores químicos ácido benzo-(1-2-3)-tiadiazole-7-carbotiólico (BTH) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (além do próprio AS). Pesquisas têm demonstrado que as plantas conseguem reconhecer também um número de grupos de substâncias baseadas em glicoproteínas, peptídeos, lipídios e padrões de carboidratos fragmentados de parede celular, os quais são, ocasionalmente, isolados e identificados em estudos envolvendo extratos e filtrados biológicos (Stempien et al., 2017; Tripathi et al., 2019).

Em paralelo às funções adaptativas e evolutivas de defesa contra patógenos atribuídas às fitoalexinas polifenólicas na videira, a molécula de resveratrol, isolada de bagas e presentes em cascas de uva, possui propriedades bioativas e nutraceuticas nobres. Essas propriedades aparecem como moléculas com atividade antioxidante capaz de retardar senescência em tecidos vivos, além de funções anticarcinogênicas e antiinflamatórias diversas. Tais propriedades são relevantes para a saúde humana, sendo levadas em consideração em ações de promoção para os consumidores (Georgiev et al., 2014). A aplicação de elicitores químicos ou biológicos especificamente para aumentar o conteúdo de polifenóis em cachos de uva visando seu aproveitamento no processamento de vinhos ainda é um campo de pesquisa relativamente pouco explorado.

Em uvas destinadas ao processamento, as partes do cacho mais importantes e que influenciam o potencial enológico na colheita, são a película (cascas), a polpa e as sementes (Ribéreau-Gayon et al., 2006). Nestes tecidos estão localizados os

compostos originados do metabolismo primário e secundário da videira. Do metabolismo primário, localizados na polpa, estão os açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e minerais, enquanto que do metabolismo secundário, localizados nas películas, podem ser citados os compostos voláteis, responsáveis pelos aromas, e os compostos fenólicos, responsáveis pela cor roxa dos vinhos, em uvas tintas, e pela estrutura e corpo dos produtos, representados pelos flavanóis (taninos) (Keller, 2010; Cohen et al., 2012; Rienth et al., 2014).

A composição química e metabólica de uvas e vinhos está intimamente ligada aos fatores clima, solo e humano, que compõem o *terroir* (Van Leeuwen et al., 2004; Carbonneau et al., 2015). Nesse contexto, envolvendo a qualidade enológica de uvas para a elaboração de vinhos, o presente trabalho teve por objetivo investigar as respostas metabólicas em células de cascas e polpas de uvas após a aplicação dos elicitores químicos, BTH e H_2O_2 diretamente em cachos de videiras ‘Pinot Noir’ e ‘Merlot’.

Essa investigação se apoiou na hipótese de que elicitores de defesa celular vegetal poderiam atuar como ativadores de metabolismo, estimulando a biossíntese de compostos importantes como estilbenos, antocianinas e flavonóides. O possível estímulo do aumento em massa seca das concentrações dessas moléculas de elevado valor nutricional poderia impulsionar o desenvolvimento de um manejo direcionado para o enriquecimento de uvas para a elaboração de vinhos de elevado potencial enológico, neste primeiro momento, assim como poderia no futuro, ser utilizado como matéria prima para o processamento de alimentos e outras bebidas, tendo o elicitador um papel de “aditivo de cacho”.

Material e métodos

Localização dos vinhedos e procedimentos experimentais

Cachos de uvas ‘Pinot Noir’ utilizados para um experimento denominado “A” foram tratados em um vinhedo de uma vinícola localizada no município de Pinto Bandeira, RS, entre novembro de 2014 e janeiro de 2015, antes do “pintor”. Com o objetivo de ampliar o escopo e os resultados obtidos com a uva ‘Pinot Noir’, tornando os dados mais robustos e significativos, outro ensaio foi implantado. Cachos de uvas ‘Merlot’ foram utilizados de um vinhedo experimental da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS, para a mesma experimentação, realizada em 2023 (experimento “B”), enquanto que outro ensaio

(experimento “C”) foi realizado na mesma parcela com a variedade Merlot, também na safra de 2023, sendo um aprimoramento do ensaio “B”, com mais de uma aplicação. Para os três experimentos foram consideradas linhas centrais com bordaduras de três fileiras e, no mínimo, cinco metros de linha foram selecionadas para a escolha das plantas para parcelas experimentais e coleta de cachos tratados com indutores de resistência (“ativadores metabólicos”), antes do “pintor” das uvas.

Tratamentos e descrição dos experimentos A e B

Ambos os experimentos foram conduzidos da mesma forma, sendo o experimento “A” para cachos ‘Pinot Noir’ e o “B” para cachos da variedade Merlot. Um esquema fatorial foi escolhido para experimentação, com uma única aplicação de duas substâncias utilizadas em uma única dose e três tempos de coleta [24, 48 e 72 horas após pulverizações (HAP)], totalizando seis tratamentos. Os indutores de resistência (elicitores) experimentados como ativadores de metabolismo de polifenóis, e suas respectivas doses foram:

- Ácido benzo-(1-2-3)-tiadiazole-7-carbotióico (BTH), na dose de 0,4 g L⁻¹ de água destilada.
- Peróxido de hidrogênio (H₂O₂), na dose de 2mM.

Os controles negativos do experimento foram considerados como tratamentos adicionais a cada tempo de coleta, com os cachos sendo pulverizados da mesma forma que as substâncias testadas, porém com água destilada (controle) (Figura 1A). O desenho experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) com a parcela experimental definida como sendo um cacho por repetição, com três repetições por tratamento. Em cada parcela experimental foram selecionados aleatoriamente e marcados três cachos para tratamento por pulverização. O total de parcelas experimentais foi de (2 x 3 + 3) x 3 repetições, totalizando 27 cachos coletados e nove cachos para cada tempo de coleta. Exclusivamente no dia da aplicação dos tratamentos, três cachos pulverizados com água destilada foram coletados para análises referentes ao “tempo zero” (0 horas após pulverizações, HAP).

No início da manhã (7h), com um atomizador manual, os cachos marcados foram pulverizados com os indutores selecionados até o ponto de escorrimiento, em uma única pulverização. Após 24 horas, a primeira série de coletas foi realizada no mesmo horário das pulverizações do dia anterior. As demais coletas se seguiram 48 e 72 HAP. Para as coletas, os cachos foram cuidadosamente removidos pela base da união do pedúnculo com o ramo com uma

tesoura de poda, imediatamente acondicionados em sacolas plásticas e identificados. Em seguida, os sacos foram transferidos para isopor com banho gelo em abundância para o transporte imediato até o laboratório.

Tratamentos e descrição do experimento C

O experimento “C” foi conduzido conforme a descrição anterior. Porém, neste ensaio os cachos receberam três aplicações (0, 24 e 48 horas, cada uma às 7h) até serem coletados a 72 horas HAP, em coleta única. Os cachos utilizados no experimento “C” também foram da variedade Merlot, com a parcela experimental e repetições.

Amostragem e recebimento do cachos

Após o transporte dos cachos para ambiente laboratorial, as bagas resfriadas dos cachos tratados foram cuidadosamente separadas da ráquis. As bagas foram rapidamente mergulhadas em uma solução asséptica de NaClO 1% (V/V) por 20 segundos e em seguida em água destilada por 30 segundos. De imediato, as cascas foram manualmente separadas das polpas e transferidas para um papel absorvente, para remoção do excesso de umidade. As cascas enxutas foram então identificadas, embaladas em papel alumínio (para proteção contra radiação luminosa) e congeladas em nitrogênio líquido. O material de coleta foi estocado em freezer a -80 °C, até a realização das extrações para as análises cromatográficas.

Procedimentos cromatográficos

Preparo das cascas e polpas para extração

Diferentes metodologias de extração foram utilizadas para as amostras de uvas das variedades Pinot Noir e Merlot. As amostras de cascas de ‘Pinot Noir’ congeladas foram submetidas à liofilização por 48 horas.

Para análises por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD), um pó fino e completamente seco foi obtido após trituração do material em almofariz e pistilo. Em um balão volumétrico de 5 mL foi adicionado uma massa de 0,5 g do triturado. A extração de polifenóis totais para análise foi feita após a adição de solução hidroalcolica a 70% de etanol (V/V) no balão volumétrico e a exposição do sistema em banho ultrassônico por 12 minutos, com agitação manual a cada 4 minutos. Após a extração procedeu-se uma filtração a vácuo envolvendo um sistema kitazato, funil e rolha, com um tubo de ensaio estéril apoiado na saída do funil. Por fim, os extratos recolhidos

no tubo de ensaio foram filtrados em membrana de polifluoreto de vinilideno (PVDF) de 0,45 µm e transferidos para um microtubo de 1,5 mL para injeção no cromatógrafo.

Para cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC-MS), os extratos de cascas e polpas de 'Merlot' foram preparados seguindo a metodologia de Pereira et al. (2020), utilizando etanol 96 % (V/V). Para injeção no cromatógrafo, 1,5 mL dos extratos foram secos utilizando um concentrador à vácuo, à temperatura de 20 °C, por aproximadamente 4 horas. Em seguida foram ressuspensos utilizando 1 mL da fase móvel B, filtrados em filtro de seringa de 0,22 µm e armazenados em recipientes (*vials*), no refrigerador (5 °C ± 2 °C) até injeção.

Análises por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos

As amostras foram analisadas por CLAE-DAD, seguindo o método desenvolvido por Silva et al. (2014), adaptado para extratos provenientes de cascas de uva. Para a cromatografia, a coluna utilizada foi de fase reversa C8 (150,0 x 4,6 mm, 5 µm), com eluição em gradiente composto por uma fase aquosa e uma metanólica, ambas acidificadas (eluente A: ácido fórmico 0,1%; e eluente B: metanol 90%). O fluxo do equipamento foi ajustado para 1,0 mL min⁻¹. A faixa de comprimento de onda (UV/Vis) para a detecção dos polifenóis separados pelo método foi fixada entre 200 a 600 nm, no DAD.

Antes da submissão dos extratos metanólicos de casca de uva, o equipamento sofreu limpeza e uma corrida com padrão de polifenóis a serem estudados. O padrão do método foi constituído da mistura dos seguintes analitos: *trans*-resveratrol, miricetina, quercetina, ε-viniferina, ácido cinâmico e kaempferol. Picos dos analitos estudados foram comparados com o padrão do método, considerando pureza (95%), tempo de retenção e o espectro UV/visível. Padrões foram adicionados a amostras para confirmação das identidades espectrais. A amplitude de diluição dos analitos no padrão do método abrangeu entre 1,0 e 40,0 mg L⁻¹, dependendo do analito.

Após a confirmação da linearidade por três curvas de calibração por analito (R² = 0,99), os extratos de casca de uva foram injetados em duplicata analítica sequencial. De posse dos perfis cromatográficos, a quantificação dos compostos foi feita por integração das curvas de eluição por meio de ferramenta específica do software de controle CLASS VP, nos perfis de absorbância característicos de cada composto estudado. Os compostos seguiram o seu tempo específico de retenção, de acordo com o método de Silva et al. (2014).

Cromatografia líquida de ultra eficiência

As análises foram realizadas conforme a metodologia descrita por Canedo-Reis et al. (2020) com algumas modificações. Foi utilizado um sistema equipado com uma bomba de solvente quaternário, um injetor automático, forno de coluna e um único detector de massa quadrupolo. A análise dos dados foi realizada usando um software. Foi utilizada uma coluna C18 (50,0 x 2,1 mm, 5 µm) protegida com uma pré-coluna do mesmo material (5,0 x 2,1 mm, 5 µm).

A fase móvel A (aquosa) consistiu de ácido fórmico e água 2:98 (V/V) e a fase móvel B (orgânica) consistiu de metanol, ácido fórmico e água 90:2:8 (V/V). O gradiente linear usado foi: 0 min (min), 15% de B; 1,35 min, 40% de B; 2,65 min, 65% de B; 3,55 min, 90% de B; 3,90 min, 90% de B; 4,25 min, 30% de B; 4,50 min, 15% de B. Os cromatogramas foram registrados por 4,5 minutos e ao fim de cada injeção, a coluna foi equilibrada com a fase móvel em sua condição inicial (15% de B) por 3 min. A taxa de fluxo foi de 0,45 mL min⁻¹ e o volume de injeção de 10 µL.

O detector de espectrometria de massa (MS) era equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI). A detecção foi realizada com base no peso molecular (massa monoisotópica) de cada composto no modo de monitoramento de gravação de íon único (SIR). O modo ESI (positivo ou negativo) e a tensão do cone foram selecionados para obter uma alta seletividade para cada composto. A temperatura da sonda foi ajustada para 600 °C, a tensão capilar era -0,8 quilovolt (kV) no modo negativo e +1,5 kV no modo positivo.

A quantificação foi realizada usando curva-padrão dos compostos analisados.

Análise estatística

Para as análises estatísticas, *scripts* R foram escritos e utilizados para estudar as médias encontradas para as quantificações de cada analito, por extrato polifenólico associado a cada ativador de metabolismo experimentado. Para as quantidades líquidas acumuladas de uma determinada substância foram adotados os testes LSD-Fisher e Tukey. Dentro de cada tempo de coleta foi adotado o teste t de Student. Todas as análises foram realizadas a 5% de significância.

Resultados e discussão

As análises por CLAE-DAD de cascas de uva 'Pinot Noir' expostas aos indutores de resistência

experimentados (experimento “A”) revelaram respostas diferenciais em alguns dos polifenóis estudados dentro do intervalo de 24 a 72 horas após pulverizações das substâncias.

Considerando o *trans*-resveratrol, tanto o H_2O_2 (Figura 1B) quanto o BTH (Figura 1C), nas doses testadas, promoveram incrementos da molécula por grama de massa seca de casca de uva. A concentração de BTH definida para este trabalho seguiu um valor médio de referência usado em trabalhos envolvendo indutores químicos análogos do ácido salicílico (AS), como é o caso do BTH (Cavalcanti et al., 2014). No caso do H_2O_2 , testes preliminares rápidos, com desenho experimental, orientaram a escolha da dose máxima, 2 mM, que não produzisse condição macroscópica de fitotoxidez em até 72 HAP (dados não mostrados). Considerando cascas pulverizadas com H_2O_2 , foram observados aumentos sustentados de *trans*-resveratrol ao longo do intervalo 24–72 HAP em ‘Pinot Noir’ (Figura 2A). Respostas marcadamente análogas foram verificadas em cachos de ‘Merlot’. Voltando ao ‘Pinot Noir’, em comparação com os controles em cada tempo de coleta, as médias das dosagens da molécula foram significativamente maiores ($P < 0,05$) nos tratamentos (Tabela 1). Nas cascas expostas ao BTH, seguiu-se o mesmo perfil de resposta das cascas pulverizadas com H_2O_2 exceto em 48 HAP, quando foi observada uma queda abrupta na concentração de *trans*-resveratrol atingindo os níveis apresentados pelas cascas pulverizadas com água destilada (controle) no mesmo instante. De qualquer forma, dentro do intervalo estudado, foram observados aumentos de *trans*-resveratrol de quase 100% em relação ao controle negativo (Ctrl-) em cascas de uva submetidas a ativadores de metabolismo tanto em ‘Pinot Noir’, como no caso de BTH e H_2O_2 a 24 HAP (Figura 2A), como em ‘Merlot’ (Figura 4D). No estudo em ‘Pinot Noir’, o *trans*-resveratrol foi o polifenol estudado que teve suas doses mais aumentadas após exposição aos indutores de resistência químicos agindo meramente como ativadores de metabolismo (Tabela 1). Em ‘Merlot’ (experimento “B”), as respostas desse analito também foram fortemente pronunciadas, com incrementos significativos ($P < 0,05$) sustentados entre 24–72 HAP, em cachos expostos aos dois elicitores testados.

A 72 HAP foram verificadas, após aplicações em ‘Pinot Noir’ em ambos os elicitores (foto indisponível) e de maneira heterogênea em ‘Merlot’ tratada com BTH ($0,4 \text{ g L}^{-1}$), a indução precoce de *véraison* (“pintor”) nas bagas dos cachos (Figura 1). É documentado que estresses abióticos como déficit hídrico antecipam o evento “pintor” em cachos de uva,

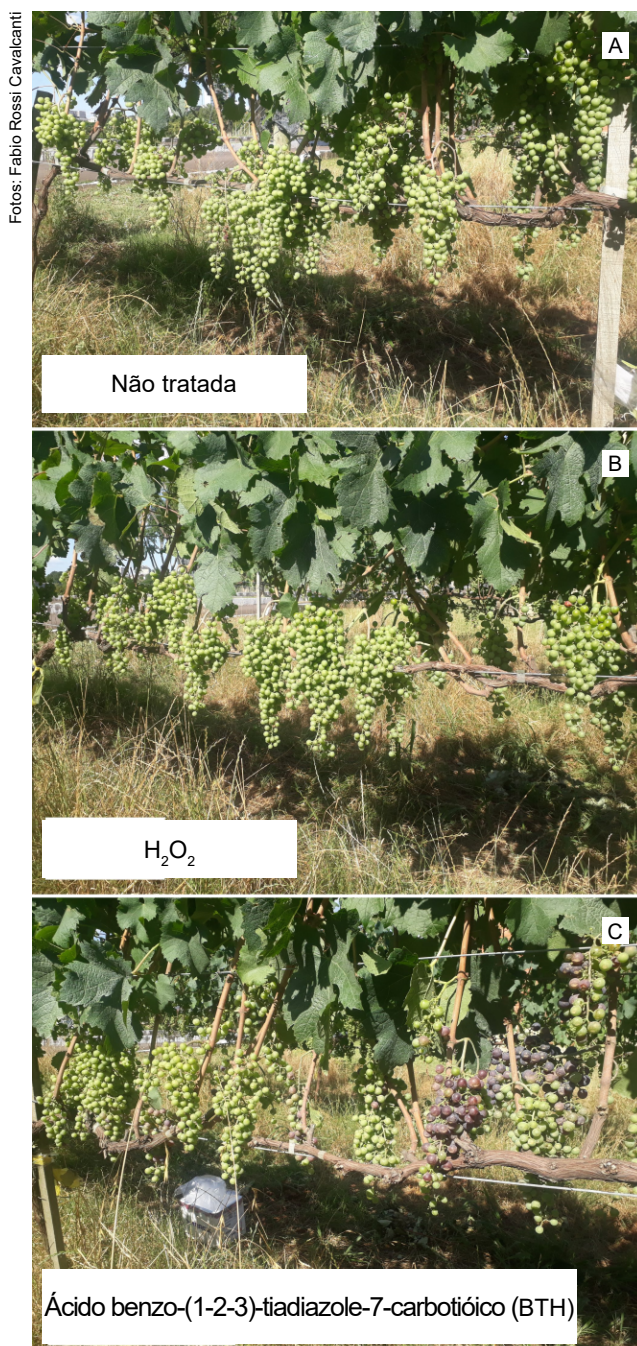


Figura 1. Registro visual do evento ‘pintor’ (*véraison*) induzido por BTH ($0,4 \text{ g L}^{-1}$) em cachos da variedade ‘Merlot’ a 72 HAP, na safra de 2023. (A) Cachos não tratados; (B) cachos tratados com H_2O_2 ; (C) cachos tratados com ácido benzo-(1-2-3)-tiadiazole-7-carboxílico (BTH).

promovendo mudanças na cor das bagas devido ao aumento na síntese de antocianinas. O evento “pintor” marca o início do processo de maturação, onde as uvas começam a acumular antocianinas, responsáveis pelas cores vermelha, roxo e azul, além do acúmulo de açúcares e queda da acidez total. No entanto, trabalhos já evidenciaram que o

“pintor” também pode ser induzido por aplicações exógenas. Por exemplo, a aplicação de ácido abscísico (ABA) a 400 mg L⁻¹ induziu “pintor” com aumento significativo na acumulação de antocianinas em videiras enxertadas (Salama et al., 2023). Além disso, outros estudos indicam que tratamentos com quitosana, um elicitador natural, podem induzir o evento “pintor” em videiras, aumentando os níveis de antocianinas e outros compostos fenólicos nas cascas das bagas, mediado por modificações na transcrição de genes envolvidos no metabolismo secundário (Singh et al., 2020).

Com relação à ε-viniferina, cachos de ‘Pinot Noir’ expostos a BTH apresentaram resposta significativa (P < 0,05) de aumento da concentração dessa molécula a 24 HAP, quando comparados com o controle negativo. No entanto, nos demais tempos avaliados, tanto BTH como H₂O₂ não promoveram respostas significativamente diferentes na concentração de ε-viniferina de cascas expostas a essas substâncias e cascas provenientes do controle negativo (Figura 2B e Tabela 1). Em ‘Merlot’, o método UPLC-MS não identificou nenhum diastereoisômero da viniferina.

Na literatura, é possível encontrar trabalhos que evidenciam a reprogramação nos padrões de expressão de genes relacionados à defesa, bem como na distribuição de estilbenos em tecidos de videira expostos a elicitores. Por exemplo, em suspensões celulares de *V. vinifera* L. ‘Barbera’ foi verificada uma alteração consistente de abundância em 73 proteínas, após a exposição a uma fração específica de quitosana (elicitador). Em particular, a exposição da suspensão de células de videira à

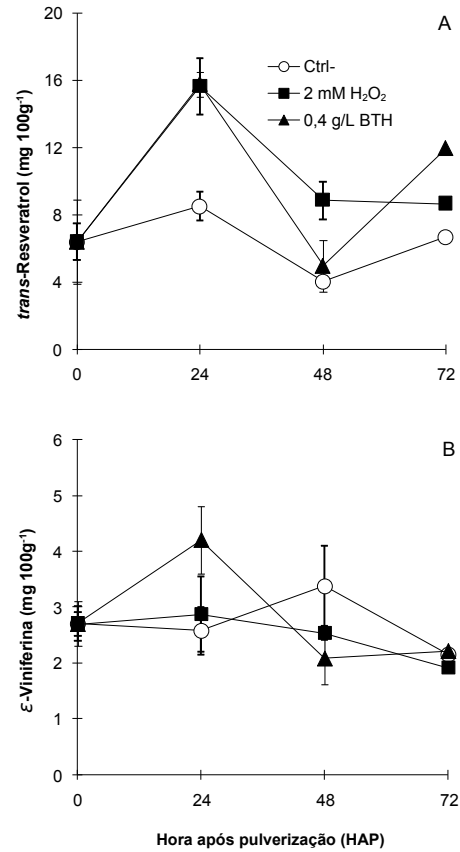


Figura 2. Experimento A, safra 2015. Perfis de *trans*-resveratrol (A) e ε-viniferina (B) em massa seca de cascas de uva ‘Pinot Noir’, 0, 24, 48 e 72 horas após a pulverização (HAP) com indutores de resistência (-■- 2mM H₂O₂, -▲- ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotióico 0,4g L⁻¹ (BTH) e -○- água destilada, controle negativo, Ctrl). As moléculas *trans*-resveratrol e ε-viniferina foram detectadas e dosadas por meio de um método de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de díodos (CLAE-DAD) adaptado de análise de vinhos. Barras indicam desvio padrão da média.

Tabela 1. Experimento A. Polifenóis em miligramas para 100 gramas de massa seca em cascas de uva ‘Pinot Noir’ dosados por um método de cromatografia de alta eficiência com detector de matriz de díodos (CLAE-DAD), na safra de 2015.

Analito	Controle (Mg ha ⁻¹)			Peróxido de oxigênio (H ₂ O ₂) (2mM)			Ácido benzo-(1-2-3)-tiadiazole-7-carbotióico (BTH) (0,4 g L ⁻¹)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
<i>Trans</i> -cinâmico	32,07 Aa	51,08 Aa	ND	21,76 Aa	20,13 Ba	ND	34,01 Aa	50,53 Aa	ND
<i>Trans</i> -resveratrol	8,53 Ba	4,05 Bb	6,70 Bab	15,65 Aa	8,87 Ab	8,68 Bb	15,79 Aa	4,99 Bc	11,98 Ab
ε-Viniferina	2,58 Bab	3,37 Aa	2,16 Ab	2,87 Ba	2,54 Ba	1,92 Aa	4,20 Aa	2,09 Bb	2,22 Ab
Quercetina	1,14 Ba	1,37 Ba	ND	2,60 Aa	1,27 Bb	ND	1,23 Ba	1,67 Ba	ND
Miricetina	1,15 Aa	1,18 Ba	ND	1,23 A	ND	ND	ND	1,45 A	ND

* Dentro de cada dia, valores com as mesmas letras maiúsculas não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Entre os dias, valores com as mesmas letras minúsculas não diferem significativamente, de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância.

substância promoveu síntese de novo e acúmulo de isoformas de estilbenos-sintase (STS) correlacionado a um aumento de *trans*-resveratrol endógeno. Paralelamente, a quitosana promoveu o aumento nos níveis de mRNA associados a proteínas da família *Pathogenesis-related* (PR) (Ferri et al., 2009). Substâncias biológicas, também chamados agentes de controle biológico (BCA) com funções elicitoras de indução de resistência vegetal (IR) também são capazes de ativar o acúmulo de fitoalexinas em videira. Por exemplo, um filtrado de *Aureobasidium pullulans* fornecido comercialmente foi capaz de estimular a biossíntese de estilbenos às expensas, em alguns casos, da redução da biossíntese de chalconas e flavonóides (Ruhmann et al., 2013).

Considerando as respostas de ácido *trans*-cinâmico encontradas no estudo de 'Pinot Noir', o tratamento de H₂O₂ induziu quedas significativas nos níveis em 48 HAP (Tabela 1). Levando em consideração o tratamento de BTH, as concentrações dessa molécula não apresentaram diferença significativa nos tempos observados, em relação ao controle negativo. A 72 HAP não foi possível detectar ácidotrans-cinâmico pelo método CLAE-DAD adotado (Tabela 1). O método UPLC-MS também não identificou esse ácido, em 'Merlot'.

O ácido *trans*-cinâmico é o primeiro fenilpropanoide da rota que leva à biossíntese de ácido salicílico, estilbenos, chalconas e lignina (Teixeira et al., 2013). O *trans*-cinâmico é produto da reação catalisada pela enzima liase da fenilalanina (PAL) que, de modo geral, separa a rota do ácido chiquímico das vias de biossíntese de polifenóis em plantas (Cavalcanti et al., 2014). Nas observações feitas, a redução dos teores de ácido *trans*-cinâmico a 48 HAP observada em cascas expostas a H₂O₂ pode indicar um desequilíbrio na regulação da rota dos fenilpropanóides, com aumento do consumo de ácido *trans*-cinâmico por metabolismos associados à biossíntese de flavonoides e estilbenos, monolignóis e lignina (Lal et al., 2018) (Tabela 1). Bem como na biossíntese de ácido benzoico, que por sua vez é substrato para a biossíntese de ácido salicílico (Wink et al., 2010). Tais respostas possuem um indicativo típico de ativação de respostas de defesa vegetal envolvendo polifenóis (Tabela 1).

Com relação à quercetina, o tratamento de H₂O₂, a 24 HAP, pôde promover um aumento considerável nos níveis desse composto por grama de massa seca, com relação ao controle e ao tratamento BTH (Tabela 1). Porém, o mesmo tratamento a 48 HAP não sustentou o aumento observado em cascas de 'Pinot Noir' a 24 HAP, permanecendo os níveis de quercetina dentro dos mesmos patamares do

controle como também dos evidenciados em cascas expostas ao BTH (Tabela 1). Em 'Merlot', o método UPLC-MS foi capaz de dosar a isoquercetina, que é a forma glicosilada da quercetina. No entanto, a exposição dos cachos aos dois elicitores não produziu alterações significativas de isoquercetina por massa seca ($P > 0,05$) (dados não apresentados).

Considerando o flavonol miricetina, cascas de bagas de 'Pinot Noir' em cachos pulverizados com BTH responderam com um pequeno, mas significativo aumento na concentração do analito, em 48 HAP quando comparadas com as amostras coletadas do controle negativo (Tabela 1). Nos cachos expostos a H₂O₂ também foi observado um discreto aumento de miricetina por massa seca, contudo o aumento não foi significativo ($P > 0,05$) quando comparado ao controle. Nos demais tempos experimentais, o analito não foi detectável (Tabela 1). Ao contrário, em 'Merlot', foram verificadas quedas sensíveis desse analito, 24–72 HAP em cachos pulverizados por BTH e forte queda ($P < 0,05$) em cachos submetidos a H₂O₂ (dados não apresentados).

O uso de elicitores químicos ou biológicos como veículos promotores de IR vegetal já vem sendo adotados na agricultura há anos, como fontes para controle alternativo de doenças em espécies perenes. Em espécies lenhosas, vários estudos apontam a relação entre a indução de respostas metabólicas no acúmulo de compostos fenólicos, por diferentes ativadores de metabolismo, tais como BTH, metil jasmonato, quitosana e harpinas (Llorens et al., 2017). Por exemplo, Iriti et al. (2005) pulverizaram BTH em cachos da cultivar Merlot e conseguiram um controle da podridão-cinzenta causada por *Botrytis cinerea* em cerca de 36%. Também em videira, Finger et al. (2015) evidenciaram proteções contra o míldio entre 25 a 30% em videiras 'Cabernet Sauvignon' expostas antecipadamente a BTH e *Bacillus subtilis*. Cavalcanti et al. (2020) repetiram experimentos com os mesmos elicitores (usados como controle positivo) e obtiveram proteções entre 40 a 60%. Além de testes realizados em videiras com BTH, elicitores químicos e biológicos também foram estudados em frutíferas e hortaliças, como tomate, maçã, banana, morango etc., sempre em um contexto de resistência a doenças (Belhadj et al., 2008; Garcia e Plaza, 2013; Llorens et al., 2017; Krzyzaniak et al., 2018; Pastor-Fernández et al., 2024).

O presente estudo abre a possibilidade da verificação de respostas de indução de compostos do metabolismo secundário de suma importância enológica, como é o caso dos fenólicos, utilizando o H₂O₂ como ativador de síntese de novo visando ao possível aproveitamento da uva com distintos

potenciais enológicos como matriz de processamento para vinhos, outras bebidas e alimentos. O H_2O_2 é uma espécie ativa de oxigênio (EAO) associada à regulação de processos oxidativos celulares envolvidos em metabolismos de defesa da célula vegetal contra estresses ambientais. Em determinados casos, o H_2O_2 é considerado um modulador de respostas de defesa celular contra estresses ambientais e, quando aplicado exogenamente, pode causar desde perturbações metabólicas até provocar estresses severos e necrose do tecido vegetal exposto a essa molécula (Cavalcanti; Carvalho, 2008). Alguns esforços de ativação de metabolismo foram encontrados, como por exemplo, García e Plaza (2013) que verificaram alterações na concentração de estilbenos presentes em vinhos processados a partir de uvas 'Monastrell' submetidas à radiação UV-C. Outro exemplo, a aplicação de ozônio pós-colheita em uvas resultou em um aumento no teor total de polifenóis e flavonoides, além de uma regulação positiva de genes específicos envolvidos na biossíntese de polifenóis, resultando em maior conteúdo de flavanóis no vinho produzido a partir dessas uvas (Modesti et al., 2023).

Famílias de polifenóis que incluem flavonoides, estilbenos e proantocianidinas são as classes mais importantes de compostos biologicamente ativos em uvas (Georgiev et al., 2014). Estilbenos e flavonoides são os fitonutrientes biologicamente ativos mais abundantes entre os polifenóis encontrados em cascas e sementes de uva, possuindo efeitos cardioprotetores, neuroprotetores, antimicrobianos e propriedades associadas ao antienvhecimento (Salehi et al., 2018). Em paralelo, já se tem o conhecimento de que o estresse vegetal pode afetar o metabolismo de polifenóis em diferentes variedades de uva, bem como a qualidade do vinho produzido (Teixeira et al., 2013). Estresses como o calor, a restrição hídrica severa e exposição à radiação UV aceleraram o metabolismo de flavonoides em detrimento, segundo os autores, das rotas de biossíntese de estilbenos nessas condições, na variedade Chardonnay (Teixeira et al., 2013).

Considerando o experimento "B" que promoveu a visualização dos perfis de antocianinas (Figura 3), flavonóides (Figura 4) e dois flavanóis (Figura 5) com o método de UPLC-MS em cascas e polpas de bagas 'Merlot', foi possível verificar um incremento bastante evidente, significativo ($P < 0,05$) e sustentado, principalmente entre 24–72 HAP nos cachos tratados com os dois elicitores em estudo, a excetuar-se rotina entre 0–48 HAP (Figura 4C) e catequina no mesmo intervalo (Figura 5A). De fato, isso era esperado, até por eventos de "pintor" induzidos em

'Pinot Noir' e 'Merlot'. O impacto das aplicações com os elicitores sob a hipótese de 'ativadores de cacho' pôde ser resumida em um gráfico de radar. A deposição aumentada de antocianinas em cachos de uva pulverizados com elicitores é atribuída à ativação de vias biossintéticas específicas envolvidas na produção desses pigmentos flavonóides. As antocianinas, que conferem as cores vermelha, roxa e azul a muitas frutas, incluindo uvas, são sintetizadas através das vias do ácido chiquímico, dos fenilpropanóides e do ácido malônico, consideradas fundamentais no metabolismo secundário das plantas (Guo et al., 2022).

Quando elicitores como o ácido benzo-(1-2-3)-tiadiazole-7-carbotióico (BTH) ou outros compostos são aplicados, eles desencadeiam respostas de defesa que mimetizam aquelas provocadas por ataques de patógenos (Cavalcanti et al., 2014). Esses elicitores ativam a expressão de genes de defesa envolvidos nas vias mencionadas, também relacionadas à biossíntese de antocianinas. A PAL catalisa a conversão de fenilalanina para ácido *trans*-cinâmico, que é o precursor de muitos compostos fenólicos (Cavalcanti et al., 2014; Jayapala et al., 2020), incluindo os flavonoides. As enzimas de final de rota metabólica, como a chalcona sintetase (CHS) e a chalcona isomerase (CHI) transformam intermediários em di-hidroflavonóis, que são então convertidos em antocianidinas por meio da ação da di-hidroflavonol-4-redutase (DFR) e da antocianidina sintetase (ANS) (Jayapala et al., 2020). A regulação positiva da atividade enzimática associada promove a maior síntese de antocianinas nas células das uvas.

Com relação ao experimento "C", que objetivou quantificar polifenóis em cachos com três pulverizações com soluções dos dois elicitores em teste, também foram verificados aumentos acentuados e significativos ($P < 0,05$) em antocianinas (Figura 6), flavonoides e resveratrol (Figura 7) a 72 HAP. Por outro lado, foram observados decrementos nos teores de taxifolina, miricetina, epicatequina e epigallocatequina (Figura 8) em cachos de 'Merlot' sobrexpostas a ambos elicitores em teste. Paralelamente, o experimento "C" também demonstrou que o peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 2mM) produziu incrementos diferenciais nos ácidos orgânicos medidos, quando comparados às respostas encontradas em cachos pulverizados com BTH e nos controles negativos (Figura 9).

O decréscimo nos teores dos analitos apresentados na Figura 8 pode ter ocorrido devido ao redirecionamento metabólico causado pela sobrecarga na síntese de antocianinas e resveratrol. A via dos

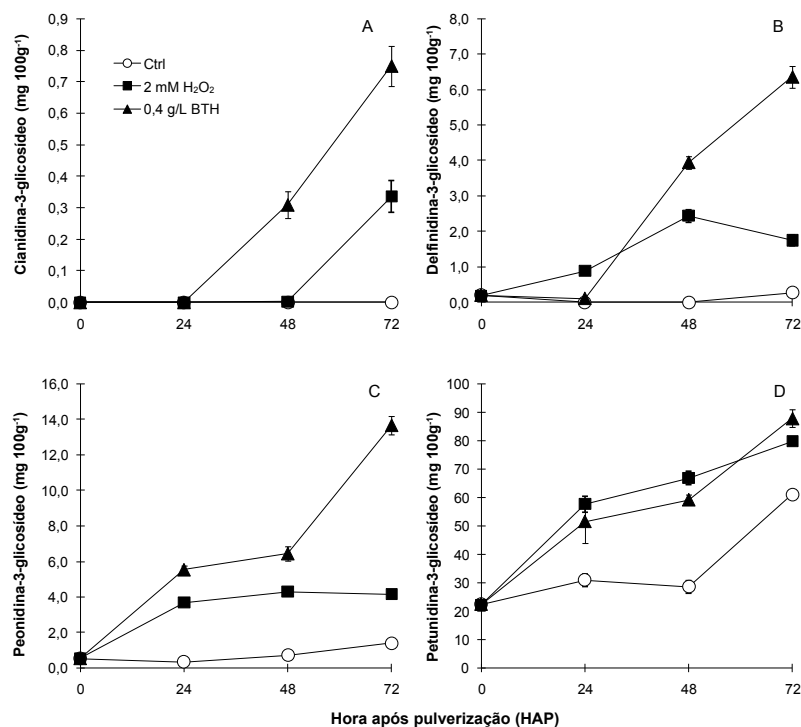


Figura 3. Experimento B, safra 2023. Perfis de respostas induzidas de antocianinas em massa seca de cascas + polpas de uva 'Merlot', 0, 24, 48 e 72 horas após pulverização (HAP) com indutores químicos de resistência (-■- 2mM H₂O₂, -▲- ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotióico 0,4g L⁻¹ (BTH) e -○- água destilada, controle negativo, Ctrl). As substâncias foram detectadas e dosadas por meio de um método de cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC-MS) adaptado de análise de vinhos. Barras indicam desvio padrão da média.

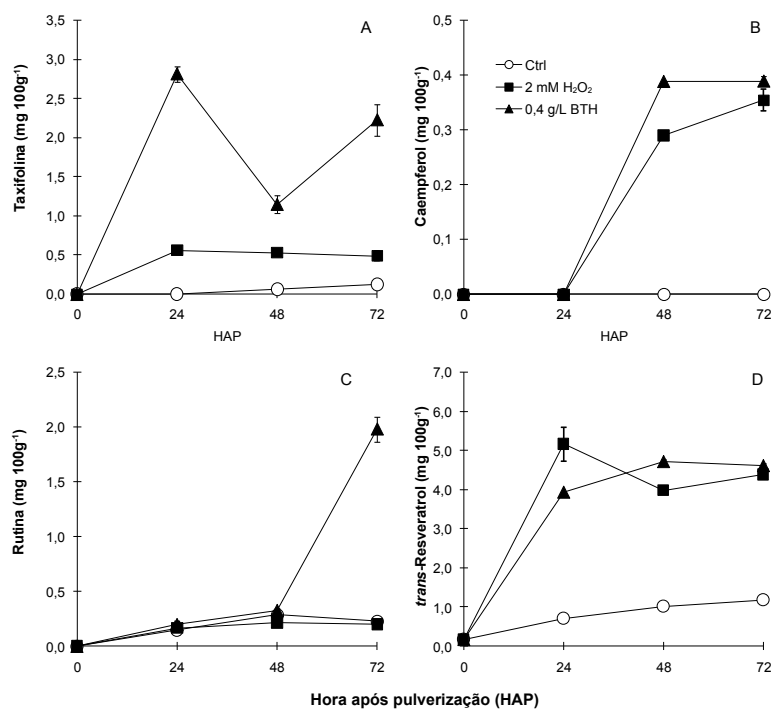


Figura 4. Experimento B, safra 2023. Perfis de respostas induzidas de flavonóides e *trans*-resveratrol em massa seca de cascas+polpas de uva 'Merlot', 0, 24, 48 e 72 horas após pulverização (HAP) com indutores químicos de resistência (-■- 2mM H₂O₂, -▲- ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotióico 0,4g L⁻¹ (BTH) e -○- água destilada, controle negativo, Ctrl). As substâncias foram detectadas e dosadas por meio de um método de cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC-MS), adaptado de análise de vinhos. Barras indicam desvio padrão da média.

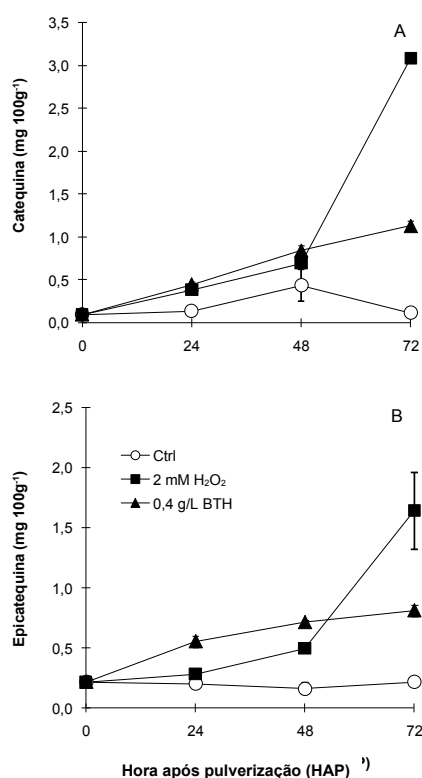


Figura 5. Experimento B, safra 2023. Perfis de respostas induzidas de flavanóis em massa seca de cascas+polpas de uva 'Merlot', 0, 24, 48 e 72 horas após pulverização (HAP) com indutores químicos de resistência (-■- 2mM H₂O₂, -▲- ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotióico 0,4g L⁻¹ (BTH) e -○- água destilada, controle negativo, Ctrl). As substâncias foram detectadas e dosadas por meio de um método de cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC-MS), adaptado de análise de vinhos. Barras indicam desvio padrão da média.

fenilpropanóides é um ponto de convergência para a síntese de diversos compostos fenólicos, incluindo flavonóis (como a miricetina e a taxifolina), flavanóis (como a epicatequina e a epigallocatequina) e antocianinas. Quando a via é direcionada fortemente para a produção de antocianinas (como foi observado), que são frequentemente induzidas em resposta a elicitores, isso pode resultar em uma menor disponibilidade de precursores e cofatores para a síntese de outros compostos, como os flavonóis e flavanóis (Herrmann et al., 1999). Além disso, a produção excessiva de antocianinas pode levar a um *feedback* negativo que regula enzimas chave na via dos fenilpropanóides, inibindo a síntese de outros flavonoides. Por exemplo, a di-hidroflavonol-4-reductase (DFR), que é essencial para a produção de antocianinas, pode ser favorecida em detrimento de outras enzimas envolvidas na síntese de flavonóis e flavanóis (Winkel-Shirley, 2001).

Com relação aos ácidos orgânicos, é conhecido que o H₂O₂ atua como um mensageiro secundário em resposta fisiológica da célula vegetal,

modulando a resposta ao estresse e influenciando o metabolismo secundário. Por exemplo, em plantas de arroz sob estresse térmico, o aumento nos níveis de H₂O₂ produziu estresse oxidativo e afetou a síntese de compostos secundários e o metabolismo em geral (Gautam et al., 2022). Outro estudo destacou como o H₂O₂ pode agir diretamente no metabolismo dos ácidos orgânicos em plantas, demonstrando sua interação complexa com outras vias de sinalização durante estresses abióticos (Singh et al., 2022).

De qualquer forma, a presente sugestão de estudo propõe que substâncias causadoras de perturbação celular (estresse leve), como elicitores, indutores de resistência e ativadores de metabolismo, podem ser cuidadosamente usados na tentativa de obter melhorias do potencial enológico de uvas destinadas ao processamento. Os resultados de perturbação metabólica em células de epiderme em cascas de uvas ('Pinot Noir') e em cascas e polpas ('Merlot') foram bastante evidentes, inclusive produzindo um perfil característico e particular para cada

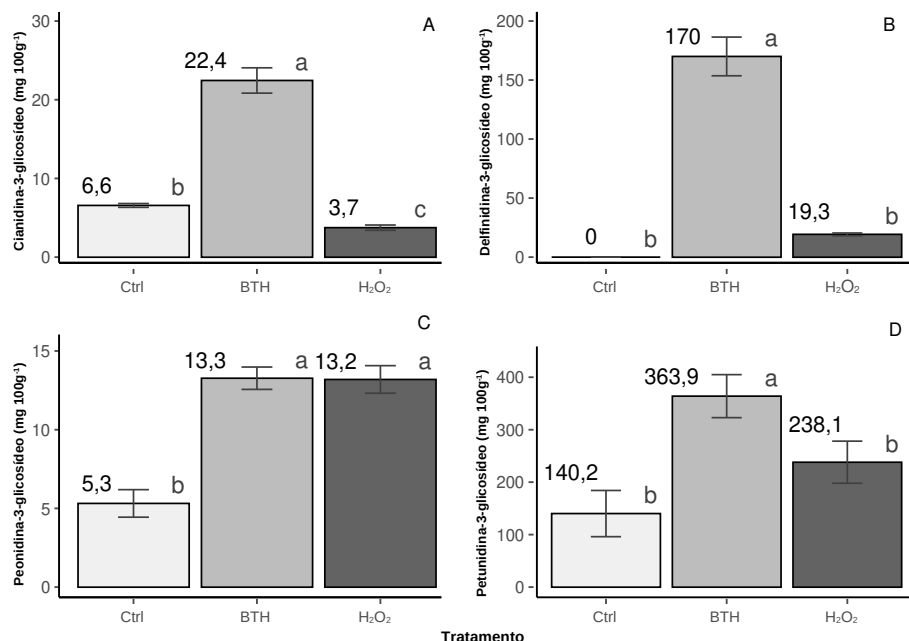


Figura 6. Experimento C, safra 2023. Perfis de cianidina-3-glicosídeo (A), delphinidina-3-glicosídeo (B), peonidina-3-glicosídeo (C) e petunidina-3-glicosídeo (D), em cascas + polpas de uva 'Merlot' cujos cachos foram expostos a elicitores químicos: peróxido de hidrogênio 2mM (H₂O₂) e ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotiico 0,4g L⁻¹ (BTH) a 0, 24 e 48 horas, com coleta a 72 horas sempre às 8h. Cachos testemunhas (Ctrl) foram pulverizados com água. Polifenóis foram detectados e dosados por método de UPLC-MS. Barras indicam desvio padrão da média. Médias seguidas por letras distintas foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey (P < 0,05).

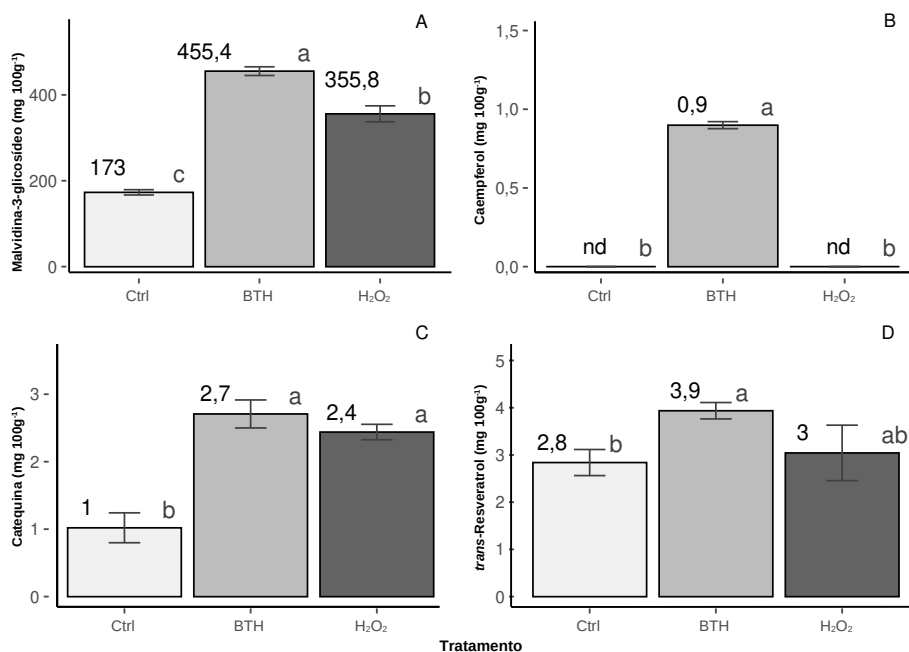


Figura 7. Experimento C, safra 2023. Perfis de (A) malvidina-3-glicosídeo, (B) caempferol, (C) catequina e (D) resveratrol em cascas+polpas de uva 'Merlot' cujos cachos foram expostos a elicitores químicos: peróxido de hidrogênio 2mM (H₂O₂) e ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotiico 0,4g L⁻¹ (BTH) a 0, 24 e 48 horas, com coleta a 72 horas sempre às 8h. Cachos testemunhas (Ctrl) foram pulverizados com água. Polifenóis foram detectados e dosados por método de UPLC-MS. Barras indicam desvio padrão da média. Médias seguidas por letras distintas foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey (P < 0,05).

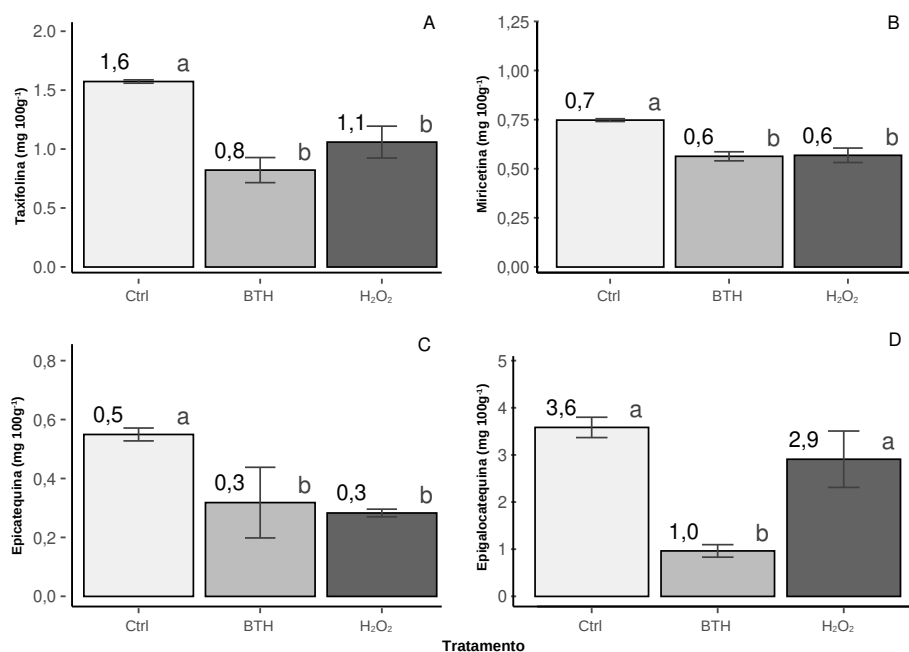


Figura 8. Experimento C, safra 2023. Perfis de (A) taxifolina, (B) miricetina, (C) epicatequina e (D) epigallocatequina em cascas+polpas de uva 'Merlot' cujos cachos foram expostos a elicitores químicos: peróxido de hidrogênio 2mM (H₂O₂) e ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotióico 0,4g L⁻¹ (BTH) a 0, 24 e 48 horas, com coleta a 72 horas sempre às 8h. Cachos testemunhas (Ctrl) foram pulverizados com água. Polifenóis foram detectados e dosados por método de UPLC-MS. Barras indicam desvio padrão da média. Médias seguidas por letras distintas foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey (P < 0,05).

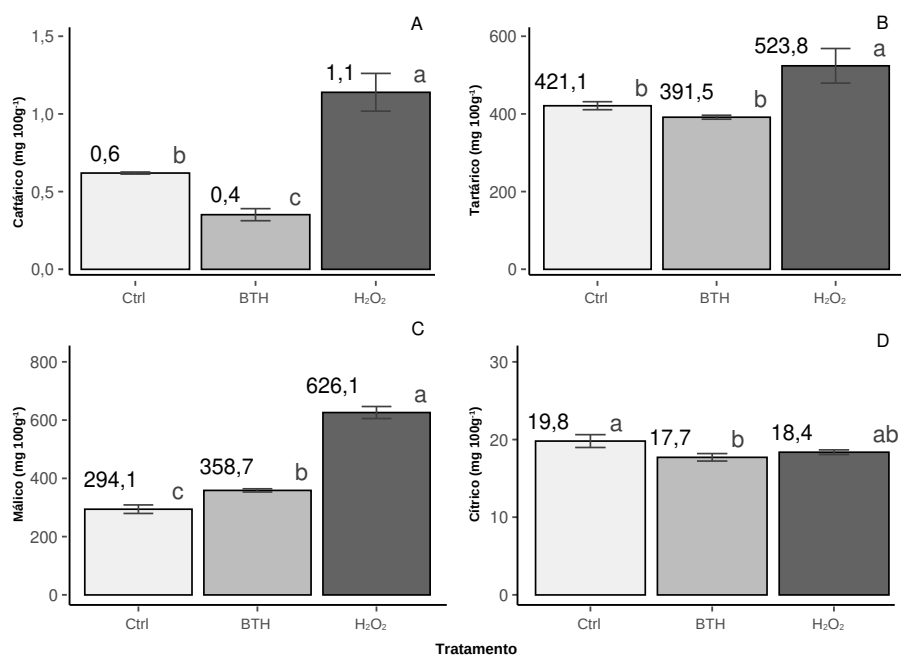


Figura 9. Experimento C, safra 2023. Perfis de ácidos (A) caftárico, (B) tartárico, (C) málico e (D) cítrico em cascas+polpas de uva 'Merlot' cujos cachos foram expostos a elicitores químicos: peróxido de hidrogênio 2mM (H₂O₂) e ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotióico 0,4g L⁻¹ (BTH) a 0, 24 e 48 horas, com coleta a 72 horas sempre às 8h. Cachos testemunhas (Ctrl) foram pulverizados com água. Polifenóis foram detectados e dosados por método de UPLC-MS. Barras indicam desvio padrão da média. Médias seguidas por letras distintas foram significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey (P < 0,05).

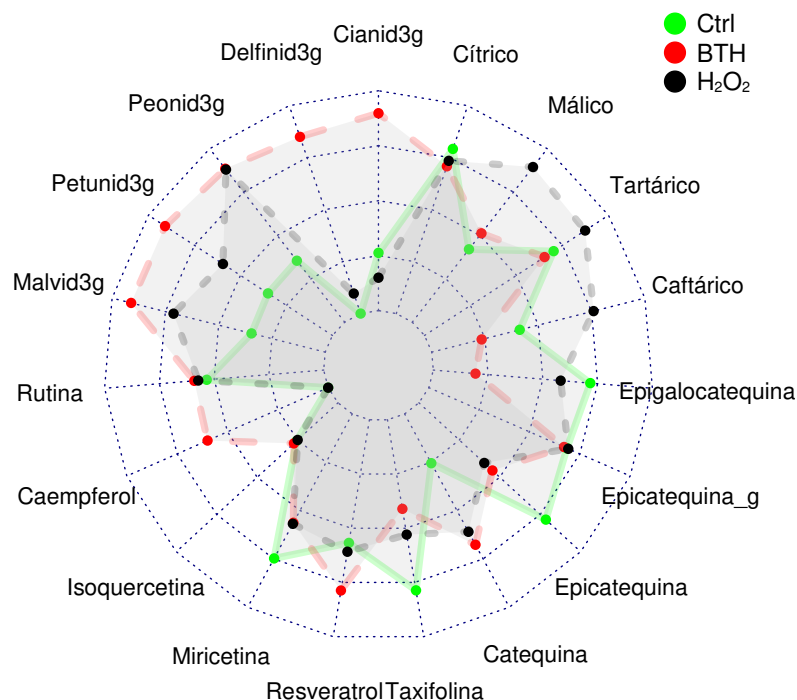


Figura 10. Experimento C, safra 2023. Analitos descritores para respostas celulares em termos de polifenóis e ácidos orgânicos após exposição a elicitores (BTH e H_2O_2) aplicados sobre os cachos de Merlot a 0, 24 e 48h, com coleta a 72h. As concentrações utilizadas foram BTH (0,4g BTH L-1) e H_2O_2 (0,2mM). Cachos pulverizados com água nos mesmos tempos compuseram o grupo testemunha (Ctrl).

elicitador testado, em comparação com o controle negativo (controle) (Figura 10).

Não obstante o seu uso como protetores de planta, a aplicação de ativadores de metabolismo ou “aditivos de cacho” pode ser uma opção de busca por novas oportunidades comerciais na cadeia produtiva e produtos com maiores atrativos ao público consumidor, seja no aspecto nutricional, sensorial ou em ambos. Nesse contexto, estudos subsequentes devem ser conduzidos para verificar hipóteses associadas à confirmação dessa proposição.

Conclusões

- 1) Os elicitores químicos BTH e H_2O_2 promovem aumentos significativos ($P < 0,05$) no conteúdo de *trans*-resveratrol por massa seca de cascas de uva ‘Pinot Noir’ entre 24–72 horas após pulverização. Esses aumentos são sustentados e atingem entre 40 a 100% acima dos níveis encontrados em cascas de bagas tratadas com água, entre 24–72 HAP. BTH induz aumentos significativos ($P < 0,05$) em ϵ -viniferina e miricetina, 24 HAP. H_2O_2 induz um aumento significativo ($P < 0,05$) em quercentina, 24 HAP.
- 2) Em cascas e polpas de ‘Merlot’, os dois elicitores testados promovem aumentos significativos ($P < 0,05$) e sustentados em antocianinas, flavonóis e flavanóis a partir de 0 HAP, exceto caempferol, rutina e cianidina-3-glicosídeo que acumulam incrementos a partir de 24 e 48 HAP.
- 3) O experimento de sobre-exposição (elicitores aplicados por três dias consecutivos) confirmou incrementos significativos em diversos polifenóis estudados. No entanto, também produziram reduções nos teores de taxifolina, miricetina, epicatequina e epigallocatequina a 72 HAP, provavelmente devido a desbalanço metabólico. O peróxido de hidrogênio induziu aumentos pronunciados em ácidos orgânicos em cascas e polpas de bagas da variedade ‘Merlot’. As respostas observadas levantam questões importantes para a continuidade da pesquisa, como número de pulverizações e a escolha da concentração correta do elicitador.
- 4) Por este estudo, vislumbra-se que substâncias elicitoras e ativadoras de metabolismo possam se apresentar como alternativas para o manejo do potencial enológico de uvas, com foco em incrementar a qualidade e composição metabólicas

dos frutos para processamento, como vinhos de diferentes tipos e estilos (rosés, tintos jovens ou de guarda), bebidas e outros alimentos, como um produto denominado “aditivo de cacho”. Isso, além do seu papel como um mecanismo de controle alternativo de doenças da videira.

Referências

- AHUJA, I.; KISSEN, R.; BONES, A. M. Phytoalexins in defense against pathogens. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 2, p. 73-90, Feb. 2012. DOI: 10.1016/j.tplants.2011.11.002.
- BELHADJ, A.; TELEF, N.; SAIGNE, C.; CLUZET, S.; BARRIEU, F.; HAMDI, S.; MÉRILLON, J-M. Effect of methyl jasmonate in combination with carbohydrates on gene expression of PR proteins, stilbene and anthocyanin accumulation in grapevine cell cultures. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, n. 4, p. 493-499, April 2008. DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.12.001.
- CARBONNEAU, A.; DELOIRE, A.; TORREGROSA, L.; JAILLARD, B.; PELLEGRINO, A.; MÉTAY, A.; OJEDA, H.; LEBON, E.; ABBAL, P. **Traité de la Vigne: Physiologie, Terroir, Culture**. 2. éd. Paris: Dunod, 2015.592p.
- CAVALCANTI, F. R.; CARVALHO, C. P. S. Activating the tomato innate defenses: more alternatives to control diseases. In: BURTON, E. N.; WILLIAMS, P. V. (ed.). **Crop Protection Research Advances**. Nova Science Pub Inc, 2008. Chap. 3, p. 55-60.
- CAVALCANTI, F. R.; PEREIRA, V. F.; RIBEIRO JÚNIOR., P. M. **Aspectos da indução de resistência em plantas de videira**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2014. 20 p. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 88). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/991909>. Acesso em: 2 dez. 2024.
- COHEN, S. D.; TARARA, J. M.; GAMBETTA, G. A.; MATTHEWS, M. A.; KENNEDY, J. A. Impact of diurnal temperature variation on grape berry development, proanthocyanidin accumulation, and the expression of flavonoid pathway genes. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 7, p. 2655-2665, April 2012. DOI: 10.1093/jxb/err449.
- FERRI, M.; TASSONI, A.; FRANCESCHETTI, M.; RIGHETTI, L.; NALDERTT, M. J.; BAGNI, N. Chitosan treatment induces changes of protein expression profile and stilbene distribution in *Vitis vinifera* cell suspensions. **Proteomics**, v. 9, n. 3, p. 610-624, Feb. 2009. DOI: 10.1002/pmic.200800386.
- FINGER, G.; HUNOFF, T. S.; ALMANÇA, M. A. K.; CAVALCANTI, F. R. Studies on biological mechanisms of *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* in reducing grapevine downy mildew. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 15., CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 13., 2015, Bento Gonçalves, RS, **Anais [...]**. Bento Gonçalves: CBVE, 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136737/1/Finger-289.pdf>. Acesso em: 2 dez. 2024.
- GARCÍA, Y. R.; PLAZA, E. G. Elicitors: a tool for improving fruit phenolic content. **Agriculture**, v. 3, n. 1, p. 33-52, Jan. 2013. DOI: 10.3390/agriculture3010033.
- GAUTAM, H.; FATMA, M.; SEHAR, Z.; MIR, I. R.; KHAN, N. A. Hydrogen sulfide, ethylene and nitric oxide regulate redox homeostasis and protect photosynthetic metabolism under high temperature stress in Rice plants. **Antioxidants**, v. 11, n. 8, p. 1478, Jul. 2022. DOI: 10.3390/antiox11081478.
- GEORGIEV, V.; ANANGA, A.; TSOLOVA, V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. **Nutrients**, v. 6, n. 1, p. 391-415, Jan. 2014. DOI: 10.3390/nu6010391.
- GUO, Y.; LI, X.; LI, C.; JINYUE, R.; XU, H.; GE, Y. Acibenzolar-S-methyl activates phenylpropanoid pathway to enhance resistance against *Alternaria alternata* in pear fruit. **Science of Food and Agriculture**, v. 103, n. 2, p. 829-836, Aug. 2022. DOI: 10.1002/jsfa.12194.
- HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Responses to Plant Pathogens. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. 2nd ed. Rockville: American Society of Plant Biologists, 2015. 1283p.
- HERRMANN, K. M.; WEAVER, L. M. The Shikimate Pathway. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, n. 1, p. 473-503, 1999. DOI: 0.1146/annurev.arplant.50.1.473.
- IRITI, M.; ROSSONI, M.; BORGIO, M.; FERRARA, L.; FAORO, F. Induction of resistance to gray mold with benzothiadiazole modifies amino acid profile and increases proanthocyanidins in grape: primary versus secondary metabolism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 23, p. 9133-9139, Nov. 2005. DOI: 10.1021/jf050853g.
- JAYAPALA, N.; MALLIAKARJUNAIAH, N. H.; PUTTASWAMY, H.; GAVIRANGAPPA, H.; RAMACHANDRAPPA, N. S. Acibenzolar-S-methyl and b-amino butyric acid-induced upregulation of biochemical defense against *Colletotrichum capsici* infection in chilli (*Capsicum annuum*). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 53, n. 3-4, 2020. DOI: 10.1080/03235408.2020.1735138.
- JEANDET, P.; HÉBRARD, C.; DEVILLE, M-A.; CORDELIÉ, S.; DOREY, S.; AZIZ, A.; CROUZET, J. Deciphering the role of phytoalexins in Plant-Microorganism interactions and human health.

Molecules, v. 19, n. 11, p. 18033-18056, Nov. 2014. DOI: 10.3390/molecules191118033.

KELLER, M. Managing grapevines to optimise fruit development in a challenging environment: a climate change primer for viticulturists. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 16, n. 1, p. 56-69, Jan. 2010. DOI: 10.1111/j.1755-0238.2009.00077.x.

KRZYŻANIAK, Y.; TROUVELOT, S.; NEGREL, J.; CLUZET, S.; VALLS, J.; RICHARD, T.; BOUGAUD, A.; JACQUENS, L.; KLINGUER, A.; CHILTZ, A.; ADRIAN, M.; HÉLOIR, M.-C. A plant extract acts both as a resistance inducer and an oomycide against grapevine downy mildew. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1-14, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01085.

LAL, M. A.; KATHPALIA, R.; SISODIA, R.; SHAKYA, R. Biotic Stress. In: BHATLA, S. C.; LAL, M. A. **Plant Physiology Development and Metabolism**. Singapore: Springer Nature 2018. Chap. 1, p. 1029-1095. DOI: 10.1007/978-981-13-2023-1_32.

LLORENS, E.; GARCÍA-AGUSTIN, P.; LAPEÑA, L. Advances in induced resistance by natural compounds: towards new options for Woody crop protection. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 1, p. 90-100, Jan-Feb. 2017. DOI: 10.1590/1678-992X-2016-0012.

MODESTI, M.; BRIZZOLARA, S.; FORNITI, R.; CECCANTONI, B.; BELLINCONTRO, A.; CATELLI, C.; MENCARELLI, F.; TONUTTI, P. Postharvest ozone fumigation of grapes (cv. Sangiovese) differently affects volatile organic compounds and polyphenol profiles of berries and wine. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 2023, n. 1, article 8244309, Feb. 2023. DOI: 10.1155/2023/8244309.

PASTOR-FERNÁNDEZ, J.; SANMARTÍN, N.; MANRESA-GRAO, M.; CASSAN, C.; PÉTRIACQ, P.; GIBON, Y.; GAMIR, J.; ROMERO-RODRIGUEZ, B.; CASTILLO, A. G.; CEREZO, M.; FLORS, V.; SÁNCHEZ-BEL, P. Deciphering molecular events behind Systemin-induced resistance to *Botrytis cinerea* in tomato plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 75, n. 13, p. 4111-4127, July 2024. DOI: 10.1093/jxb/erae146.

RIBÉREAU-GAYON, P.; GLORIES, Y.; MAUJEAN, A.; DUBOURDIEU, D. **Handbook of enology: the chemistry of wine - stabilization and treatments**. 2nd ed. New Jersey: John Wiley & Sons, v. 2, 2006. 456p.

RIENTH, M.; TORREGROSA, L.; KELLY, M. T.; LUCHAIRE, N.; PELLEGRINO, A.; GRIMPLET, J.; ROMIEU, C. Is transcriptomic regulation of berry development more important at night than during the day? **Plos One**, v. 9, n. 2, e88844, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0088844.

RUHMANN, S.; PFEIFFER, J.; BRUNNER, P.; SZANKOWSKI, I.; FISHER, T. C.; FORKMANN, G.;

TREUTTER, D. Induction of stilbene phytoalexins in grapevine (*Vitis vinifera*) and transgenic stilbene synthase-apple plants (*Malus domestica*) by a culture filtrate of *Aureobasidium pullulans*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, p. 62-71, Nov. 2013. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.03.011.

SALAMA, A.-M.; ABDELSALAM, M. A.; REHAN, M.; ELANSARY, M.; EL-SHEREIF, A. Anthocyanin accumulation and its corresponding gene expression, total phenol, antioxidant capacity and fruit quality of 'Crimson Seedless' grapevine (*Vitis vinifera* L.) in response to grafting and pre-harvest applications. **Horticulturae**, v. 9, n. 9, p. 1001, Sept. 2023. DOI: 10.3390/horticulturae9091001.

SALEHI, B.; MISHRA, A. P.; NIGAM, M.; SENER, B.; KILIC, M.; SHARIFI-RAD, M.; FOKOU, P. V. T.; MARTINS, N.; SHARIFI-RAD, J. Resveratrol: a double-edged sword in health benefits. **Biomedicines**, v. 6, n. 3, p. 91, Sept. 2018. DOI: 10.3390/biomedicines6030091.

SILVA, L. F. da; GUERRA, C. C.; CAVALCANTI, F. R.; BERGOLD, A. M. Nutritional evaluation of red wines from 'Campanha Gaúcha' by a feasible HPLC-DAD method for bioactive polyphenols. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CROMATOLOGRAFIA Y TÉCNICAS AFINES, 15.; CONGRESSO COLOMBIANO DE CROMATOLOGRAFIA, 7., 2014, Cartagena de Indias, Colombia. **Presentaciones en poster: alimentos y bebidas**. Bogotá: Sociedad Colombiana de Ciencias Químicas, 2014. P-AB-22.

SINGH, R. K.; MARTINS, V.; SOARES, B.; CASTRO, I.; FALCO, V. Chitosan application in vineyards (*Vitis vinifera* L. cv. Tinto Cão) induces accumulation of anthocyanins and other phenolics in berries, mediated by modifications in the transcription of secondary metabolism. **International Journal of Molecular Science**, v. 21, n. 1, p. 306, 2020. DOI: 10.3390/ijms21010306.

SINGH, A.; MEHTA, S.; YADAV, S.; NAGAR, G.; GHOSH, R.; ROY, A.; CHAKRABORTY, A.; SINGH, I. K. How to cope with the challenges of environmental stresses in the Era of Global Climate Change: an update on ROS scavenging in plants. **International Journal of Molecular Science**, v. 23, n. 4, p. 1995, Feb. 2022. DOI: 10.3390/ijms23041995.

STEMPIEN, E.; GODDARD, M.-L.; WILHELM, K.; TARNUS, C.; BERTSCH, C.; CHONG, J. Grapevine *Botrytis* dieback fungi have specific aggressiveness factor repertory involved in wood decay and stilbene metabolism. **Plos One**, v. 12, p. 1-22, Dec. 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0188766.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. Cap. 13, p. 343-372.

TEIXEIRA, A.; EIRAS-DIAS, J.; CASTELLARIN, S. D.; GERÓS, H. Berry phenolics of grapevine under challenging environments. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 9, p. 18711-18739, Sept. 2013. DOI: 10.3390/ijms140918711.

TRIPATHI, D.; RAIKHY, G.; KUMAR, D. Chemical elicitors of systemic acquired resistance – Salicylic acid and its functional analogs. **Current Plant Biology**, v. 17, p. 48-59, Jan. 2019. DOI: 10.1016/j.cpb.2019.03.002.

VAN LEEUWEN, C.; FRIANT, P.; CHONE, X.; TREGOAT, O.; KOUNDOURAS, S.; DUBOURDIEU, D. The influences of climate, soil and cultivar on terroir. **American**

Journal of Enology and Viticulture, v. 55, n. 3, p. 207–217, 2004. DOI: 10.5344/ajev.2004.55.3.207.

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. **Plant Physiology**, v. 126, n. 2, p. 485-493, Jun. 2021. DOI: 10.1104/pp.126.2.485.

WINK, M.; BOTSHEN, F.; GOSMANN, C.; SCHAFER, H.; WATERMAN, P. G. Chemotaxonomy seen from a phylogenetic perspective and evolution of secondary metabolism. In: WINK, M. **Annual Plant Reviews: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism**. 2nd ed. Wiley-Blackwell, v. 40, 2010. Chap. 7. DOI:10.1002/9781444320503.ch7.