

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO



DISSERTAÇÃO

Mecanismos físico-químicos de defesa ao *Colletotrichum acutatum* em frutos de oliveira produzidos na Região Sul do Uruguai

EVA JUIMARA RICARDO ANTUNES

Pelotas, 2024

Eva Juimara Ricardo Antunes

**Mecanismos físico-químicos de defesa ao *Colletotrichum acutatum* em
frutos de oliveira produzidos na Região Sul do Uruguai**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área de conhecimento: Fruticultura de Clima Temperado).

Orientador: Prof. Dr. Paulo Celso de Mello Farias

Coorientador: Prof. Dr. Flavio Gilberto Herter

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

A625m Antunes, Eva Juimara Ricardo

Mecanismos físico-químicos de defesa ao *Colletotrichum acutatum* em frutos de oliveira produzidos na Região Sul do Uruguai [recurso eletrônico] / Eva Juimara Ricardo Antunes ; Paulo Celso de Mello Farias, Flavio Gilberto Herter, orientadores. — Pelotas, 2024.
90 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. *Olea europaea*. 2. Oleuropeína. 3. Antracnose. 4. Suscetibilidade. 5. Cutícula. I. Farias, Paulo Celso de Mello, orient. II. Herter, Flavio Gilberto, orient. III. Título.

CDD 634.6309895

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Eva Juimara Ricardo Antunes

Mecanismos físico-químicos de defesa ao *Colletotrichum acutatum* em frutos de oliveira produzidos na Região Sul do Uruguai

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 26 de agosto de 2024.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Paulo Celso de Mello Farias (Orientador)
Doutor em Ciências pela Universidade de São Paulo

Prof. Dra. Doralice Lobato de Oliveira Fischer
Doutora em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dra. Juliana Aparecida Fernando
Doutora em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Vagner Brasil Costa
Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

**Aos meus pais José e Maria Alaide,
ao meu marido, amigo e companheiro, Wilson Júnior,
dedico este trabalho.**

Agradecimentos

À Deus, minha fortaleza, por guiar cada escolha e iluminar os momentos de incerteza. Sem Ele, nada disso seria possível.

Aos meus pais, por todo amor, paciência e apoio incondicional, que foram essenciais para a realização deste trabalho. Sou profundamente grata por tudo o que fizeram por mim.

Ao meu marido, que foi a calma em meio à tempestade, obrigada por ser meu porto seguro e minha fonte inesgotável de apoio e carinho, por me desafiar a ser melhor e por me auxiliar na execução deste projeto. Meu coração é infinitamente grato.

Ao meu orientador, Paulo Celso, e ao coorientador, Flavio Herter, pela dedicação, paciência e empenho, além dos valiosos ensinamentos compartilhados ao longo da orientação. Sou profundamente grata por não terem medido esforços para a concretização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, por compartilharem seus conhecimentos e experiências.

À minha melhor amiga, Amanda, que através da conexão e do apoio mútuo, tornou tudo mais leve. Sua amizade é meu porto seguro. Aos demais amigos que fizeram parte dessa trajetória, meu sincero agradecimento.

A todos os funcionários do INIA-Las Brujas, no Uruguai, especialmente a Paula Conde-Innamorato, por aceitarem o desafio e prestarem todo o apoio e auxílio na condução dos trabalhos durante minha passagem. Aos amigos David e Juan, pela recepção, dedicação e pelos conhecimentos compartilhados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa.

Resumo

ANTUNES, Eva Juimara Ricardo. **Mecanismos físico-químicos de defesa ao *Colletotrichum acutatum* em frutos de oliveira produzidos na Região Sul do Uruguai.** 2024. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Fruticultura de Clima Temperado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

A antracnose da oliveira, causada por *Colletotrichum* spp., é uma doença fúngica importante nas regiões olivícolas que provoca podridão nos frutos, comprometendo a produção e a qualidade dos mesmos. O nível de resistência das cultivares varia de acordo com a genética e a fase de maturação dos frutos. Assim, com este estudo teve-se por objetivo identificar o nível de suscetibilidade de quatro cultivares de oliveira (Arbequina, Picual, Frantoio e Manzanilla de Sevilla) ao *Colletotrichum acutatum* em dois estádios de maturação dos frutos, verdes e maduros. Além disso, buscou-se investigar o papel da espessura da cutícula e do teor de compostos fenólicos totais como mecanismos defensivos envolvidos na suscetibilidade dos frutos à antracnose em dois estádios de maturação, verdes e maduros. O estudo foi conduzido no Instituto Nacional de Investigação Agropecuária - INIA Las Brujas - Departamento de Canelones, Uruguai nos anos de 2023 e 2024. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro blocos. Os frutos verdes e maduros foram inoculados com solução fúngica de 1×10^5 esporos/mL⁻¹ e mantidos em incubação durante 15 dias paralelamente com o material controle. Durante este período, o desenvolvimento e a evolução do fungo foram avaliados periodicamente aos 2, 3, 4, 5, 7, 10, 11, 12, 13 e 15 dias após a inoculação, com base na incidência e severidade da doença. Para a análise anatômica da cutícula, os frutos foram seccionados na região equatorial e infiltrados com parafina líquida a 60 °C com sistema automático de preparação de amostras, tipo carrossel, SLEE MTP. Após a infiltração, os segmentos foram submetidos ao processo de inclusão em parafina utilizando o equipamento modelo YDL-6L da YIDI. Após 24 horas, os segmentos foram cortados em um micrótomo rotativo manual SLEE, Modelo CUT 4062, seguidos pela montagem das lâminas. Posteriormente, as lâminas foram submetidas à coloração com Safranina. As imagens foram obtidas por microscopia óptica e a espessura da cutícula efetuada com o software (livre) Image J. A espessura foi determinada através largura e do comprimento da cutícula dos frutos, tomando-se como base um conjunto de seis células epidérmicas consecutivas. Os compostos fenólicos totais foram quantificados em frutos sadios com espectrofotometria, seguindo a metodologia de Folin-Ciocalteu. A incidência e a severidade da doença apresentaram variações significativas entre as cultivares no estádio verde. No entanto, em frutos maduros, a severidade da doença foi uniforme entre as cultivares. A suscetibilidade à antracnose variou entre as cultivares nos frutos verdes, enquanto, nos frutos maduros, não foram observadas diferenças significativas. Tanto a espessura da cutícula quanto os compostos fenólicos totais variaram entre as cultivares e os estádios de maturação. Nos frutos verdes, a cultivar Frantoio foi a menos suscetível à antracnose, enquanto Arbequina e Picual apresentaram suscetibilidade moderada, e Manzanilla foi a mais suscetível. Já

nos frutos maduros, todas as cultivares foram igualmente suscetíveis. Os mecanismos físico-químicos não influenciaram na suscetibilidade dos frutos.

Palavras-chave: *Olea europaea*; oleuropeína; antracnose; suscetibilidade; cutícula.

Abstract

ANTUNES, Eva Juimara Ricardo. **Physicochemical defense mechanisms against *Colletotrichum acutatum* in olive fruits produced in the Southern Region of Uruguay.** 2024. 90f. Dissertation (Master of Science - Temperate Climate Fruticulture) – Postgraduate Program in Agronomy. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2024.

Olive Anthracnose, caused by *Colletotrichum* spp., is a significant fungal disease in olive-growing regions that leads to fruit rot, compromising both production and quality. The level of resistance among cultivars varies according to genetic factors and the stage of fruit maturation. This study aimed to identify the susceptibility levels of four olive cultivars (Arbequina, Picual, Frantoio, and Manzanilla de Sevilla) to *Colletotrichum acutatum* at two stages of fruit maturation: green and mature. Additionally, the study sought to investigate the role of cuticle thickness and total phenolic compound content as defensive mechanisms involved in the susceptibility of fruits to anthracnose at both maturation stages. The research was conducted at the National Institute of Agricultural Research - INIA Las Brujas - Canelones Department, Uruguay, in 2023 and 2024. The experimental design was completely randomized, consisting of four blocks. Green and mature fruits were inoculated with a fungal solution of 1×10^5 spores/mL and incubated for 15 days alongside control material. During this period, the development and progression of the fungus were periodically assessed at 2, 3, 4, 5, 7, 10, 11, 12, 13, and 15 days post-inoculation, based on disease incidence and severity. For the anatomical analysis of the cuticle, fruits were sectioned at the equatorial region and infiltrated with liquid paraffin at 60 °C using an automatic sample preparation system, carousel type, SLEE MTP. After infiltration, the segments were subjected to paraffin embedding using the YDL-6L model equipment from YIDI. After 24 hours, the segments were cut using a manual rotary microtome SLEE, Model CUT 4062, followed by slide mounting. Subsequently, the slides were stained with Safranin. Images were obtained via optical microscopy, and cuticle thickness was measured using the free software ImageJ. The thickness was determined by the width and length of the cuticle of the fruits, based on a set of six consecutive epidermal cells. Total phenolic compounds were quantified in healthy fruits using spectrophotometry, following the Folin-Ciocalteu methodology. Disease incidence and severity showed significant variations among cultivars at the green stage. However, in mature fruits, disease severity was uniform across cultivars. Susceptibility to anthracnose varied among cultivars in green fruits, while no significant differences were observed in mature fruits. Both cuticle thickness and total phenolic compounds varied among cultivars and maturation stages. In green fruits, the Frantoio cultivar was the least susceptible to anthracnose, while Arbequina and Picual showed moderate susceptibility, and Manzanilla was the most susceptible. In mature fruits, all cultivars were equally susceptible. The physical-chemical mechanisms did not influence the susceptibility of the fruits.

Keywords: *Olea europaea*; oleuropein; anthracnose; susceptibility; cuticle.

Sumário

1 Introdução	12
2 Objetivos	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
2.3 Hipótese	14
3 Revisão Bibliográfica	15
3.1 Descrição botânica e aspectos morfológicos	15
3.2 Origem e distribuição da Oliveira	18
3.3 Importância econômica da oliveira	20
3.4 Principais doenças da oliveira	24
3.4.1 Antracnose da oliveira	25
3.3. Interação <i>Olea europaea</i> - <i>Colletotrichum</i> spp.	34
3.3.1. Resistência/suscetibilidade	34
4 Metodologia	37
4.1 Material vegetal	37
4.1.1 Inoculação e incubação dos frutos	38
4.1.2 Cutícula dos frutos	41
4.1.1 Compostos fenólicos totais.....	45
4.2 Parâmetros avaliados.....	46
4.2.1 Incidência e severidade da doença	46
4.2.2 Espessura da cutícula	48
4.2.3 Teores fenólicos totais.....	48
4.4 Análise estatística	49
5 Resultados	50
5.1 Incidência e severidade.....	50
5.2 Espessura da cutícula	59
5.3 Compostos fenólicos totais.....	61

6 Discussão	63
6.1 Gravidade da doença e suscetibilidade das cultivares	63
6.2 Espessura da cutícula como mecanismo de defesa biofísico	66
6.3 Compostos fenólicos como mecanismo de defesa bioquímico	67
7 Conclusões	71
Considerações e perspectivas	71
Referências	73

1 Introdução

Em todas as áreas de cultivo de oliveiras (*Olea europaea* L.), doenças causadas por fungos patogênicos podem ser transmitidas por vários meios, incluindo ar, água, solo e equipamentos. Essas doenças têm um impacto econômico significativo, afetando a saúde das plantas e a qualidade dos frutos, o que pode resultar em perdas econômicas consideráveis para os produtores.

A antracnose é umas das doenças mais impactantes da cultura, originada por patógenos das espécies do gênero *Colletotrichum*, que causam perdas significativas na produção (Cacciola *et al.*, 2012; Moral; De Oliveira; Trapero, 2009; Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018). O óleo extraído de frutos infectados por *C. acutatum* apresenta alta acidez, qualidade nutricional reduzida e alterações no perfil organolépticos, que comprometem a sua qualidade e aceitabilidade. (Leoni *et al.*, 2018; Miho *et al.*, 2024). A infecção pode levar a uma queda drástica na produção, com impactos econômicos substanciais em todas as regiões produtoras de azeitonas (Cacciola *et al.*, 2012).

A maior parte dos olivais está concentrada em países da região da bacia do Mediterrâneo, destacando-se a União Europeia como a principal responsável pela de produção de azeite, sendo a Espanha o principal país produtor. Na América do Sul, países como Peru, Argentina, Chile, Uruguai e Brasil são os principais produtores de azeitonas, entre os quais o Peru e a Argentina são os maiores produtores, respondendo por 70% da produção (FAO, 2024). A Argentina lidera a produção de azeite com cerca de 35 mil toneladas, o que faz do país o maior produtor da América do Sul. O Chile segue com uma produção de cerca de 20 mil toneladas (COI, 2024). O Uruguai, apesar de enfrentar desafios climáticos, continua a crescer e produziu cerca de 2 mil toneladas de azeite de oliva extra virgem na safra 2023 (MGAP-DIEA, 2023).

A antracnose da oliveira é endêmica na bacia do Mediterrâneo Ocidental, mas se dispersou para outras regiões globais, causando preocupação em áreas de cultivo emergentes (Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018). No campo, a susceptibilidade dos frutos à antracnose varia conforme a cultivar e o estágio de maturação. Frutos em estádios iniciais de desenvolvimento geralmente apresentam maior imunidade à infecção, enquanto frutos maduros são mais

suscetíveis, manifestando sintomas clássicos de podridão (Moral; De Oliveira; Trapero, 2009).

Nos últimos anos, a incidência e a gravidade da doença têm aumentado consideravelmente. Esse aumento é amplamente influenciado por fatores como as condições climáticas, a suscetibilidade das diferentes cultivares de oliveiras e a virulência dos isolados fúngicos (Lesk; Rowhani; Ramankutty, 2016; Moral; De Oliveira; Trapero, 2009). A severidade dos sintomas provocados por patógenos pode variar significativamente entre diferentes cultivares, e essa variabilidade está frequentemente associada à composição bioquímica do fruto e a outros mecanismos de defesa da planta (Moral; De Oliveira; Trapero, 2009; Riolo *et al.*, 2023). A resistência das plantas a patógenos resulta, portanto, de uma combinação de mecanismos físicos e bioquímicos, que influenciam a forma como cada cultivar responde ao ataque.

A cutícula do fruto é uma barreira física importante que pode impedir a penetração de fungos. A espessura da cutícula varia entre diferentes cultivares, influenciando diretamente a resistência à antracnose (Gomes *et al.*, 2012). Além disso, mudanças metabólicas durante o amadurecimento dos frutos, como a alteração na concentração de compostos fenólicos, podem desempenhar uma importante função na defesa bioquímica contra patógenos (Cecchi *et al.*, 2015).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários com propriedades antioxidantes e antifúngicas. Eles são encontrados em várias partes da planta, incluindo frutos e folhas, e sua concentração pode variar significativamente entre cultivares e estádios de maturação (Gomes *et al.*, 2012; Miho *et al.*, 2024; Moral; Trapero, 2009). A composição fenólica está associada à resistência dos frutos ao *C. acutatum*, embora a relação entre compostos fenólicos totais e resistência à antracnose ainda não esteja completamente elucidada (Moral *et al.*, 2017).

Portanto, considerando a importância econômica da olivicultura e os graves danos causados pela antracnose, é fundamental aprofundar os estudos sobre a relação entre os mecanismos de defesa e a resistência das plantas. Além dos trabalhos existentes, é necessário entender melhor a resposta de diferentes cultivares ao principal agente causador da doença, *Colletotrichum acutatum*, e investigar os mecanismos que influenciam a defesa e a suscetibilidade das plantas na interação com esse patógeno.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Estudar e avaliar os mecanismos de defesa que influenciam a suscetibilidade dos frutos de diferentes cultivares de oliveira à antracnose causada por *Colletotrichum acutatum* em condições controladas.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a suscetibilidade de quatro cultivares de oliveira em diferentes estádios de maturação dos frutos;
- Avaliar e quantificar a espessura da cutícula e sua eficácia na proteção dos frutos contra a antracnose;
- Determinar os níveis de compostos fenólicos totais nos frutos e sua influência na suscetibilidade das cultivares à antracnose.

2.3 Hipótese

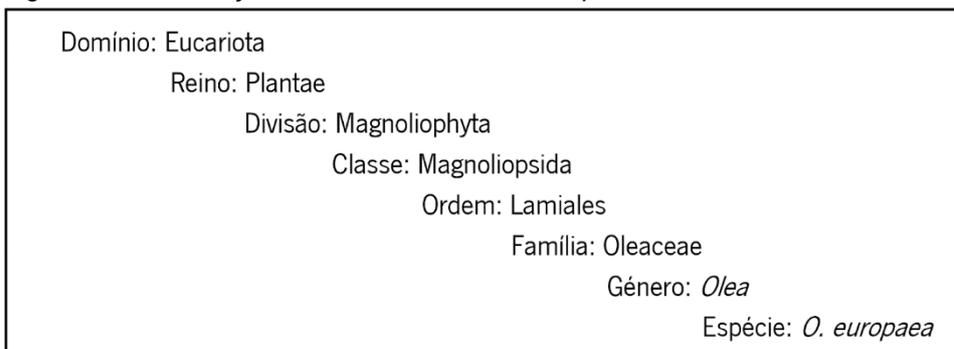
As cultivares de oliveira apresentam variações na espessura da cutícula dos frutos e no teor de compostos fenólicos totais, que atuam como mecanismos de defesa contra a antracnose.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Descrição botânica e aspectos morfológicos

A oliveira pertence à família botânica Oleaceae (Figura 1), que inclui espécies frequentemente encontradas em regiões tropicais e temperadas (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017; Coutinho; Ribeiro; Cappellaro, 2009). Cientificamente conhecida como *Olea europaea* L., esta espécie é amplamente cultivada com o objetivo principal de produzir frutos que são comercializados tanto como azeitonas de mesa quanto para a produção de azeite (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017).

Figura 1- Classificação taxonômica de *Olea europaea* L.



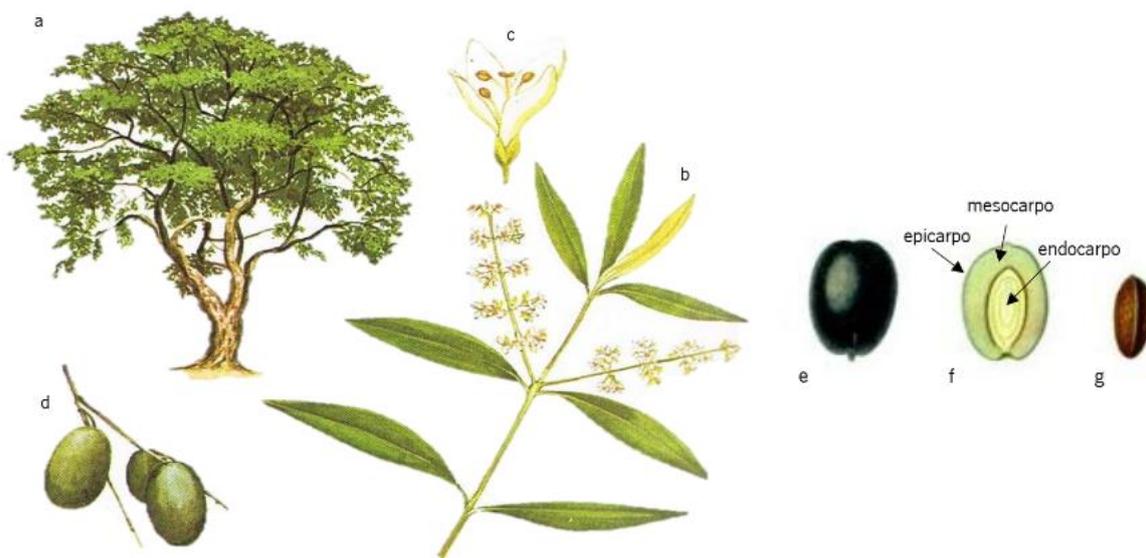
Fonte: adaptado de Olive Oil Source, 2020.

O gênero *Olea* é composto por aproximadamente 35 espécies. No entanto, *Olea europaea* L. apresenta duas subespécies distintas: as variedades cultivadas pertencem à subespécie *sativa* (*Olea europaea* L. subsp. *sativa*), enquanto as formas selvagens são classificadas como subespécie *sylvestris* (*Olea europaea* L. subsp. *sylvestris*) (Bohm, 2013). É importante destacar que *Olea europaea* L. é a única espécie da família Oleaceae que produz frutos comestíveis (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017; Coutinho; Ribeiro; Cappellaro, 2009).

A oliveira cultivada é conhecida por desenvolver plantas de porte médio, que atingem entre 4 e 8 metros de altura e se destacam por sua longevidade, com alguns exemplares podendo viver por mais de 2000 anos, além de apresentarem uma copa densa e um sistema radicular profundo (Bohm, 2013).

Conforme apresentado na Figura 2, dentre outras características descritas a seguir, a copa tem um formato arredondado e é tipicamente densa e ramificada, mas a forma que cada árvore adquire é influenciada pelas condições agrônômicas e ambientais às quais está sujeita durante seu crescimento, especialmente em função das práticas de poda (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017).

Figura 2 - Ilustração das partes estruturais *Olea europaea* L.: a) árvore; b) ramo; c) flor hermafrodita ou estaminada; d) fruto; e) fruto maduro; f) corte longitudinal do fruto maduro; g) endocarpo (caroço).



Fonte: adaptado de Humphries (2006).

O sistema radicular é do tipo pivotante quando se desenvolve a partir de sementes, com o envelhecimento resultando na formação de raízes ramificadas. Por outro lado, as plantas originadas de estaquia, comuns nos pomares comerciais, apresentam predominantemente um sistema radicular fasciculado (Rodrigues; Correia, 2009).

O tronco da oliveira é normalmente espesso, com uma superfície ondulada e casca de cor cinza ou verde acinzentada, sendo possível distinguir duas partes: a inferior, mais grossa e localizada ao nível do solo, e a superior, que se ramifica logo acima do tronco (Rodrigues; Correia, 2009).

Os ramos terminais são flexíveis e capazes de suportar uma grande quantidade de frutos. No entanto, quando não há uma gestão adequada, a copa

assume uma forma densa e arredondada, com ramos em cascata, o que prejudica a penetração de luz no interior da árvore (Queiroga *et al.*, 2022).

A forma e dimensão das folhas podem variar de acordo com a cultivar (Rodrigues; Correia, 2009). As folhas quando totalmente expandidas têm formato simples e elíptico-lanceolado, medindo de 3 a 8 cm de comprimento e 1 a 1,5 cm de largura (Figura 2b). O lado adaxial é verde-escuro e brilhante devido à cutícula espessa, enquanto o lado abaxial é coberto por tricomas, apresentando uma coloração branco-prateada (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017; Neto *et al.*, 2008).

As flores são agrupadas em inflorescências paniculadas, que se desenvolvem nas axilas foliares do crescimento vegetativo do ano anterior à floração (Rodrigues; Correia, 2009). As inflorescências são compostas por dois tipos de flores: as hermafroditas, que possuem estames e pistilo bem desenvolvidos, e as estaminíferas ou masculinas, caracterizadas por um ovário rudimentar ou ausente e que não originam frutos (Rodrigues; Correia, 2009). O número de flores por inflorescência é influenciado pela cultivar, bem como pelas condições de crescimento, incluindo a posição da inflorescência na planta e o processo de brotação (Rapoport; Fabbri; Sebastiani, 2016).

Os frutos da oliveira, chamados de azeitona, são botanicamente classificados como drupas e são constituídos por três partes anatômicas distintas: epicarpo, mesocarpo e endocarpo lenhoso que envolve a semente (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017; Lanza; Di Serio, 2015). A azeitona apresenta uma fina camada extracelular, conhecida como cutícula, composta principalmente por polímeros (cutina) e lipídios insolúveis (ceras) (Lanza; Di Serio, 2015).

De forma geral, o fruto é constituído basicamente por uma composição que inclui água (50,0%), gordura (22,0%), açúcar (19,1%), além de celulose (5,8%), proteínas (1,6%) e compostos inorgânicos (1,5%) (Boskou, 1988; Niaounakis; Halvadakis, 2006). As propriedades químicas e organolépticas dos frutos podem apresentar pequenas variações, que estão principalmente relacionadas à cultivar, às condições de cultivo e ao estágio de maturação do fruto (Bianchi, 2003; Charoenprasert; Mitchell, 2012; Hammami; Manrique; Rapoport, 2011).

Outras características morfológicas da cultura são visualizadas e diferenciadas em função da idade da planta. Na fase juvenil, os ramos possuem espaçamento entre entrenós de menor comprimento, além de folhas curtas e grossas. Porém, na fase adulta, o comprimento dos entrenós é maior e as folhas apresentam uma estrutura mais ampla e espessura afilada (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017; Neto *et al.*, 2008).

3.2 Origem e distribuição da Oliveira

A oliveira é uma planta nativa que tem acompanhado a evolução humana, estabelecendo uma relação simbiótica com a expansão das civilizações, sua presença foi registrada pela primeira vez no Mediterrâneo Oriental (Kostelenos; Kiritsakis, 2017).

A origem da oliveira remonta a uma região geográfica que se estende do Sul do Cáucaso até as altas planícies do Irã, passando pela Palestina e pela zona costeira da Síria. A região oriental da bacia do Mediterrâneo, é amplamente reconhecida como o local de sua origem (Besnard; Terral; Cornille, 2018) baseado na descoberta de caroços de azeitona e fragmentos de madeira em sepulturas antigas (Galili *et al.*, 1997; Liphshitz, 1986), em povoações dos períodos Paleolítico (Kislev; Nadel; Carmi, 1992) e Neolítico (Hadjisavvas, 1992; Liphshitz, 1986).

A partir daí sua presença se expandiu, abrangendo também Chipre e a Anatólia, continuando sua disseminação através do Egito e povoando as áreas limítrofes da região do Mediterrâneo (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017).

Pesquisas arqueológicas realizadas nas Ilhas Cíclades e em outras regiões da Grécia trouxeram à tona folhas de oliveira fossilizadas (Figura 1). De acordo com os métodos modernos de análise, essas folhas parecem ter uma idade estimada entre 50 e 60 mil anos, o que corrobora com a ideia de que a Grécia é uma das terras nativas da oliveira (Kostelenos; Kiritsakis, 2017).

A domesticação da oliveira teve início durante os períodos Paleolítico e Neolítico, aproximadamente entre 10.000 e 3.000 a.C.. Esse processo provavelmente teve origem na antiga Mesopotâmia, dispersando-se

posteriormente para o Egito por volta de 2.000 a.C., alcançando as ilhas, a Ásia Menor, a Palestina e a Grécia continental por volta de 1.800 a.C. (Bohm, 2013).

Estudos arqueobotânicos indicam que a domesticação da oliveira teve início há aproximadamente cinco a seis mil anos no Oriente Próximo, possivelmente fazendo dela uma das primeiras espécies de árvores a serem domesticadas (Kaniewski *et al.*, 2012; Sebastiani; Busconi, 2017).

Durante a primeira metade do primeiro milênio a.C., a oliveira expandiu-se pela Assíria, e a partir do século VI a.C., ela se disseminou por toda a bacia do Mediterrâneo, alcançando regiões como a Líbia, Trípoli (na Tunísia) e a ilha da Sicília, de onde foi introduzida no sul da Itália e acabou se estendendo por todo o país (Figura 3) (Bohm, 2013).

Figura 3 – Ilustração da migração da *Olea europaea* na bacia do Mediterrâneo

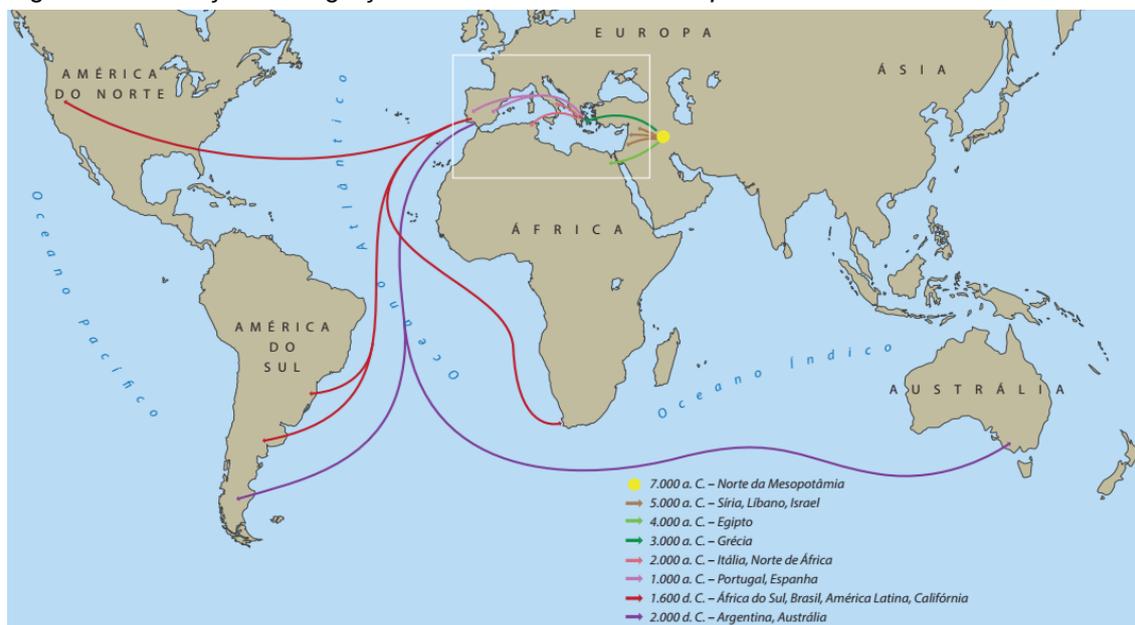


Fonte: Bohm (2013).

A expansão marítima dos fenícios promoveu a disseminação do cultivo da oliveira nas ilhas gregas, estendendo-se posteriormente para o norte da África, Sicília, sul da Itália e Península Ibérica (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017). Por volta de 1000 a.C., os fenícios introduziram as oliveiras na Espanha e no norte da África, enquanto os gregos as levaram para a Itália, e a expansão do Império Romano disseminou as oliveiras por toda a bacia do mediterrâneo (Vossen, 2007).

Foi a partir dessa região que a oliveira se distribuiu para diferentes partes do mundo, incluindo países como o Peru, o Chile, o Uruguai, a Argentina e também para as regiões costeiras do México e dos Estados Unidos, como a Califórnia (Figura 4) (COI, 2024).

Figura 4 – Ilustração da migração ultramarina da *Olea europaea* na Idade Moderna.



Fonte: Bohm; Gouveia, (2013).

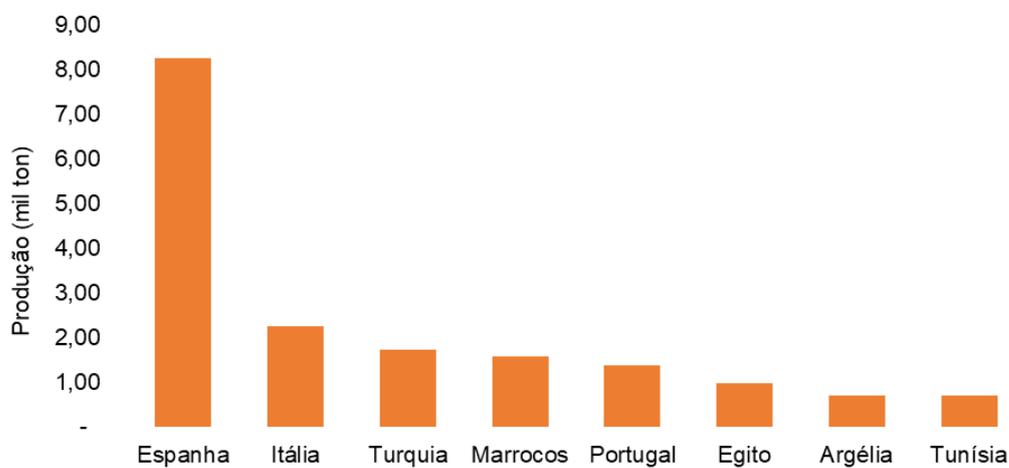
Devido às condições adversas que limitam o cultivo da oliveira, eventos climáticos extremos, especialmente aqueles relacionados à temperatura do ar, desempenham um papel fundamental. A temperatura do ar é o principal fator ambiental que restringe o crescimento e a produção das oliveiras (Garcia *et al.*, 2018; Moriondo *et al.*, 2015). Sua distribuição é delimitada entre as latitudes de 30° a 45° em ambos os hemisférios (Guerra *et al.*, 2015). A oliveira demonstra resistência ao déficit hídrico e ao calor (Rugini; Cristofori; Silvestri, 2016), sendo que temperaturas entre -5 °C e -10 °C causam danos irreversíveis aos ramos do ano, enquanto temperaturas abaixo de -10 °C resultam na morte da parte aérea (Cordeiro; Calderón; Inês, 2018).

3.3 Importância econômica da oliveira

A região mediterrânea é responsável por cerca de 96% da área global dedicada ao cultivo de oliveiras, cobrindo aproximadamente 10 milhões de

hectares (FAO, 2024). A produção mundial de azeitonas é de cerca de 20.5 milhões de toneladas, com a União Europeia (UE) contribuindo significativamente para essa grande produção (FAO, 2024). Espanha, Itália e Portugal juntos respondem por 60% da produção global de azeitonas, sendo a Espanha a maior produtora com aproximadamente 40% do total, o que equivale a 8.25 milhões de toneladas (Figura 5) (FAO, 2024). Outros países com clima mediterrâneo, como Turquia e Marrocos, também são produtores-chave de azeitonas, com produções anuais de aproximadamente 1.738 e 1.590 mil de toneladas, respectivamente (FAO, 2024).

Figura 5 – Classificação dos maiores produtores mundiais de azeitonas.



Fonte: elaborada pela autora, 2024, com dados da FAO (2023).

Na América do Sul, vários países se destacam na produção de azeite, incluindo Argentina, Peru, Chile, Uruguai e Brasil (FAO, 2024). O Brasil, sendo considerado o maior país da América do Sul, também contribui para essa produção. De acordo com o Instituto Brasileiro de Olivicultura (Ibraoliva, 2022), seu território possui cerca de 10 mil hectares dedicados ao cultivo de oliveiras.

O Estado do Rio Grande do Sul (RS), na região Sul do Brasil, lidera a produção nacional de azeitonas, com aproximadamente 7 mil hectares de área plantada (Ibraoliva, 2022). Na safra 2022/23, a produção de azeite no estado foi de 580,23 mil litros (Rio Grande do Sul, 2023). Atualmente, o RS conta com 340 produtores distribuídos em 110 municípios, destacando-se Encruzilhada do Sul, Pinheiro Machado, Canguçu, Caçapava do Sul, São Sepé, Cachoeira do Sul, Santana do Livramento, Bagé, São Gabriel, Viamão e Sentinela do Sul como

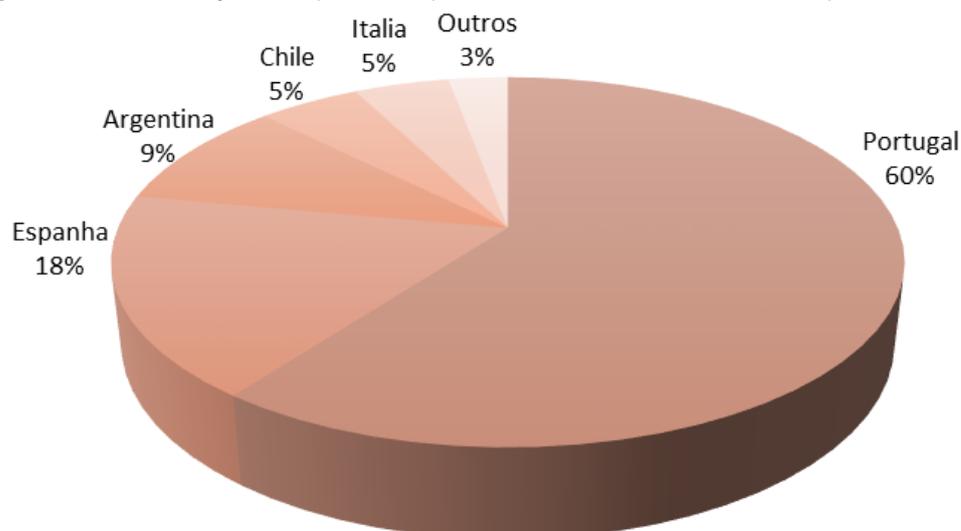
principais áreas de cultivo (Rio Grande do Sul, 2023). A produção de azeite é realizada em 17 instalações de extração, que atualmente envasam 70 marcas distintas. Desde 2017, o número de instalações de extração aumentou 112,5%, enquanto o número de marcas cresceu mais de 310% no mesmo período (Rio Grande do Sul, 2023).

As principais cultivares de oliveiras plantadas no RS são: Arbequina (97%), Koroneiki (94%), Picual (75%), Arbosana (63%), Frantoio (50%), Coratina (30%), Manzanilla (22%) e Grappolo (8,3%) (Rio Grande do Sul, 2023). A expectativa é de um aumento na produção nos próximos anos, pois muitos olivais ainda não entraram na fase produtiva. No entanto, o Brasil continuará a depender de importações significativas para atender à sua demanda interna (Rio Grande do Sul, 2023).

Globalmente, o Brasil é o segundo maior importador de azeite de oliva, com média de importações das últimas três safras de 55.155 toneladas, e de azeitonas de mesa, com 80.825 toneladas (COI, 2024). O maior importador são os Estados Unidos, com o volume de 211.503 toneladas de azeite de oliva e 100.813 toneladas de azeitonas de mesa (COI, 2024).

No contexto mundial, os principais mercados importadores de azeite são os EUA (36%), a União Europeia (14%), o Brasil (8%), o Japão (7%) e o Canadá (5%), que juntos representam 70% das importações globais (COI, 2021). No Brasil, há uma grande dependência de importações tanto de azeitonas de mesa quanto de azeite de oliva. Esses produtos vêm de diversas origens, destacando-se Portugal (60%), seguido pela Espanha (18%), Argentina (9,5%), Chile (5%), Itália (5%) e outros países (3%) (Figura 6) (FAO, 2024).

Figura 6 – Classificação dos países exportadores de azeite e azeitonas para o Brasil.



Fonte: elaborada pela autora, 2024, com dados da FAO (2024).

Segundo o Conselho Oleícola Internacional (COI), o consumo de azeite de oliva no Brasil cresceu quase 200% de 2004 a 2019. No entanto, apenas cerca de 5% desse consumo é atendido pela produção nacional, destacando-se a importância econômica da cultura no país e sua significativa dependência das importações de azeite e outros produtos da oliveira (COI, 2024).

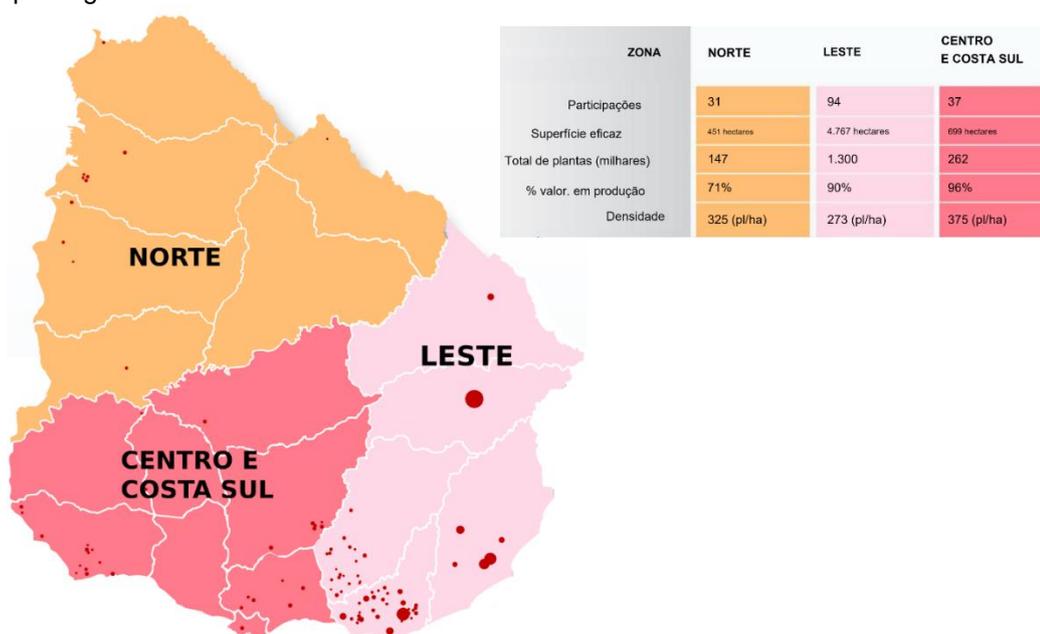
A produção de azeite no Brasil ainda é modesta e caracteriza por ser uma indústria em fase inicial, mas já conquistou reconhecimento internacional pela alta qualidade dos azeites produzidos (Oliveira; Henkes, 2021). A cadeia produtiva da olivicultura no país é promissora, com qualidade comparável e, em alguns casos, superior à encontrada na Espanha, tanto para azeitonas quanto para azeite de oliva (Oliveira; Henkes, 2021; Teramoto; Bertocini; Prela-Pantano, 2013).

Na América do Sul, o Uruguai é o segundo menor país, situado na região temperada do sudeste do continente, com coordenadas geográficas entre 30° e 35° de latitude sul e 53° e 58° de longitude oeste (COI, 2021). Por estar na mesma faixa de latitude da bacia do Mediterrâneo, o Uruguai possui um grande potencial para o desenvolvimento do setor olivícola.

A atividade oleícola é conhecida no Uruguai desde o início dos anos 1900, mas foi nas últimas duas décadas que a produção comercial teve uma forte expansão (Moreira *et al.*, 2023). Desde 2000, foram plantados massivamente pomares com variedades adequadas para a produção de azeite virgem,

utilizando um sistema intensivo de cultivo seco (285–400 árvores/ha), aumentando a área dedicada à oliveira de 500 para 7.000 hectares, totalizando 1,7 milhão de oliveiras, com uma média de 289 árvores por hectare (MGAP-DIEA, 2020). A produção é predominantemente concentrada na região oriental, que cobre 81% da área cultivada, enquanto as regiões central e sul apresentam uma densidade média mais alta, com 375 árvores por hectare (Figura 7).

Figura 7 – Mapa ilustrativo da distribuição das áreas cultivadas e densidade de oliveiras no Uruguai por região.



Fonte: MGAP – DIEA, Censo dos Produtores de Azeitona (2020).

Segundo o censo do setor oleícola publicado em dezembro de 2023 pelo Ministério da Pecuária, Agricultura e Pesca do Uruguai, o país produziu aproximadamente 2.047 toneladas de azeite de oliva extra virgem na safra 2022/23 (Dawson, 2024). Além disso, a instituição informou que, entre março de 2022 e abril de 2023, o Uruguai exportou 530 toneladas de azeite de oliva extra virgem, com um valor total de US\$ 2,4 milhões (Dawson, 2024).

3.4 Principais doenças da oliveira

A oliveira, assim como a maioria das outras culturas, enfrenta diversos fatores bióticos e abióticos que podem afetar direta ou indiretamente a cultura. A produção da azeitona de mesa e azeite de alta qualidade, além da sobrevivência

das oliveiras, pode ser prejudicada por uma série de doenças que afetam a planta (Domingues *et al.*, 2016; Martins; Pereira; Baptista, 2019). Dentre os fatores bióticos, as pragas e doenças representam os principais causadores de prejuízos, com potencial para resultar em perdas consideráveis de produção.

Ao longo do ciclo de vida do olival, a importância relativa das doenças e pragas se modifica, como por exemplo, durante a fase de estabelecimento e formação das plantas, ganham maior relevância aquelas que impactam o sistema radicular, como *Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp., bem como as que provocam a desfolha, como o Repilo (*Spilocaea oleagina*), o Emplumado (*Pseudocercospora cladosporioides*) e a presença de formigas (COI, 2021).

Durante a fase produtiva ou adulta, diversas doenças e pragas se tornam predominantes, impactando negativamente tanto a produtividade quanto a qualidade dos frutos. Esses efeitos podem ocorrer por meio de danos diretos ou pela diminuição da capacidade fotossintética da planta (COI, 2021). A incidência de pragas e doenças nos olivais pode comprometer a produtividade, e a intensidade e ocorrência variam de acordo com a região e as condições climáticas (Scheunemann; Bernardi; Nava, 2009).

As doenças que afetam a oliveira são principalmente causadas por fungos e bactérias, enquanto vírus, fitoplasmas e nemátoides têm uma importância menor (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017).

As enfermidades de origem fúngica estão entre as mais significativas, com potencial para causar desfolha, redução do vigor, morte de plantas, danos nos frutos, apodrecimento e subsequente queda dos frutos. Esses sintomas impactam diretamente a produtividade, a qualidade e os aspectos econômicos da atividade (Martins; Pereira; Baptista, 2019).

3.4.1 Antracnose da oliveira

A antracnose da oliveira é uma doença causada pelo fungo *Colletotrichum* spp., sendo o *Colletotrichum acutatum* a espécie predominante (Moral; De Oliveira; Trapero, 2009). Esta doença é considerada a mais prejudicial à produção de azeitonas em nível mundial, causando murcha das inflorescências, apodrecimento e consequente queda dos frutos, resultando em significativas

perdas de produção (Cacciola *et al.*, 2012; Domingues *et al.*, 2016; Wrege *et al.*, 2009).

As infecções fúngicas do gênero *Colletotrichum* na oliveira afetam diretamente folhas, ramos, brotos, frutos e o vigor das árvores (Cacciola *et al.*, 2012; Martins; Pereira; Baptista, 2019). Entre as doenças da parte aérea, a antracnose é uma das mais importantes (Cacciola *et al.*, 2012), sendo o principal fator limitante na produção de azeitonas em zonas olivícolas suscetíveis a condições úmidas (Loureiro; Talhinhos; Oliveira, 2019; Trapero-Casas *et al.*, 2010).

Além de causar perdas significativas na produção de azeitonas, essa doença também resulta em uma considerável diminuição na qualidade do azeite (Miho *et al.*, 2024). O azeite obtido de azeitonas afetadas por antracnose apresenta baixa qualidade, evidenciando um aumento na acidez e uma redução na estabilidade oxidativa e nos compostos fenólicos. Devido a estes fatores, sensorialmente, o azeite pode apresentar notas de sabor associadas à terra ou ao mofo (Carvalho; Simões-Lopes; Monteiro da Silva, 2008; Peres *et al.*, 2021; Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018).

A severidade e a incidência da doença variam de acordo com a suscetibilidade das cultivares, as condições climáticas e a virulência do agente patogênico, podendo ocasionar reduções significativas na produção, com potencial de atingir até 50% de perdas (Domingues *et al.*, 2016).

Em casos mais severos de ataque, os danos causados pela antracnose podem resultar em uma redução de até 80% na produção. Mesmo infecções leves que permitem colheitas em níveis aceitáveis diminuem a estabilidade oxidativa do azeite, resultando em uma qualidade química e sensorial extremamente baixa (Loureiro; Talhinhos; Oliveira, 2019; Talhinhos *et al.*, 2005). Situações de danos extremos ocorrem, por exemplo, em Portugal, onde os prejuízos podem alcançar 100% de perda de produção (Talhinhos *et al.*, 2005). Em casos de epidemias graves podem causar desfolha e morte dos ramos, impactando negativamente as safras subsequentes (Moral; De Oliveira; Trapero, 2009; Talhinhos *et al.*, 2011).

3.4.1.1 Origem e distribuição geográfica da doença

A antracnose é encontrada em todos os continentes, com a maior incidência observada na região oeste da bacia Mediterrânea, onde é endêmica (Materatski *et al.*, 2018; Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018). É amplamente reconhecida como a doença mais prejudicial para as oliveiras em todo o mundo (Moral; Trapero, 2009). A antracnose é amplamente disseminada em todo o mundo, especialmente em países como Espanha, Portugal, Grécia e Itália. No entanto, a doença também ocorre em outros países produtores de azeitonas, incluindo Montenegro, Japão, Uruguai, Argentina, Brasil, África do Sul, Califórnia, China, Índia, Austrália e Nova Zelândia (Duarte *et al.*, 2010; Filoda *et al.*, 2021; Mugnai; Surico; Ragazzi, 1993; Sergeeva; Spooner-Hart, 2010).

A primeira descrição documentada dessa doença em Portugal foi realizada por (Almeida, 1899), o qual a nomeou como gafa da oliveira, tendo como agente causal *Gloeosporium olivarum*, e desde então, houve inúmeros registros de surtos, destacando sua relevância (Cacciola *et al.*, 2012). Outras denominações surgiram, como na Itália, onde essa doença é conhecida como 'lebbra' (lepra), enquanto na Espanha é referida como 'azeitona com sabão' ou 'mumificada' (mumificação) (Filoda *et al.*, 2021; Graniti *et al.*, 1993; Martín; García-Figueres; Trapero, 2002). Na Espanha, o termo 'repilos' é frequentemente empregado para se referir de forma abrangente à antracnose, à mancha do pavão e à cercosporiose, que, assim como a antracnose, afetam os frutos, resultando em desfolha e deterioração das copas (Moral *et al.*, 2005).

No Brasil, foram registradas duas espécies do gênero *Colletotrichum* associadas à doença: *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum*. A última foi detectada pela primeira vez em 2008, em plantações localizadas no município de Maria da Fé, em Minas Gerais (Duarte *et al.*, 2010). Essas espécies fazem parte de complexos de espécies dentro do gênero *Colletotrichum*, refletindo a diversidade e complexidade na identificação dos patógenos responsáveis pela antracnose. A ocorrência de espécies pertencentes a estes complexos, também foi registrada no Rio Grande do Sul (Finger *et al.*, 2018).

3.4.1.2 Sintomatologia

A antracnose da oliveira se manifesta por meio de dois sintomas principais: um que afeta os frutos, causando podridão e mumificação, e outro que impacta a planta, resultando em desfolha e dessecação dos ramos (Moral *et al.*, 2015; Sergeeva; Nair; Spooner-Hart, 2008; Talhinhos *et al.*, 2015).

Nas folhas, os sintomas incluem ferrugem, clorose, necrose e eventual queda (Materatski *et al.*, 2018). Os ramos, especialmente os inferiores, tendem a morrer devido à persistência e exposição à umidade (Martins; Pereira; Baptista, 2019). As flores podem estar assintomaticamente infectadas desde o início da floração até o desenvolvimento dos frutos, resultando em deterioração e queda (Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018). Os frutos são particularmente suscetíveis, com os sintomas típicos da doença manifestando-se principalmente quando em fase de maturação avançada (Cacciola *et al.*, 2012).

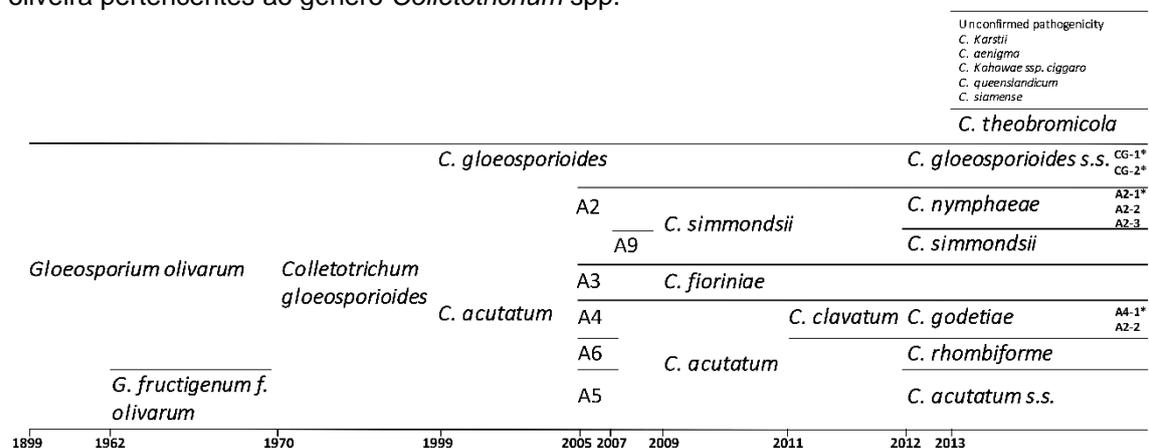
Lesões escuras, geralmente deprimidas, com produção abundante de conídios alaranjados em mucilagem no epicarpo, são comuns (Talhinhos *et al.*, 2011). Nos frutos em maturação, uma podridão parda pode ser identificada internamente ao redor da depressão inicial, antes do aparecimento dos sintomas na superfície da cutícula (Agosteo; Macri; Taccone, 2005; Materatski *et al.*, 2019). Em condições ambientais favoráveis, até mesmo frutos verdes de cultivares suscetíveis podem ser gravemente afetados (Cacciola *et al.*, 2012).

Os sintomas mais característicos são observados em frutos maduros, com o ataque frequentemente ocorrendo na região apical, a área mais exposta à umidade (Cacciola *et al.*, 2012; Mateo-Sagasta, 1968; Talhinhos *et al.*, 2011). Sob alta umidade, os frutos infectados apresentam podridão marrom a escura com uma matriz gelatinosa laranja contendo conídios liberados dos acérvulos. Enquanto, em condições de baixa umidade, os frutos tendem a mumificar e perder peso devido à desidratação (Cacciola *et al.*, 2012). Frutos afetados caem prematuramente, enquanto alguns mumificados permanecem nos ramos (Cacciola *et al.*, 2012).

3.4.1.3 Etiologia e taxonomia

O agente causal da antracnose da azeitona foi inicialmente identificado como *Gloeosporium olivarum* Alm. (Almeida, 1899) e depois reclassificado como *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (Arx, 1970) (Figura 8). Com o tempo, essa espécie foi considerada um grupo que incluía várias espécies mais peculiares (Talhinhas; Loureiro; Oliveira, 2018). *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds (Simmonds, 1968), tornando-se uma espécie importante, com um número crescente de fungos atribuídos a ela (Baroncelli *et al.*, 2017).

Figura 8 - Quadro ilustrativo da evolução da taxonomia dos agentes causais da antracnose da oliveira pertencentes ao gênero *Colletotrichum* spp.



Fonte: adaptado de Talhinhas *et al.* (2018).

Em 1999 foram reconhecidos dois agentes causais da antracnose da azeitona: *C. acutatum* e *C. gloeosporioides* (Martín; García-Figueres, 1999). Existem seis espécies no complexo de *C. acutatum* (*C. fioriniae*, *C. simmondsii*, *C. nymphaeae*, *C. acutatum sensu stricto* (s.s.), *C. godetiae* e *C. rhombiforme*) (Baroncelli *et al.*, 2017) e duas no complexo de *C. gloeosporioides* (*C. theobromicola* e *C. gloeosporioides* (s.s.)) (Damm *et al.*, 2012; Mosca *et al.*, 2014; Weir; Johnston; Damm, 2012) reconhecidas como causadoras da antracnose da azeitona. Fungos de quatro espécies do complexo *C. gloeosporioides* e um do complexo de *C. boninense* foram isolados de azeitonas com sintomas típicos de antracnose (Mosca *et al.*, 2014; Schena *et al.*, 2014), mas sua patogenicidade para a azeitona não foi confirmada (Talhinhas; Loureiro; Oliveira, 2018).

Os meios de identificação das espécies de *Colletotrichum* baseiam-se nas diferenças morfológicas e fisiológicas, incluindo a coloração da colônia, a forma e dimensões dos conídios, a temperatura ideal de crescimento, a taxa de crescimento, a presença ou ausência de setas, a sensibilidade ao fungicidas específicos e a habilidade de hidrolisar caseína (Freeman; Katan; Shabi, 1998; Martín; García-Figueres, 1999; Martín; García-Figueres; Trapero, 2002; Moral *et al.*, 2017). A diversidade entre e dentro desses complexos tem sido objeto de estudos, fundamentados nas características morfológicas, fisiológicas e moleculares dos isolados (Damm *et al.*, 2012; Talhinhos *et al.*, 2005).

Atualmente, considera-se que a antracnose da azeitona é causada por pelo menos 13 espécies do gênero *Colletotrichum*, agrupadas principalmente aos complexos *C. acutatum sensu lato (s.l.)* e *C. gloeosporioides (s.l.)* (Talhinhos *et al.*, 2011), além do complexo *C. boninense* (Moral *et al.*, 2018), com a possibilidade de que o número efetivo de espécies seja ainda maior (Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018). Dentro do complexo *C. acutatum*, a espécie *C. godetiae* é predominante na Grécia, Itália, Montenegro e Espanha, enquanto *C. nymphaeae* é a mais comum em Portugal. Na Tunísia, Austrália e África do Sul, *C. acutatum* é a espécie mais frequente e, nos últimos anos, tem substituído *C. godetiae* na Itália (Cacciola *et al.*, 2012; Moral *et al.*, 2014; Mosca *et al.*, 2014; Schena *et al.*, 2014; Talhinhos *et al.*, 2005). No Brasil, *C. acutatum* foi identificado como causador de doenças em frutos de azeitona no Estado de Minas Gerais (Duarte *et al.*, 2010).

Embora *C. gloeosporioides* seja um agente significativo da antracnose da oliveira, sua associação com surtos epidêmicos é menos comum do que o complexo *C. acutatum* (Schena *et al.*, 2014), sendo este prevalente em olivais onde a doença ocorre de forma epidêmica (Cacciola *et al.*, 2012; Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008; Talhinhos *et al.*, 2005).

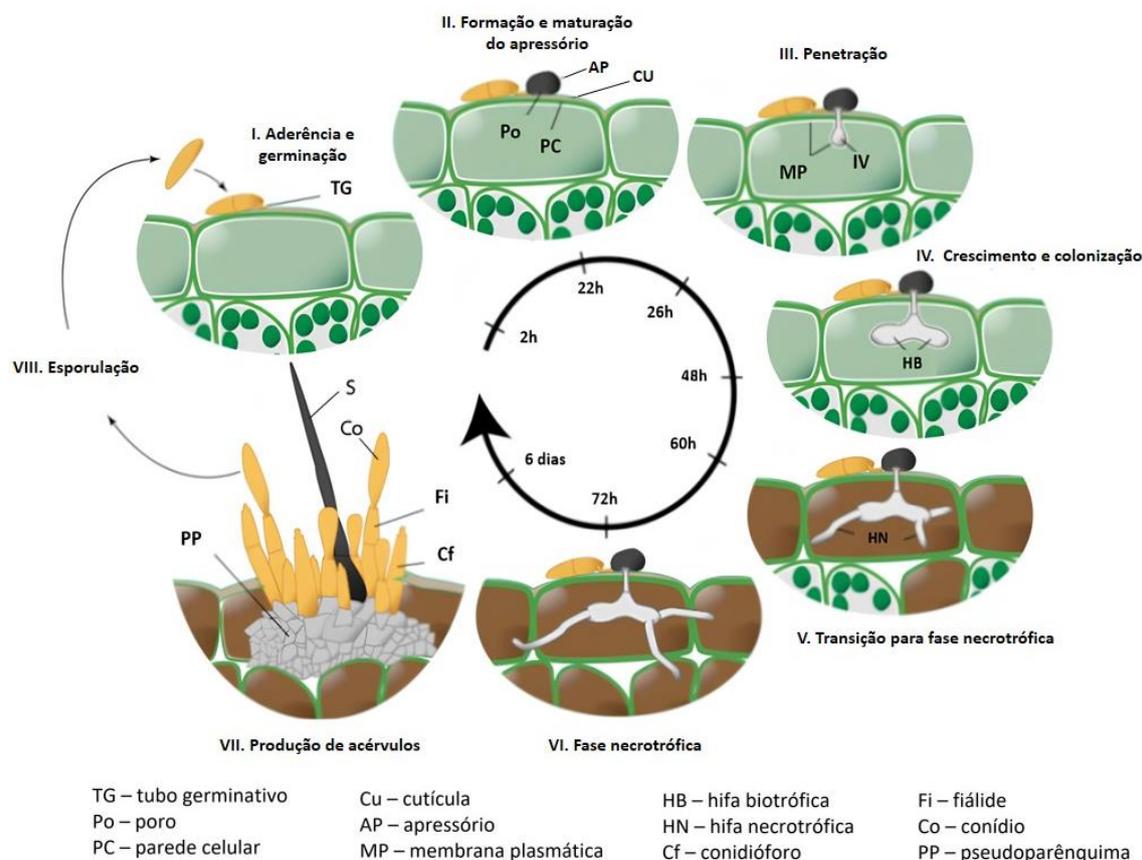
3.4.1.4 Epidemiologia e ciclo de vida

O ciclo de vida do *Colletotrichum* spp. abrange estágios sexuados e assexuados, sendo este último responsável pela disseminação e infecção do fungo (Gomes *et al.*, 2012). Os estágios iniciais da infecção da azeitona são muito semelhantes aos de outros hospedeiros-*Colletotrichum* (Gomes *et al.*,

2009). Os fungos patogênicos adotam diferentes estratégias de infecção: a biotrofia, fase assintomática, na qual eles requerem que as células do hospedeiro permaneçam vivas para completar seu ciclo de vida; a necrotrofia, fase destrutiva, onde o fungo destrói as células do hospedeiro e se alimenta do conteúdo celular; e a hemibiotrofia, em que o fungo começa com um comportamento biotrófico e, em estágios posteriores, se torna necrotrófico (Azevedo-Nogueira; Martins-Lopes; Gomes, 2020; Gomes *et al.*, 2012, 2009).

A interação patógeno-hospedeiro começa com (I) aderência e germinação do conídio à superfície do hospedeiro, (II) formação e maturação do apressório, (III) penetração na cutícula do hospedeiro, (IV) crescimento e colonização nos tecidos vegetais, (V) início da fase necrotrófica, (VI) desenvolvimento necrotrófico, (VII) produção de acérvulos e (VIII) esporulação (Gomes *et al.*, 2009; Wharton; Diéguez-Uribeondo, 2004) (Figura 9).

Figura 9 - Ilustração do esquema representativo das etapas do processo de infecção hemibiotrófica por *Colletotrichum* spp. As fases I, II, III, IV correspondem às fases em que o fungo se desenvolve em biotrofia. As fases V, VI, e VII correspondem ao desenvolvimento necrotrófico.



Fonte: adaptado de Azevedo-Nogueira; Martins-Lopes; Gomes (2020).

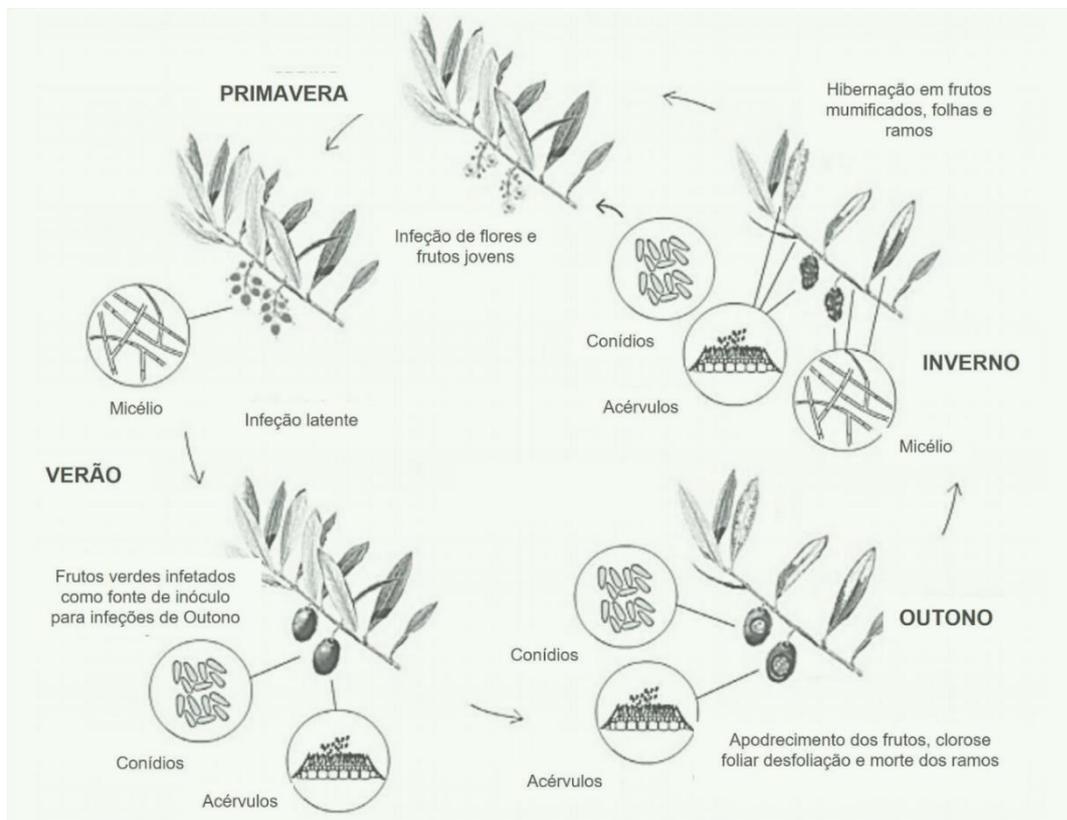
O patógeno pode induzir necrose nos ovários e botões florais, e em casos mais severos, levar ao colapso total da inflorescência, resultando na formação de massas de conídios de coloração salmão em condições de alta umidade (Filoda *et al.*, 2021). No entanto, as flores da oliveira podem ser infectadas assintomaticamente por espécies de *Colletotrichum*, com a manifestação da doença ocorrendo somente durante a frutificação (Sergeeva; Nair; Spooner-Hart, 2008; Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018).

O fungo infecta os frutos por meio de ferimentos causados fisiologicamente, por vetores ou pela epiderme deteriorada devido às enzimas produzidas pelo apressório (Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018). Em seguida, penetra nas células da epiderme e, posteriormente, no mesocarpo do fruto com estruturas chamadas hifas (Bailey *et al.*, 1996; Graniti *et al.*, 1993). Em condições ambientais úmidas, aparecem estruturas de frutificação assexuadas, chamadas acérvulos, sobre as lesões dos frutos. Essas estruturas, que são a forma predominante de reprodução, formam massas mucilaginosas de coloração alaranjada, onde se encontram grandes concentrações de conídios aglomerados (Carlquist, 1977; Graniti *et al.*, 1993; Mateo-Sagasta, 1968; Moral; Trapero, 2009). Os conídios são liberados à medida que os acérvulos amadurecem e se projetam para fora por meio de fendas formadas na epiderme dos frutos (Graniti *et al.*, 1993).

Os frutos doentes dessecam como resultado do apodrecimento do tecido e mumificam, sendo importantes reservatórios de inóculo, pois conseguem liberar conídios de forma constante por pelo menos 6 meses (Moral; Trapero, 2009; Talhinhos *et al.*, 2011; Zachos; Makris, 1963). Além dos frutos mumificados que permanecem na planta, os fungos *Colletotrichum* são capazes de sobreviver em folhas e ramos de oliveiras e também outras plantas, como conídios em repouso (Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018). A importância epidemiológica das múmias no solo é considerada baixa, uma vez que elas se decompõem rapidamente (Moral; Trapero, 2012; Talhinhos *et al.*, 2011; Zachos; Makris, 1963). Contudo, as múmias raramente permanecem nas árvores por longos períodos (Moral; Trapero, 2012). Em média, apenas uma múmia por árvore se mantém no dossel até o próximo outono, indicando que os órgãos vegetativos das plantas são os principais reservatórios de inóculo (Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018). Esses fungos preferem infectar frutos maduros, entretanto, na

ausência deles, conseguem sobreviver como conídios latentes em diversas partes da planta (Figura 10).

Figura 10 - Ilustração da representação esquemática do ciclo de vida do *Colletotrichum* spp.



Fonte: adaptado de Cacciola *et al.* (2012).

Lesões em frutos doentes geram uma grande quantidade de conídios que podem causar infecções secundárias, e em condições de laboratório com alta umidade e temperaturas entre 20 e 25 °C, os sintomas podem aparecer de um a nove dias após a inoculação de frutos maduros (Talhinhas; Loureiro; Oliveira, 2018).

Quando as condições climáticas são favoráveis, especialmente em outonos amenos com chuvas frequentes e longos períodos de alta umidade, a gravidade da doença pode se intensificar rapidamente. Em climas não Mediterrânicos, nomeadamente em climas subtropicais, o risco é ainda maior devido, às chuvas de verão que favorecem a manutenção e a acumulação de inóculo (Talhinhas; Loureiro; Oliveira, 2018).

A temperatura ideal para a germinação de conídios de *C. nymphaeae* e *C. godetiae* varia em torno de 20 e 25 °C (Moral; Trapero, 2012). Para que a

infecção do hospedeiro ocorra, é necessário ter água livre ou umidade relativa superior a 98% (a gravidade da doença aumenta com períodos de umidade que podem durar até 48 horas) e uma temperatura entre 17 e 20 °C, embora a infecção também possa ocorrer em temperaturas de 5 a 30 °C, com períodos latentes mais longos (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017; Moral; Trapero, 2012).

3.3. Interação *Olea europaea* e *Colletotrichum* spp.

3.3.1. Resistência/suscetibilidade

As interações entre *Olea europaea* e *Colletotrichum* spp. estão fortemente relacionadas com a cultivar e o estágio de maturação dos frutos. Frutos maduros tendem a ser mais suscetíveis ao fungo, pois a maturação reduz os mecanismos de defesa, como os compostos fenólicos presentes em frutos imaturos (Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008). A incidência e a severidade da doença são parâmetros fundamentais para determinar a suscetibilidade das cultivares, e ambos têm aumentado nos últimos anos. Esses fatores são amplamente influenciados pelas condições climáticas, pela suscetibilidade das cultivares e pela virulência dos isolados fúngicos (Lesk; Rowhani; Ramankutty, 2016; Moral; Trapero, 2009).

Além das condições ambientais, a suscetibilidade das cultivares de azeitona, o estágio de maturação das drupas e as diferenças na virulência das espécies de *Colletotrichum* são os principais fatores que desencadeiam o aparecimento e condicionam a severidade das epidemias (Riolo *et al.*, 2023).

Embora as cultivares de azeitona sejam classificadas em categorias de resistência à antracnose, como resistentes, moderadamente suscetíveis, suscetíveis e altamente suscetíveis, variações na suscetibilidade dentro da mesma cultivar ocorrem devido às avaliações realizadas em condições de infecção natural, onde diferentes espécies de *Colletotrichum* e condições ambientais impactam o desenvolvimento da doença (Moral; Trapero, 2009).

Em vários países olivícolas onde a antracnose está presente, foram observadas diferenças na suscetibilidade entre as cultivares de azeitona e a resistência genética à doença tem sido considerada parte de uma estratégia

integrada para o manejo da antracnose (Cacciola *et al.*, 2012; Moral *et al.*, 2014, 2017, 2018; Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008; Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018)

A suscetibilidade às infecções de oito cultivares de azeitona amplamente cultivadas em Portugal por várias espécies de *Colletotrichum* (*C. acutatum*, *C. godetiae*, *C. nymphaeae*, *C. fioriniae*, *C. rhombiforme* e *C. gloeosporioides*), foi investigada, revelando uma alta variabilidade na virulência entre as espécies de *Colletotrichum* e uma interação significativa entre cultivares e isolados de *Colletotrichum* (Talhinhos *et al.*, 2015). Uma cultivar representativa para cada classe de suscetibilidade (altamente suscetível, suscetível, moderadamente suscetível, resistente e altamente resistente) foi selecionada, utilizando 'Picual' como representante de cultivares resistentes e 'Frantoio' como representante de cultivares altamente resistentes (Moral *et al.*, 2017, 2021).

3.4.1.5 Mecanismos de defesa

As plantas têm uma série de mecanismos estruturais de defesa contra patógenos. A interação é um processo dinâmico e complexo, que envolve vários mecanismos de defesa das plantas, permitindo-as resistir ou tolerar a invasão desses agentes patogênicos (Ngou; Ding; Jones, 2022). Para garantir sua sobrevivência, as plantas desenvolveram defesas que podem ser classificadas como constitutivas, consideradas barreiras pré-formadas; e defesas induzidas, como transdução de sinal e expressão gênica, produzidas após a detecção de patógeno (Freeman; Beattie, 2008; Mithöfer; Boland; Maffei, 2018).

Os mecanismos constitutivos, por exemplo, incluindo barreiras físicas e químicas, fornecem uma proteção inicial contra o ataque do agente patogênico. Esses mecanismos são projetados para prevenir o ataque e a propagação de organismos invasores que causam danos significativos (Broekaert *et al.*, 2006; Freeman; Beattie, 2008), atuando como a primeira linha de defesa das plantas contra agentes patogênicos (Gomes *et al.*, 2012). Na oliveira e na azeitona, estruturas como a cutícula, a epiderme do fruto ou a existência de tricomas nas folhas, além de compostos lipídicos e fenólicos, atuam na defesa contra a penetração de agentes patogênicos.

As respostas de defesa induzidas sistemicamente são ativadas perante um sinal, ou seja, quando o patógeno entra em contato com o hospedeiro, por

exemplo, pode haver o espessamento da parede celular e de outras estruturas, além da síntese de metabólitos secundários (flavonoides, fitoalexinas e outros compostos fenólicos), favorecendo um ambiente hostil e tóxico para o crescimento do patógeno (Anand *et al.*, 2009; Dixon, 2001; Gomes *et al.*, 2012; Tonnessen *et al.*, 2015). Após reconhecerem a presença de um patógeno, esses mecanismos são ativados e desencadeiam respostas tanto no local da infecção quanto em áreas distantes e tecidos não infectados (Gomes *et al.*, 2012; Jones; Dang, 2006).

A primeira linha de defesa é a superfície da planta, que os patógenos e pragas, incluindo fungos, bactérias e insetos, precisam aderir e penetrar para causar danos (Arya *et al.*, 2021). A cutícula é uma importante barreira física constitutiva que compõe a epiderme, cobre as células epidérmicas e atua como interface entre a planta e o meio ambiente. Sua função principal nos frutos é controlar a difusão de uma matriz de moléculas como água, gases e solutos dos tecidos internos (Chen *et al.*, 2011; Isaacson *et al.*, 2009), além de desempenhar um papel significativo nas interações fruto\patógeno (Gomes *et al.*, 2009).

A espessura da cutícula é um parâmetro quantitativo que está relacionada a uma maior proteção das azeitonas contra patógenos e pode variar entre cultivares e com a maturação dos frutos (Gomes *et al.*, 2012; Hammami; Rapoport, 2012). Azeitonas resistentes a *Colletotrichum acutatum* apresentam cutícula mais espessa, que pode constituir um obstáculo mecânico eficaz contra o ataque do patógeno (Gomes *et al.*, 2012).

Os compostos fenólicos podem atuar como mecanismos de defesa constitutivos e induzidos. Constitutivamente, eles estão presentes na planta como parte de sua defesa básica e contínua contra patógenos (Boudet, 2007). Indutivamente, sua produção pode aumentar em resposta a ataques patogênicos ou estresses ambientais, reforçando a capacidade defensiva da planta (Vanderplank, 2012).

Os compostos fenólicos representam o segundo maior grupo dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas. Eles têm sido vinculados à resistência de frutas como abacate, manga, noz e morango contra patógenos fúngicos necrotróficos e hemibiotróficos (Buonaurio *et al.*, 2023; Prusky, 1996; Roy; Nuckles; Archbold, 2018) incluindo a azeitona (Moral *et al.*, 2014).

Em azeitonas, os compostos fenólicos se destacam pelas suas propriedades antifúngicas (Buonauro *et al.*, 2023) e alterações metabólicas nesses compostos, também têm sido associadas à maior susceptibilidade do fruto maduro ao *Colletotrichum* (Gomes *et al.*, 2012; Moral *et al.*, 2017). Diversos estudos indicam que a alta concentração de compostos fenólicos em azeitonas imaturas constitui um importante fator de resistência (Gomes *et al.*, 2012; Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008; Moral; Trapero, 2009).

4 Metodologia

4.1 Material vegetal

O experimento foi conduzido durante o período de fevereiro a junho de 2023, com frutos de oliveira provenientes de um olival experimental de 17 anos de idade, não irrigado conduzido com os manejos e tratos culturais recomendados para a cultura, localizado no Instituto Nacional de Investigação Agropecuária - INIA Las Brujas - Departamento de Canelones, Uruguai (34°40' S; 56°20' W; altitude 21 m)

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro blocos, quatro cultivares, Arbequina, Picual, Frantoio e Manzanilla de Sevilla e dois estádios de maturação (verde e maduro). Os referidos estádios foram determinados de acordo com o índice de maturação do fruto (IM), que varia de 0 (verde intenso) a 7 (polpa roxa até o caroço) (Figura 11) (Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017). Utilizou-se o IM 1 para frutos verdes e de 4 a 5 para frutos maduros em todos os parâmetros avaliados.

Figura 11 - Determinação do índice de maturação das azeitonas segundo o método Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero, 2017.



Fonte: elaborado pela autora, 2023.

4.1.1 Inoculação e incubação dos frutos

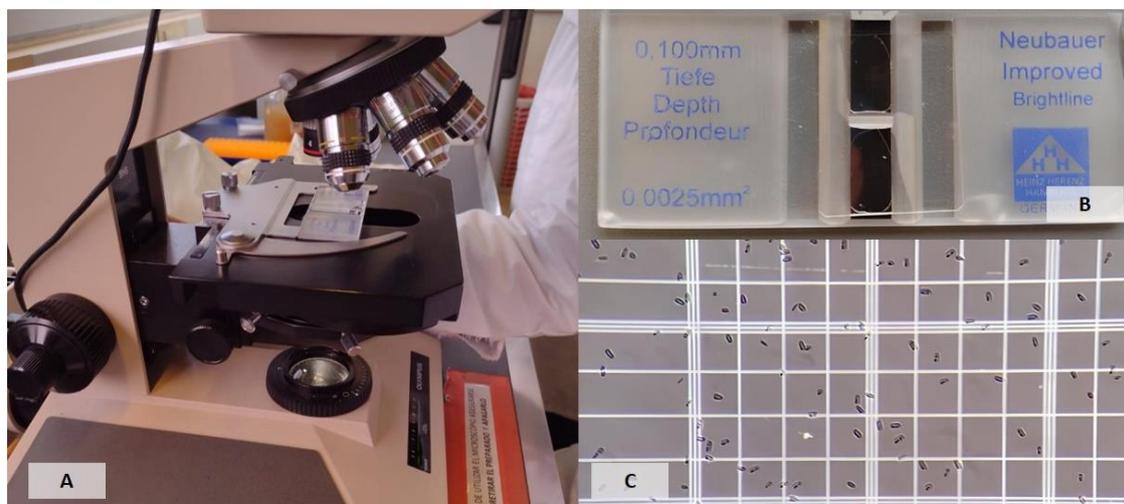
Utilizou-se o isolado fúngico de *Colletotrichum acutatum* N°81 pertencente à coleção do Departamento de Proteção Vegetal, Faculdade de Agronomia, Universidade da República, Uruguai e previamente obtido de azeitonas infectadas (Montelongo *et al.*, 2013). Para a produção de esporos, o fungo foi replicado em duas placas de Petri contendo BDA (Batata Dextrose Ágar), por um período de incubação de 7 dias, a 24 °C (Figura 12 A). Passado este período, a cultura foi raspada superficialmente com uma alça de Drigalski e água destilada (Figura 12 B). A concentração da suspensão foi ajustada através de contagem em uma câmara de Neubauer e microscópio ótico à concentração de 1×10^5 esporos/mL⁻¹ em água destilada (Figura 13).

Figura 12 – Materiais utilizados no preparo da solução para contagem de conídios após 7 dias de incubação a 24°C em meio BDA. A: placa de Petri com crescimento da colônia fúngica; B: raspagem superficial do fungo com água destilada.



Fonte: acervo pessoal, 2023.

Figura 13 – Contagem de conídios da solução preparada a partir da colônia de crescimento em placa de Petri para ajuste de concentração. A: microscópio óptico; B: câmara de Neubauer; C: câmara de Neubauer com solução de conídios vista no microscópio óptico.

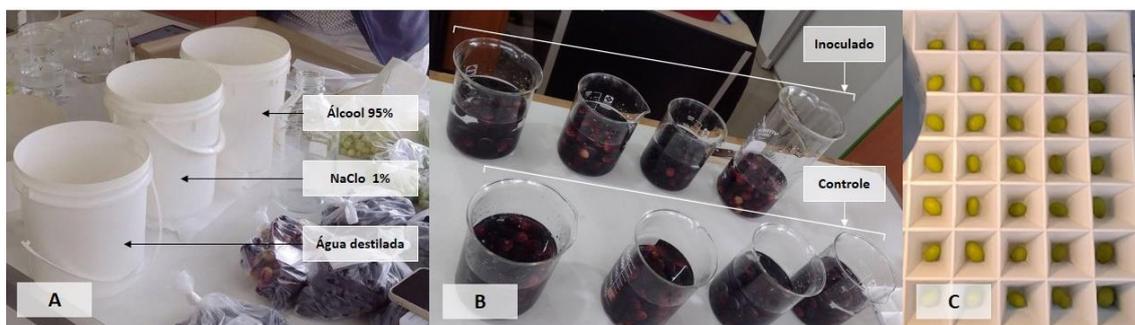


Fonte: acervo pessoal, 2024.

Foram coletados 3.200 frutos distribuídos entre quatro cultivares, quatro blocos, dois tratamentos (inoculado e controle) e dois estádios de maturação (verde e maduro). Os frutos foram superficialmente esterilizados por imersão sequencial em álcool a 95% por 60 segundos, hipoclorito de sódio a 1% (NaClO) por 60 segundos, imersos três vezes em água destilada e lavados em água corrente (Figura 14 A). Em seguida, foram armazenados em bandejas plásticas contendo papel absorvente para retirar o excesso de água.

O grupo inoculado foi submerso em uma suspensão de conídios por 30 minutos, enquanto o grupo controle foi imerso em água destilada estéril pelo mesmo período (Figura 14 B) (Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008). Para cada cultivar, bloco, tratamento e estágio de maturação, foram selecionados 35 frutos para avaliação, e os restantes descartados. Assim, cada tratamento consistiu em quatro blocos de 35 frutos, com quatro cultivares em dois estádios de maturação, totalizando 2.240 frutos avaliados. Posteriormente, os frutos selecionados foram colocados individualmente em bandejas plásticas usadas para cultivo, cada uma com 77 células, sendo alocado um fruto por célula. Cada bandeja foi capaz de armazenar dois blocos (Figura 14 C).

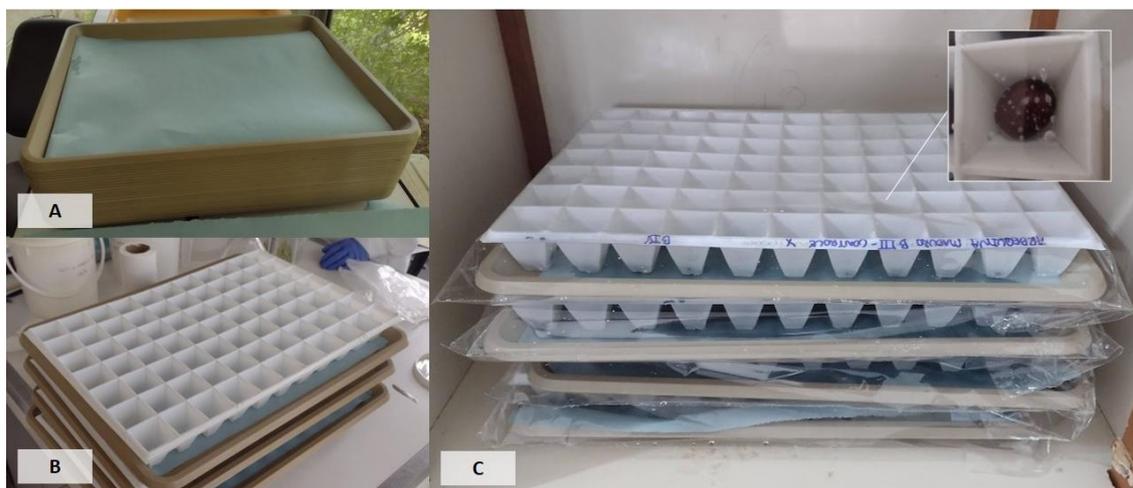
Figura 14 - Materiais utilizados e processo de inoculação. A: esterilização dos frutos; B: processo de inoculação; C: disposição dos frutos nas bandejas plásticas.



Fonte: acervo pessoal, 2023.

Posteriormente cada bandeja de cultivo, contendo os frutos, foi colocada sobre uma bandeja plástica, usada como base, com uma folha de papel filtro umedecida com água destilada (Figura 15 A e B) e envolvidas com saco plástico transparente também previamente umedecido, criando assim uma câmara úmida (Figura 15 C). Durante todo o ensaio, essa configuração foi mantida para favorecer a germinação dos esporos e o desenvolvimento do fungo. Os frutos foram incubados a 24 °C, com 80% de umidade relativa (Riolo *et al.*, 2023) e fotoperíodo de 12 horas.

Figura 15 - Materiais utilizados para armazenamento dos frutos após o processo de inoculação. A: bandeja plástica, com papel absorvente; B: bandeja de cultivo sobre a bandeja plástica base; C: saco plástico envolvendo o conjunto composto por uma bandeja de cultivo, contendo os frutos, e uma bandeja plástica.

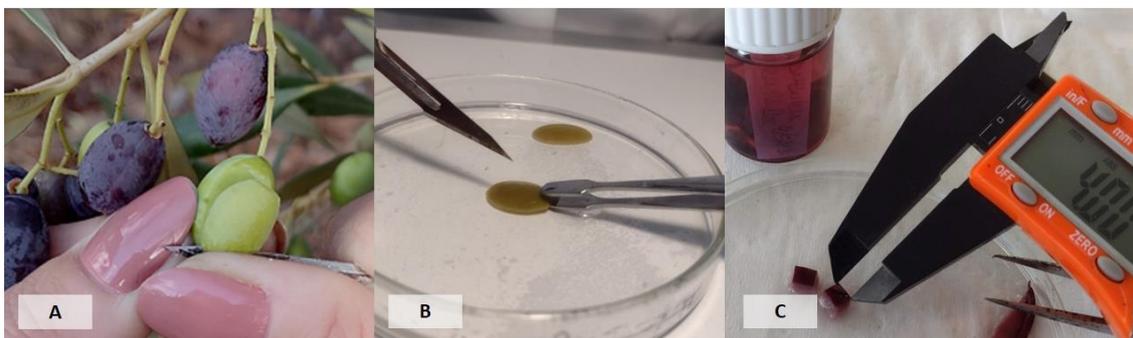


Fonte: acervo pessoal, 2024.

4.1.2 Cutícula dos frutos

Três frutos por bloco de cada cultivar e ponto de maturação foram seccionados ainda na planta com um bisturi de modo longitudinal tangencial na região equatorial exposta ao sol, evitando o caroço (Figura 16 A). As amostras foram armazenadas em tubos Falcon de 15 mL devidamente identificados, contendo uma solução FAA (Formol : ácido acético glacial : etanol 70%) na proporção de 5:5:90 (Johansen, 1941). O tempo de fixação do material na solução de FAA foi de 48 horas, seguido pela preservação em álcool 70% até a etapa de processamento. No laboratório do INIA, as amostras foram seccionadas em placas de Petri contendo álcool a 70% para conservação do material (Figura 16 B). Os cortes transversais foram feitos em formato de cubos de aproximadamente 4 mm (Figura 16 C).

Figura 16 – Procedimento de seleção e seccionamento dos frutos realizados a campo e em laboratório. A: frutos seccionados no campo ainda fixados na planta; B: corte da amostra em placade Petri realizada no laboratório; C: segmento seccionado em 4 mm.



Fonte: acervo pessoal, 2023.

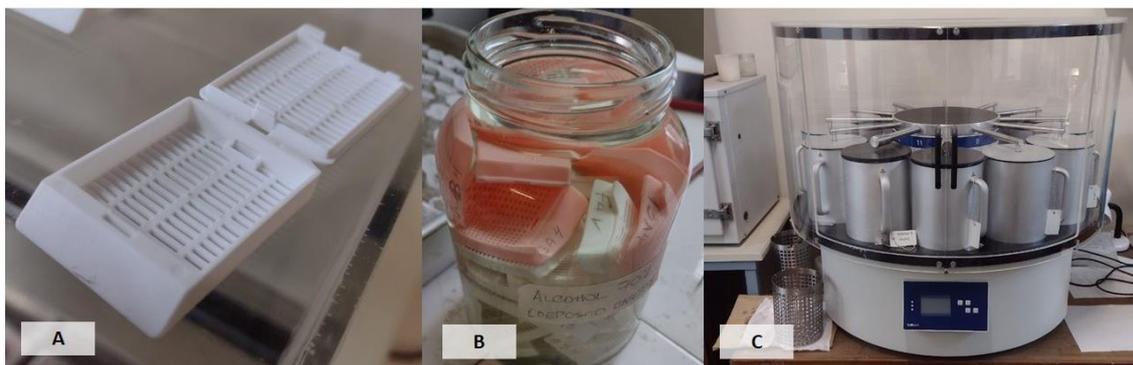
4.1.2.1 Procedimento histológico

O procedimento histológico foi realizado no laboratório de Botânica da Universidade da República do Uruguai - UDELAR. Os segmentos de 4 mm foram armazenados em cassetes histológicos plásticos adequados para a infiltração de tecidos, identificados individualmente de acordo com cada amostra, e conservados em álcool 70% para preservar a integridade do material até o início do processo (Figuras 17 A, B).

Posteriormente, para a etapa de infiltração dos tecidos, utilizou-se o sistema automático de preparação de amostras, tipo carrossel, SLEE MTP, para

desidratação e infiltração da parafina (Figura 17 C). Dentro do equipamento, as amostras passaram por três fases distintas: desidratação, utilizando concentrações progressivas de álcoois (70%, 80%, 90%, 100%, 1 hora cada); imersão em álcool butílico terciário (TBA); e, por fim, imersão em parafina líquida (a 60°C). O processo completo teve uma duração total de 31 horas.

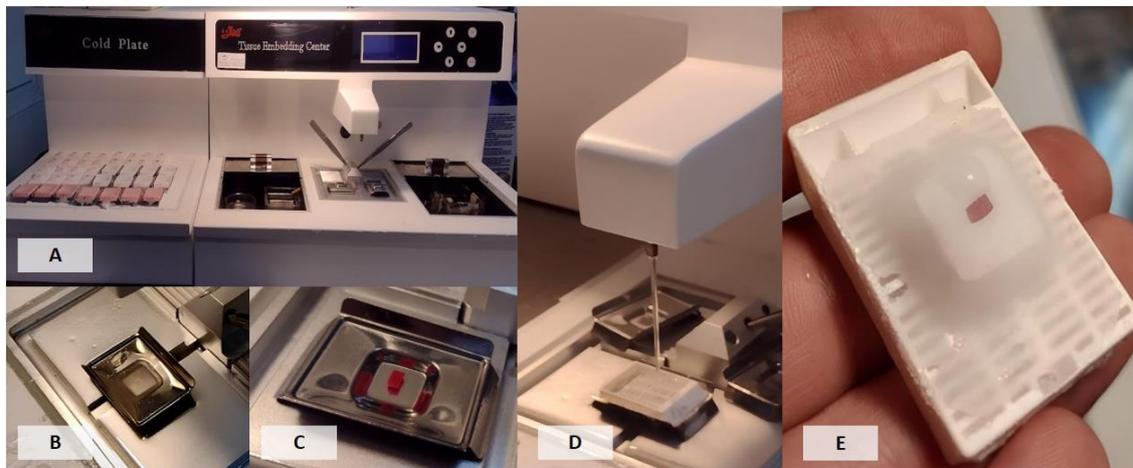
Figura 17 – Materiais e equipamento utilizados no processo de infiltração dos tecidos. A: cassete histológico; B: cassete com material vegetal preservado em álcool 70%; C: processador de tecidos automatizado do tipo carrossel - modelo MTP, da marca SLEE.



Fonte: acervo pessoal, 2023

Após o processo de infiltração, o cassete contendo as amostras foi imerso em parafina a 60°C no equipamento destinado à inclusão em parafina (modelo YDL-6L da YIDI) (Figura 18 A). A amostra foi removida do cassete e, com o auxílio de uma pinça, posicionada no centro de um molde metálico (15 x 15 mm) contendo parafina líquida, de modo que a cutícula do fruto ficasse perpendicular à base (Figura 18 B, C). Em seguida, o cassete (sem a tampa) foi colocado com a cavidade voltada para cima sobre o molde metálico e preenchido com parafina líquida (Figura 18 D). Após isso, o conjunto foi colocado na 'Placa fria' do equipamento para solidificação do bloco (Figura 18 A). Após o processo de inclusão e resfriamento da parafina, o cassete foi separado do molde metálico e deixado em repouso por 24 horas antes de realizar o corte no micrótomo (Figura 18 E).

Figura 18 – Instrumentos e equipamentos empregados na elaboração do bloco em parafina do material vegetal. A: equipamento de inclusão de parafina (YIDI, modelo YDL-6L; B: Molde metálico; C: segmento vegetal posicionado no molde metálico; D: inclusão de parafina no cassete sobre o molde metálico; E: cassete histológico com bloco de parafina após resfriamento.



Fonte: acervo pessoal, 2023.

Após 24 horas, os blocos foram seccionados em um micrótomo rotativo manual (SLEE, Modelo CUT 4062), resultando em fitas de parafina com espessura de 7 μm , contendo os segmentos vegetais (Figura 19 A). A fita possui um lado fosco e outro brilhante, sendo este último voltado para baixo e colocado sobre uma folha de papel. Em seguida, a fita é cortada em seções de acordo com o tamanho da lâmina. Uma gota de adesivo Haupt é aplicada na lâmina previamente identificada, espalhada com o dedo e deixada para secar por 5 minutos. Posteriormente, as seções foram colocadas sobre as lâminas de vidro com o auxílio de quatro gotas de formaldeído a 4%, o que facilitou o deslizamento e o posicionamento da fita na lâmina sem rompê-la (Figuras 19 B, C). O excesso de formaldeído foi removido inclinando a lâmina sobre papel absorvente e aquecendo-a levemente com um isqueiro. As lâminas foram, então, mantidas em estufa a 30°C por 24 horas.

Para as etapas de desparafinização e hidratação, as lâminas foram retiradas da estufa e imersas em concentrações sucessivas de xilol (para remoção da parafina) e álcool (para hidratação), seguindo o seguinte procedimento: xilol I e xilol II, por 5 minutos cada; seguido por uma série etanólica decrescente (100%, 70% e 30%), também por 5 minutos cada, adaptado de Santos *et al.* (2021). Em seguida, as lâminas foram coradas com Safranina, conforme o protocolo descrito por Johansen, (1941), por 2 minutos (Figura 20).

Para cada cultivar, bloco e estágio de maturação, foram preparadas duas lâminas (lâmina 1 e 2), cada uma composta por três seções de fitas contendo aproximadamente 10 segmentos vegetais.

Figura 19 – Procedimento de corte e preparo das amostras para análise microscópica. A: micrótomo com cortes seriados de 7 µm embebidos em parafina; B: adesivo Haupt e Formol 4% usados para fixar o material vegetal na lâmina; C: posicionamento da fita parafinada sobre a lâmina com o auxílio do formaldeído e do pincel.



Fonte: acervo pessoal, 2023.

Figura 20 – Soluções utilizadas no processo de desparafinização, hidratação e coloração dos tecidos, dispostos em ordem sequencial da utilização no procedimento: solução de xilol I e II; álcool 100, 70 e 30%; safranina.



Fonte: acervo pessoal, 2024.

4.1.2.2 Obtenção e processamento de imagens

Após o processo de coloração, as lâminas foram observadas em um microscópio óptico Nikon, modelo Eclipse E100 no laboratório de Botânica da Universidade da República do Uruguai (UDELAR). As microfotografias foram

capturadas com uma câmera AmScope de 8 megapixels, modelo MU853B, acoplada ao microscópio, com o software AmScope® (versão x64, 4.11.22328.20230326), previamente calibrado com uma régua de calibração. A espessura da cutícula foi medida em áreas aleatórias dos segmentos de cada lâmina. Foram capturadas 6 fotos por lâmina para cada cultivar, bloco e estágio de maturação, utilizando o software gratuito ImageJ (Rasband 1997-2024), totalizando 384 medições (Figura 21).

Figura 21 – Tela inicial do software Image J utilizado na obtenção da espessura das cutículas das cultivares.



Fonte: acervo pessoal, 2023.

4.1.1 Compostos fenólicos totais

Foi obtida uma amostra de 100gr de frutos, não contaminados, por bloco e estágio de maturação. A coleta foi manual, o que permitiu selecionar de forma exclusiva cada estágio de maturação. O índice de maturação foi determinado utilizando-se o método de Barranco Navero; Fernández Escobar; Rallo Romero (2017) conforme descrito no material vegetal.

Nesta análise o teor de composto fenólico total foi determinado por espectrofotometria de acordo com a metodologia de Folin-Ciocalteau, descrita por Sánchez-Calvo *et al.* (2022).

Uma amostra de 1 g de polpa macerada foi dissolvida em 5 mL da solução de MeOH/H₂O (80:20, v/v) e agitada em vortex por 30 segundos para evitar o aquecimento da amostra. Em seguida, a mistura foi centrifugada, e a solução extraída foi coletada e ajustada para um volume final de 20 mL com a mesma mistura de MeOH/H₂O (80:20, v/v).

Foi adicionado a um balão volumétrico uma fração de 1 mL da solução ajustada, e completado com 8 mL de água destilada. No balão volumétrico, foram adicionados simultaneamente 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteau e 0,5 mL

da solução saturada de Na_2CO_3 . A mistura foi agitada e mantida em repouso por 2 horas à temperatura ambiente, protegida da luz.

A absorvância foi medida em espectrofotômetro a 760 nm utilizando um equipamento UV-vis, modelo Shimadzu UV-3000. A concentração de fenóis foi calculada e expressa em miligramas de equivalentes de ácido gálico por quilograma de massa fresca, com base em uma curva de calibração gerada a partir de ácido gálico.

4.2 Parâmetros avaliados

4.2.1 Incidência e severidade da doença

Nesta etapa do estudo avaliou-se a interação da espécie *C. acutatum* nos frutos das quatro cultivares de oliveira (Arbequina, Frantoio, Manzanilla e Picual) em relação à infecção. Tanto a incidência quanto a gravidade da doença foram avaliadas aos 2, 3, 5, 7, 10, 12, e 15 dpi (dias após a inoculação).

A severidade da doença foi avaliada pela área do fruto afetada em resposta à inoculação, utilizando uma escala de 0 a 4, onde: 0 = sem sintomas, 1 = lesões visíveis <25% da superfície do fruto, 2 = 25-50%, 3 = 50-75%, e 4 = 75-100% da superfície do fruto apodrecida (fruto completamente coberto com massa gelatinosa), adaptada de Leoni *et al.* (2018) (Figura 22).

Figura 22 – Índice de severidade da doença nos frutos, segundo a escala de 0-4 adaptada de Leoni *et al.* (2018).



Fonte: acervo da autora, 2023.

Os valores da escala de gravidade da infecção nos frutos foram utilizados para calcular o índice de severidade da doença (ISD) (Moral *et al.*, 2017) pela equação 1:

$$ISD = \frac{\sum (ni \times i)}{4 \times N} \times 100 \quad (1)$$

Onde ni= número de azeitonas com o nível da doença, i= nível da doença (0 a 4), N= Número total de frutos avaliados.

A incidência da doença foi monitorada ao longo desse período para registrar a evolução dos sintomas e estimada pela porcentagem de frutos afetados calculada pela equação 2:

$$I = \frac{Nfi}{Nft} \times 100 \quad (2)$$

Onde I= incidência da doença (%), Nfi= Número de frutos infectados, Nft = Número total de frutos testados.

Os valores severidade da infecção, obtidos durante o período das avaliações, também foram utilizados para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (ASCPD_s) obtida pela equação 3 proposta por Campbell e Madden (1990):

$$AACPD_s = \sum_{i=0}^n \left(\frac{X_i + X_{i+1}}{2} \right) \cdot (t_{i+1} - t_i) \quad (3)$$

Onde X_i = Índice de severidade da doença (ISD) na i-ésima observação (i e i+1), T_i = intervalo de tempo entre as avaliações (dias) na i-ésima observação, n = número total de observações.

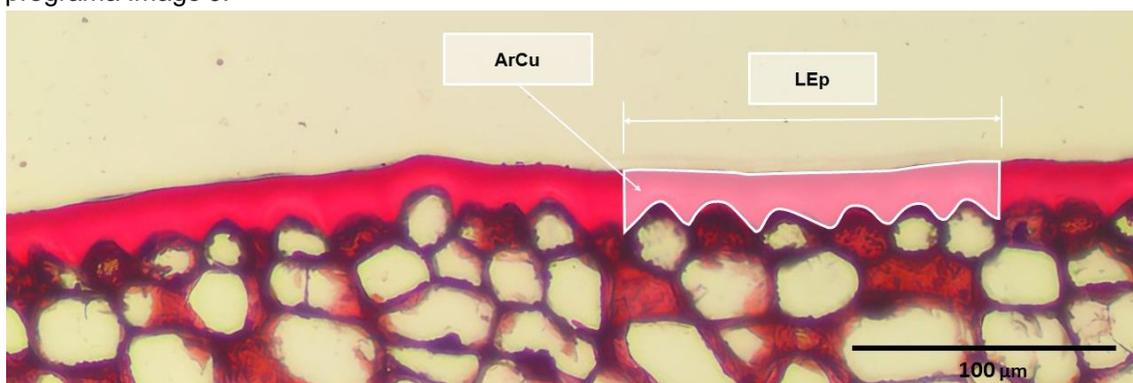
4.2.2 Espessura da cutícula

A espessura da cutícula foi avaliada em cortes histológicos de frutos íntegros através da análise de imagens microscópicas. Para determinar a espessura da cutícula, a metodologia utilizada foi adaptada de Hammami; Rapoport (2012), que consiste na análise de um conjunto de seis células epidérmicas consecutivas, medindo o comprimento (μm) e a área (μm^2) da cutícula (Figura 23). O valor da espessura foi obtido pela relação entre a área combinada e o comprimento tangencial do conjunto de células. A medição da espessura da cutícula foi realizada utilizando o programa ImageJ, totalizando 359 medições. Os valores foram calculados de acordo com a equação 4.

$$E_c = \frac{ArCu}{LEp} \quad (4)$$

Onde E_c (μm) = Espessura da cutícula (μm), $ArCu$ = Área da cutícula, LEp = Comprimento da epiderme.

Figura 23 – Quantificação da espessura da cutícula em corte histológico de frutos íntegros. Secção transversal da parede do fruto de *Olea europaea* cultivar Arbequina. $ArCu$: área da cutícula; LEp : comprimento da epiderme de um grupo sucessivo de 6 células epidérmicas, programa Image J.



Fonte: acervo pessoal, 2024.

4.2.3 Teores fenólicos totais

Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados para investigar as diferenças de concentração entre as quatro cultivares de oliveira, tanto no estágio verde quanto no estágio maduro. Este processo envolveu a

medição dos níveis de fenóis em cada cultivar e estágio de maturação, utilizando métodos analíticos. Além disso, os dados obtidos foram utilizados para correlacionar as concentrações de fenóis nos frutos com a suscetibilidade das cultivares à antracnose.

4.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Infostat. O teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov (valor-p para rejeitar 0,05). As comparações e interações das médias entre as cultivares e os estágios de maturação foram testadas quanto à significância com o teste F (nível de significância $p < 0,05$) e, ao deferirem, submetidas a diferenciação por médias pelo método de Tukey a 5% de probabilidade.

5 Resultados

Todas as cultivares de oliveira utilizadas neste estudo são provenientes do mesmo olival e foram submetidas às mesmas práticas culturais. Portanto, as diferenças encontradas entre os parâmetros avaliados não refletem condições ambientais distintas. As diferenças podem estar relacionadas às características intrínsecas da espécie e cultivares, bem como à forma que cada cultivar responde aos fatores de estresse bióticos e abióticos.

5.1 Incidência e severidade

Os frutos das quatro cultivares, Arbequina, Picual, Frantoio e Manzanilla, desenvolveram os sintomas característicos de antracnose nos dois estádios fenológicos (verde e maduro), inoculados com *Colletotrichum acutatum*. Algumas cultivares completaram o nível máximo de severidade antes do final das avaliações, que duraram 15 dias. Por este motivo, para avaliar as diferenças estatísticas entre os valores aqui listados, foi utilizado o critério da média diária da AACDPs.

Para as variáveis da AACPDs não foram registradas diferenças significativas entre os anos avaliados ($p=0,2213$). Porém, esse parâmetro diferiu significativamente para as outras variáveis (cultivar, maturação e inoculação) ($p<0,0001$). Considerando os valores médios gerais em ambos os estádios de maturação, a cultivar Frantoio mostrou a menor severidade (AACPDs). Para as demais cultivares, não foram observadas diferenças significativas. Na avaliação entre estádios de maturação e entre frutos inoculados e controles, foram observadas diferenças estatísticas ($p<0,0001$) (Tabela 1).

Tabela 1: Área Abaixo das Curvas de Progresso da Doença (AACPDs) estimada com base na escala de severidade da antracnose (0 - 4) desenvolvida nos frutos de quatro cultivares de oliveira, considerando os anos de avaliação, 2023 e 2024, as cultivares, a maturação e a inoculação.

		Unidade de área/dia
Ano*	2023	1,24 ± 0,12 ^a
	2024	1,34 ± 0,12 ^a
Cultivar**	Frantoio	0,76 ± 0,15 ^a
	Arbequina	1,43 ± 0,17 ^b
	Picual	1,44 ± 0,17 ^b
	Manzanilla	1,55 ± 0,15 ^b
Maturação**	Verde	0,66 ± 0,09 ^a
	Maduro	1,92 ± 0,09 ^b
Inoculação**	Controle	0,88 ± 0,09 ^a
	Inoculado	1,69 ± 0,09 ^b

Fonte: elaborado pela autora, 2024. Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças estatísticas geradas pelo Teste de Tukey a 5%. **p<0,0001; *p=0,2343. Média ± desvio padrão.

Na Tabela 2 observa-se que os valores médios diários de AACPD da severidade da doença para as cultivares de oliveira Manzanilla, Picual, Arbequina e Frantoio inoculadas com *C. acutatum*, em dois estádios de maturação dos frutos (verde e maduro), durante os anos de 2023 e 2024.

- Avaliação intervarietal nos estádios verdes e maduros:

Os frutos verdes apresentaram os menores valores de AACPDs diária. Referente a este estágio de maturação, em 2023, a maior severidade foi observada na cultivar Manzanilla. 'Arbequina' e 'Frantoio' apresentaram os menores valores de AACPDs e não diferiram estatisticamente entre si, enquanto 'Picual' apresentou um valor intermediário em relação às outras cultivares. Em 2024, 'Arbequina' apresentou a maior AACPDs, sendo significativamente diferente de 'Picual' e 'Frantoio'. 'Manzanilla' diferenciou-se apenas de 'Frantoio', que teve a menor AACPDs, significativamente diferente de 'Arbequina' e 'Manzanilla'.

Os frutos maduros registraram os maiores valores diários de AACPDs. No entanto, em ambos os anos (2023 e 2024), as cultivares apresentaram valores semelhantes e não houve diferença estatística entre elas.

- Avaliação intravarietal entre os estádios de maturação, verde e maduro:

Em 2023, apenas para a cultivar Manzanilla, AACPDs foi similar nos estádios verde e maduro, sem diferenças significativas. Para as demais cultivares, os valores de AACPDs diferiram entre os dois estádios de maturação, sendo significativamente maiores no estágio maduro em comparação aos valores obtidos para os frutos verdes.

Em 2024, todas as cultivares apresentaram valores estatisticamente diferentes entre os dois estádios de maturação.

Tabela 2: Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPDs) estimadas com base na escala de severidade da antracnose (0 - 4) desenvolvida nos frutos de quatro cultivares de oliveira nos tratamentos controle e inoculadas com *C. acutatum*, nos estádios fenológicos verde e maduro, avaliados nos anos de 2023 e 2024.

Cultivar	2023		2024	
	Verde	Maduro	Verde	Maduro
Manzanilla	2,15 ± 0,09 ^{aC}	2,15 ± 0,14 ^{aA}	1,53 ± 0,16 ^{aBC}	2,57 ± 0,13 ^{bA}
Picual	1,07 ± 0,14 ^{aB}	2,58 ± 0,21 ^{bA}	0,92 ± 0,16 ^{aAB}	2,46 ± 0,12 ^{bA}
Arbequina	0,44 ± 0,13 ^{aA}	2,32 ± 0,16 ^{bA}	1,82 ± 0,17 ^{aC}	2,56 ± 0,16 ^{bA}
Frantoio	0,16 ± 0,06 ^{aA}	2,00 ± 0,09 ^{bA}	0,38 ± 0,18 ^{aA}	2,13 ± 0,21 ^{bA}
P	p<0,0001			
CV (%)	36,89			

Fonte: elaborado pela autora, 2024. Letras diferentes na mesma linha ou coluna indicam diferenças estatísticas geradas pelo Teste de Tukey a 5%. Média ± desvio padrão. As letras maiúsculas (A, B e C na coluna) indicam diferença entre as cultivares em cada estágio de maturação de cada ano. As letras minúsculas (a e b na linha) indicam diferença dentro de cada cultivar entre os estádios de maturação dos frutos em cada ano de avaliação.

A seguir, são apresentados os valores de incidência e severidade da doença para os diferentes tratamentos. Esses valores variaram durante as avaliações e mostraram progresso ao longo dos 15 dias após a inoculação, dependendo da cultivar e do tempo.

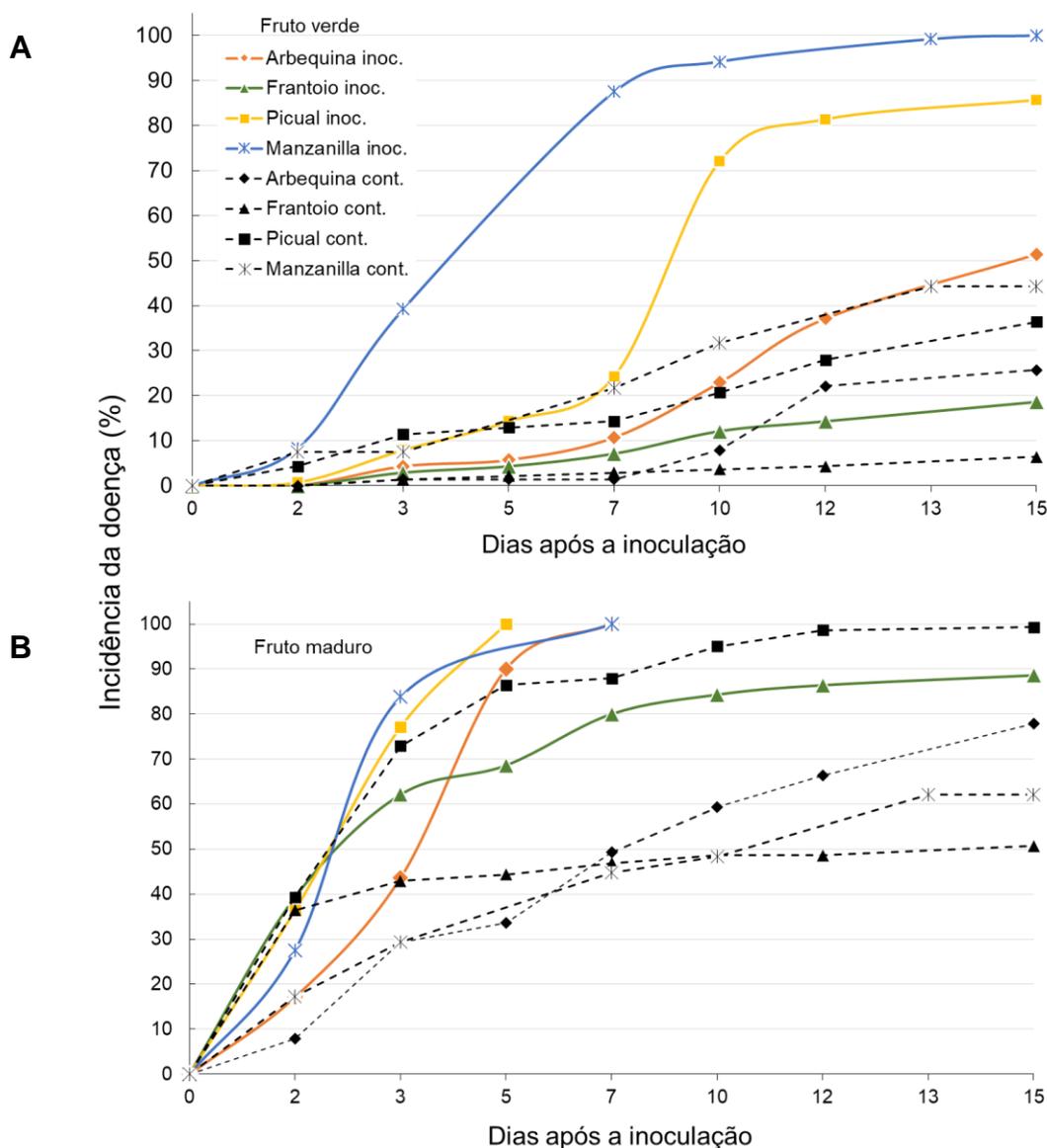
Alguns frutos controle, que não foram inoculados com o fungo, também desenvolveram a doença. Isso pode ter ocorrido devido a infecções naturais ocorridas no campo por *Colletotrichum* spp. durante a floração e frutificação, que permanecem latentes até o amadurecimento dos frutos (Moral; De Oliveira; Trapero, 2009; Talhinhos; Loureiro; Oliveira, 2018) ou quando encontra condições favoráveis de desenvolvimento.

A incidência da doença foi monitorada ao longo dos 15 dias, considerando a proporção de frutos com sintomas em relação ao total de frutos avaliados durante a incubação. A incidência de frutos infectados variou entre as cultivares e foi maior em frutos maduros. Os primeiros sintomas da doença foram observados aos 2 dias pós-inoculação (dpi) em ambos os estádios de maturação e em ambos os anos de avaliação (Figuras 24 e 25).

Em 2023, a maior incidência da doença nos frutos verdes foi registrada na cultivar 'Manzanilla', com 94% dos frutos infectados aos 10 dpi. A cultivar 'Picual' seguiu com 72% de frutos infectados no mesmo período. Ao final do ciclo, a incidência atingiu 51% para 'Arbequina' e 18% para 'Frantoio' (Figura 24 A). Nos frutos maduros, a incidência progrediu rapidamente, atingindo 100% aos 5 dias dpi para a cultivar Picual e aos 7 dpi para as cultivares Arbequina e Manzanilla. A cultivar Frantoio não ultrapassou 90% de incidência aos 15 dpi (Figura 24 B).

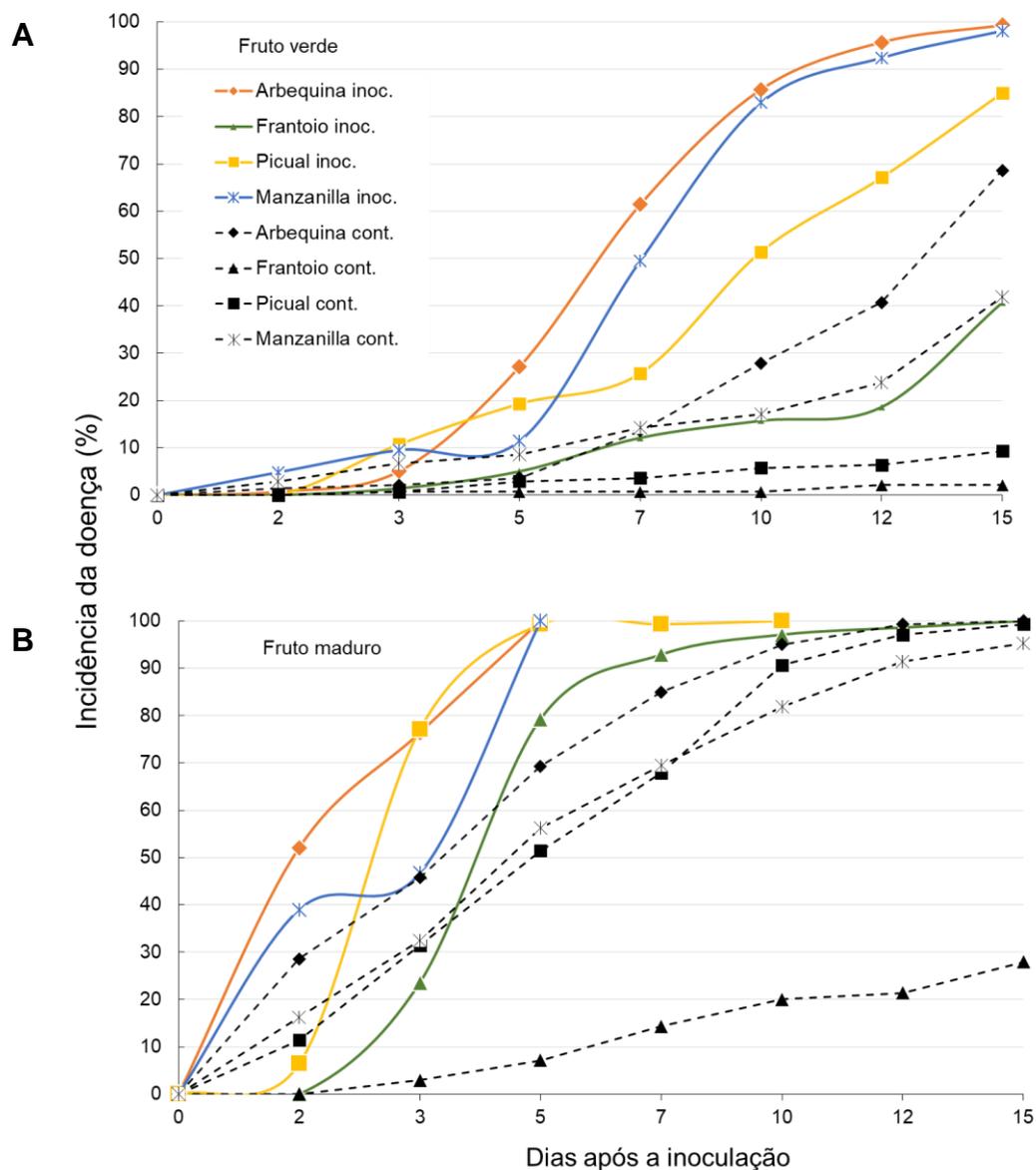
Em 2024, os frutos verdes das cultivares Arbequina e Manzanilla apresentaram as maiores incidências de infecção, com mais de 92% aos 12 dpi. No mesmo período, a cultivar Picual atingiu 67%, enquanto a cultivar Frantoio não ultrapassou 19% (Figura 25 A). Nos frutos maduros, a incidência progrediu mais rapidamente nas cultivares Arbequina e Manzanilla, com 100% dos frutos infectados aos 5 dpi. A cultivar Picual apresentou 100% de incidência aos 10 dpi, enquanto a 'Frantoio' se aproximou dos 100% ao final do ciclo, 15 dpi (Figura 25 B)."

Figura 24 – Incidência da doença (%) causada por *Colletotrichum acutatum* em azeitonas das cultivares Arbequina, Frantoio, Picual e Manzanilla, em condições controladas nos tratamentos inoculado e controle (sem inoculação), nos estádios fenológicos verdes e maduros ao final de 15 dias de inoculação em 2023. A: Frutos verdes; B: Frutos maduros. Os valores de incidência foram utilizados para calcular os índices expressos em porcentagem (%) de frutos infectados.



Fonte: elaborado pela autora, 2024.

Figura 25 – Incidência da doença (%) causada por *Colletotrichum acutatum* em azeitonas das cultivares Arbequina, Frantoio, Picual e Manzanilla, em condições controladas nos tratamentos inoculado e controle (sem inoculação), nos estádios fenológicos verdes e maduros ao final de 15 dias de inoculação em 2024. A: Frutos verdes; B: Frutos maduros. Os valores de incidência foram utilizados para calcular os índices expressos em porcentagem (%) de frutos infectados.



Fonte: elaborado pela autora, 2024.

A severidade da doença foi monitorada e avaliada com base na escala de 0 a 4, adaptada de Leoni *et al.* (2018), durante o período de incubação dos frutos. Os primeiros sintomas da doença foram observados aos 2 dpi, predominantemente em frutos maduros.

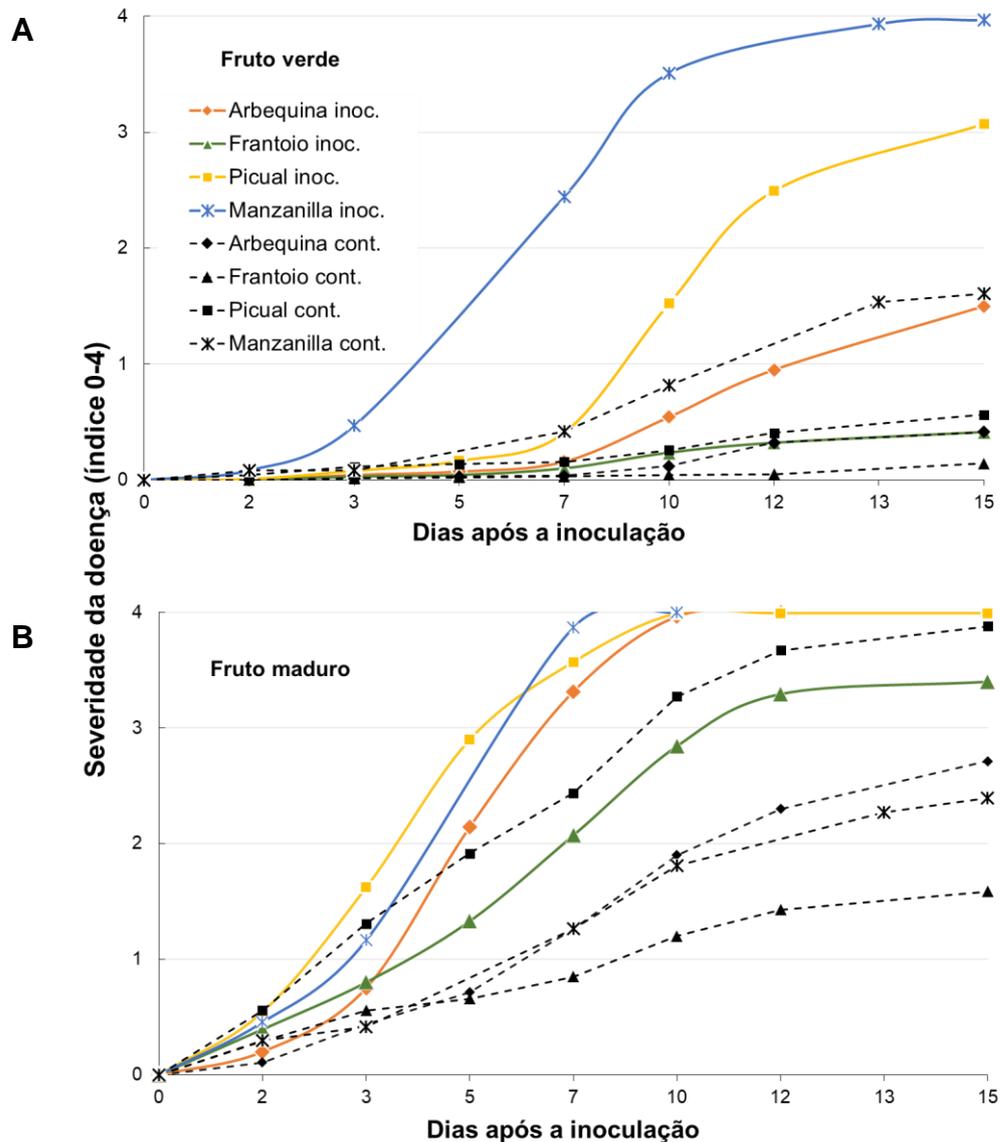
Em 2023, as cultivares Manzanilla e Picual apresentaram os maiores valores de severidade em ambos os estádios de maturação. Nos frutos verdes, a infecção na 'Manzanilla' alcançou um índice de severidade de 2,5 aos 7 dpi.

Aos 15 dpi, essas mesmas cultivares registraram valores de severidade de aproximadamente 3 e 4, respectivamente. No mesmo período, as demais cultivares não ultrapassaram a escala de 1,5, indicando menor gravidade da doença. A cultivar Frantoio apresentou os menores valores durante todo o período (Figura 26 A).

Nos frutos maduros, a gravidade da doença foi mais intensa e a evolução ocorreu mais rapidamente em comparação com os frutos verdes. A podridão completa dos frutos demorou 10 dpi na cultivar Manzanilla e 12 dpi na cultivar Arbequina. A cultivar Picual continuou a evoluir até os 15 dpi, atingindo uma escala de 3,93, próxima ao limite máximo, enquanto a cultivar Frantoio não ultrapassou a escala de 3,4 (Figura 26 B).

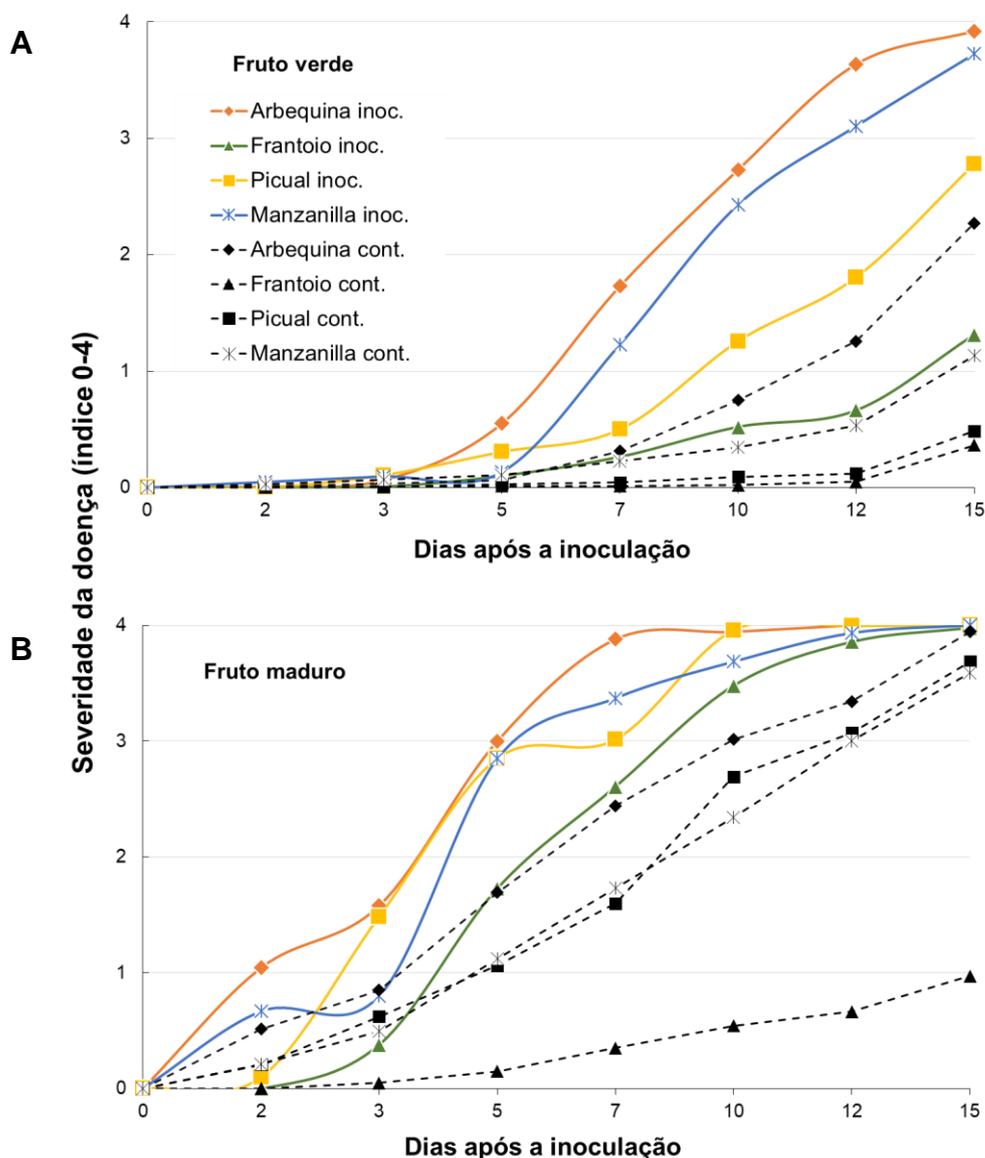
Em 2024, os frutos verdes das cultivares Arbequina e Manzanilla apresentaram os maiores valores de severidade entre todas as cultivares, com valores acima de 3,7 aos 15 dpi. No mesmo período, 'Picual' e 'Frantoio' atingiram valores de severidade de 2,7 e 1,3, respectivamente (Figura 27 A). Neste mesmo ano, os frutos maduros apresentaram maiores valores de severidade. Aos 5 dpi, as cultivares Arbequina, Picual e Manzanilla registraram uma escala de severidade de aproximadamente 3, enquanto 'Frantoio' apresentou 1,6 no mesmo período. Aos 12 dpi, a severidade foi superior a 3,7 para todas as cultivares (Figura 27 B).

Figura 26 – Severidade da doença em azeitonas das cultivares Arbequina, Frantoio, Picual e Manzanilla, inoculadas com o isolado N°81 de *Colletotrichum acutatum* e frutos controle (sem inoculação), nos estádios fenológicos verdes e maduros ao final de 15 dias de inoculação em 2023. A: Frutos verdes; B: Frutos maduros. Os valores de severidade da infecção correspondente à escala de 0 (frutos sem sintomas) a 4 (100% da superfície do fruto apodrecida), adaptada de Leoni *et al.*, (2018). A gravidade registrada nos tratamentos controle pode ser atribuída à infecção de campo por *Colletotrichum* spp.



Fonte: elaborado pela autora, 2023.

Figura 27 – Severidade da doença em azeitonas das cultivares Arbequina, Frantoio, Picual e Manzanilla, inoculadas com o isolado N°81 de *Colletotrichum acutatum* e frutos controle (sem inoculação), nos estádios fenológicos verdes e maduros ao final de 15 dias de inoculação em 2024. A: Frutos verdes; B: Frutos maduros. Os valores de severidade da infecção correspondente à escala de 0 (frutos sem sintomas) a 4 (100% da superfície do fruto apodrecida), adaptada de Leoni *et al.*, (2018). A gravidade registrada nos tratamentos controle pode ser atribuída à infecção de campo por *Colletotrichum* spp.

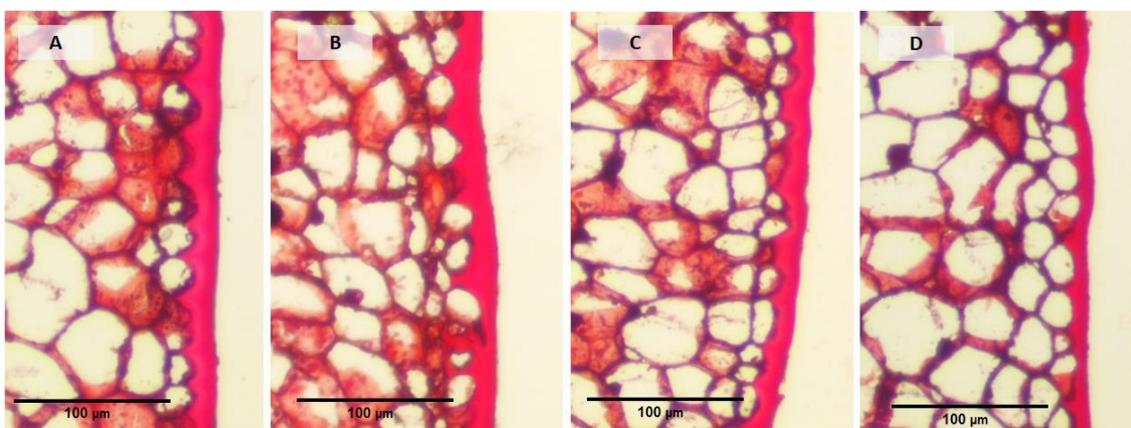


Fonte: elaborado pela autora, 2024.

5.2 Espessura da cutícula

A espessura média da cutícula das cultivares de oliveira (Arbequina, Picual, Frantoio, Manzanilla) foi analisada em dois estádios de maturação (verde e maduro) durante os anos de 2023 e 2024. As medições da cutícula foram realizadas através de imagens obtidas por microscopia ótica. O corte transversal permite identificar a cutícula, de forma contínua e proeminente, em contato com as células epidérmicas (Figura 28).

Figura 28 - Microscopia ótica da cutícula dos frutos das quatro cultivares de oliveira, apresentadas em ordem decrescente de espessura no estágio de maturação verde. A: 'Arbequina'; B: 'Picual'; C: 'Frantoio'; D: 'Manzanilla'.



Fonte: acervo pessoal, 2024.

Pela Tabela 3 verifica-se os valores médios da espessura da cutícula para as cultivares estudadas. Por meio dos dados observa-se diferenças significativas entre os anos de 2023 e 2024, bem como entre as diferentes cultivares e estádios de maturação. Além disso, observou-se uma redução significativa na espessura da cutícula em 2024 para todos os parâmetros avaliados.

Tabela 3 - Espessura média da cutícula (μm) das cultivares de oliveira (Arbequina, Frantoio, Manzanilla e Picual) avaliadas entre os anos 2023 e 2024, entre cultivares e entre maturação. INIA - Las Brujas - Uruguai.

		Espessura da cutícula (μm)
Ano	2023	15,98 \pm 0,64 ^b
	2024	14,74 \pm 0,61 ^a
Cultivar	Arbequina	18,62 \pm 0,48 ^c
	Picual	18,15 \pm 0,46 ^c
	Frantoio	12,65 \pm 0,37 ^b
	Manzanilla	12,03 \pm 0,36 ^a
Maturação	Verde	15,83 \pm 0,65 ^b
	Maduro	14,80 \pm 0,61 ^a
p - valor	<0,0001	

Fonte: elaborada pela autora, 2024. Médias separadas por letras iguais indicam ausência de diferença significativa geradas pelo Teste de Tukey ($p < 5\%$).

As medições variaram entre as cultivares, anos e estádios de maturação (Tabela 4). Nos frutos verdes, as cultivares Arbequina e Picual apresentaram diferenças significativas em relação à 'Frantoio' e 'Manzanilla' em ambos os anos. Para os frutos maduros, a tendência se manteve, exceto para as cultivares Frantoio e Manzanilla, que, em 2023, mostraram diferenças estatísticas significativas entre si. Além disso, foram observadas variações significativas entre os estádios de maturação (verde e maduro) nas cultivares Manzanilla (em 2023 e 2024) e Arbequina (em 2024). Para as demais cultivares, não foram registradas diferenças significativas nesse parâmetro.

Tabela 4 - Espessura média da cutícula (μm) das cultivares de oliveira (Arbequina, Frantoio, Manzanilla e Picual) entre os dois estádios de maturação (verde e maduro) avaliadas nos anos 2023 e 2024 - INIA - Las Brujas - Uruguai.

Cultivares	2023		2024	
	Verde	Maduro	Verde	Maduro
Arbequina	20,38 \pm 1,17 ^{aB}	18,95 \pm 0,92 ^{aC}	18,17 \pm 0,82 ^{bB}	17,49 \pm 0,63 ^{aB}
Picual	18,88 \pm 0,81 ^{aB}	18,42 \pm 0,53 ^{aC}	18,08 \pm 0,74 ^{aB}	17,28 \pm 1,38 ^{aB}
Frantoio	13,52 \pm 0,85 ^{aA}	13,16 \pm 0,48 ^{aB}	12,16 \pm 0,88 ^{aA}	11,99 \pm 0,70 ^{aA}
Manzanilla	13,38 \pm 0,47 ^{bA}	12,34 \pm 0,43 ^{aA}	12,02 \pm 0,74 ^{bA}	10,73 \pm 0,60 ^{aA}

Fonte: elaborada pela autora, 2024. Letras iguais na mesma linha ou coluna indicam ausência de diferença significativa geradas pelo Teste de Tukey a 5%. Letras maiúsculas (coluna) indicam diferença intervarietal em cada estágio de maturação. Letras minúsculas (linha) indicam diferença intravarietal entre os estádios de maturação.

5.3 Compostos fenólicos totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada nos frutos das quatro cultivares de oliveira (Arbequina, Frantoio, Manzanilla e Picual) para identificar possíveis relações entre a concentração desses metabólitos secundários e a suscetibilidade das azeitonas à antracnose.

Na Figura 29 observa-se a avaliação intravarietal, em cada estágio de maturação, apenas a cultivar Manzanilla apresentou diferenças significativas nos frutos verdes em 2023. As demais cultivares não mostraram diferenças significativas entre os estádios de maturação e nos dois anos avaliados. Além disso, a barra cinza tracejada, que representa os frutos maduros da cultivar Picual em 2024, indica a indisponibilidade de frutos com sanidade adequada para avaliação nesse estágio de maturação.

Figura 29 – Valores médios de concentração de compostos fenólicos totais (mgAG/kg peso fresco equivalentes de ácido gálico) obtidos no laboratório INIA - Las Brujas - Uruguai. Avaliação intravarietal das quatro cultivares (Arbequina, Frantoio, Manzanilla e Picual), entre os estádios verde e maduro e em 2023 e 2024.



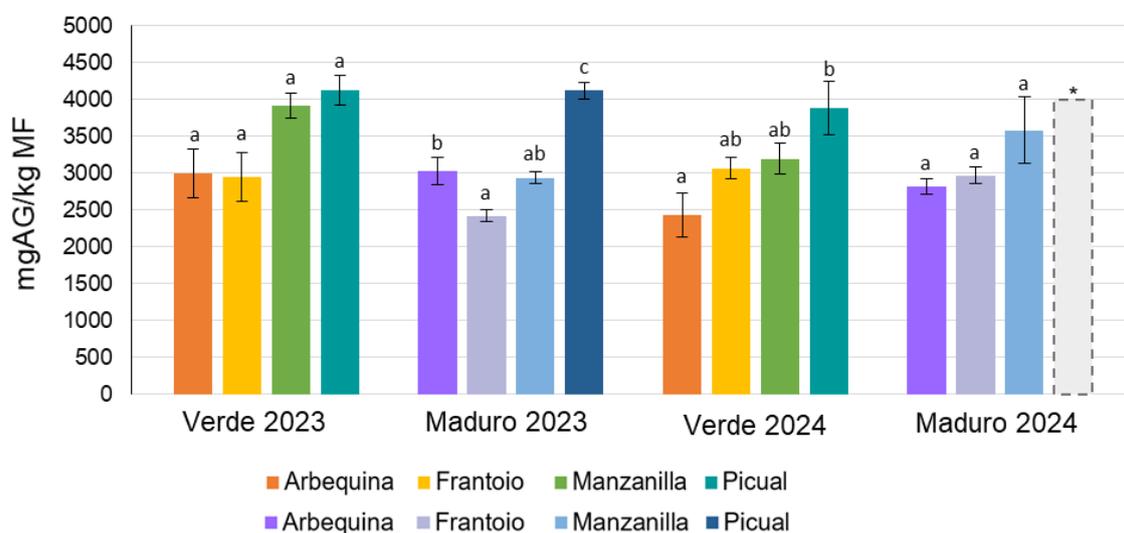
Fonte: elaborado pela autora, 2024. Barras verticais: desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais indicam ausência de diferença significativa $p > 0,05$. Teste de Tukey a 5%. *Barra cinza tracejada, indica ausência de fruto da cultivar Picual no ano e maturação correspondentes. Dados representados em massa fresca (MF).

Na Figura 30 encontram-se as diferenças nas médias de concentração de compostos fenólicos totais entre as cultivares de oliveira, categorizadas por estágio de maturação e ano. Os valores indicam variações significativas entre as diferentes cultivares.

Em 2023, apenas os frutos maduros mostraram diferenças significativas na concentração de compostos fenólicos totais entre as cultivares. A cultivar Picual apresentou o maior valor, com 4118,00 mg AG/kg MF, significativamente superior às demais. As cultivares Arbequina e Frantoio apresentaram concentrações de 3022,75 mg AG/kg MF e 2417,25 mg AG/kg MF, respectivamente, com uma diferença significativa entre elas. A concentração da cultivar Manzanilla foi de 2937,75 mg AG/kg MF, com diferença significativa apenas em relação à cultivar Picual.

Em 2024, as diferenças significativas foram observadas apenas na maturação verde. A cultivar Picual destacou-se novamente com o maior valor, registrando 3886,26 mgAG/kgMF, significativamente superior à cultivar Arbequina, que apresentou 2429,48 mgAG/kgMF. As cultivares Frantoio e Manzanilla, com concentrações de 3066,63 mg AG/kg MF e 3196,50 mg AG/kg MF, respectivamente, mostraram variações significativas apenas em relação à cultivar Picual.

Figura 30 – Valores médios de concentração de fenóis totais (mgAG/kg peso fresco equivalentes de ácido gálico) obtidos no laboratório INIA - Las Brujas – Uruguai, em azeitonas das quatro cultivares de oliveira, nos tratamentos verde e maduro e nos anos 2023 e 2024.



Fonte: elaborado pela autora, 2024. Barras verticais: desvio padrão da média. Médias seguidas de letras iguais indicam ausência de diferença significativa $p > 0,05$ pelo Teste de Tukey a 5%. *Barra cinza tracejada, indica ausência de fruto da cultivar Picual no ano e maturação correspondentes. Dados representados em massa fresca (MF).

6 Discussão

6.1 Gravidade da doença e suscetibilidade das cultivares

A olivicultura enfrenta grandes desafios que abrangem desde a fase de implantação até a produção e colheita das oliveiras. Os prejuízos causados por pragas e doenças são significativos, tornando essencial a compreensão dos mecanismos de defesa das plantas e das ferramentas disponíveis para combatê-las. Este estudo avaliou a gravidade da antracnose, causada pela espécie *C. acutatum*, através da incidência e severidade da doença em frutos de quatro cultivares de oliveira, Arbequina, Picual Frantoio e Manzanilla, em dois estádios de maturação (verde e maduro), utilizando inoculação artificial em ambiente controlado. Com base nos resultados obtidos e descritos, todas as variáveis analisadas foram correlacionadas na matriz de correlação de Pearson (Tabela 5).

Tabela 5 – Correlação entre a AACPDs diária em relação à espessura da cutícula, compostos fenólicos totais e incidência da doença.

	Parâmetro de teste de Pearson	
	r	p - valor
AACPDs + Espessuras	-0,04	0,6505
AACPDs + Fenóis Totais	-0,07	0,4994
AACPDs + Incidências (%)	0,89	<0,0001

Fonte: elaborada pela autora, 2024. AACPDs: Áreas abaixo da curva de progresso da doença. r: Coeficiente de correlação. p-valor: Valor de probabilidade

Encontrou-se uma correlação positiva significativa ($r=0,89$) entre a AACPDs e a incidência da doença (Tabela 5). Ambientes com alta porcentagem de incidência da infecção podem favorecer condições elevadas de severidade, como observada neste estudo (Figuras 24 e 25). Os resultados deste trabalho são consistentes com pesquisas anteriores, que observaram maior severidade e incidência da doença em frutos maduros quando comparados aos frutos verdes (Miho *et al.*, 2024; Moral; De Oliveira; Trapero, 2009; Moreira *et al.*, 2023; Riolo *et al.*, 2023). Incidências elevadas de antracnose podem causar danos em distintos estádios fenológicos da cultura, como na floração, reduzindo a taxa de frutificação (Cacciola *et al.*, 2012) e nos frutos já desenvolvidos, que podem

acarretar em um aumento na acidez e a desclassificação de azeites extra virgens (Leoni *et al.*, 2018).

Observou-se também que o tempo de aparecimento dos primeiros sintomas distinguiu entre as maturações. Nos frutos verdes, os primeiros sintomas típicos foram observados mais tardiamente, entre 3 e 5 dpi para todas as cultivares em ambos os anos, exceto para 'Manzanilla' em 2023, que apresentou os primeiros sintomas aos 3 dpi. Nos frutos maduros, os primeiros sintomas foram visivelmente mais precoces, ocorrendo aos 2 dpi (Figuras 26 e 27). Resultados semelhantes, em frutos inoculados com *Colletotrichum*, foram relatados por Moral, Bouhmidi e Trapero (2008), que observaram sintomas em 4 dpi, e por Moreira *et al.* (2023), que relataram sintomas entre 1 e 5 dpi.

Embora nenhuma das cultivares, no estágio verde, tenha demonstrado total resistência ao patógeno, a severidade da doença variou entre os genótipos, indicando diferentes níveis de suscetibilidade, o que estaria de acordo com resultados anteriormente reportados (Moral; Trapero, 2009). Outros estudos também relataram que tanto a gravidade da doença quanto a incidência podem variar temporal e geograficamente (Talhinhas *et al.*, 2011). Este fato possivelmente está relacionado às condições naturais de campo, como a incidência recorrente de antracnose, densidade de plantio, manejo e tratamentos culturais, além de fatores climáticos.

Os níveis de suscetibilidade dos frutos verdes variaram entre os dois anos para as cultivares 'Picual' e 'Arbequina', que oscilaram entre suscetíveis e moderadamente suscetíveis. A cultivar 'Frantoio' permaneceu resistente em ambos os anos, enquanto 'Manzanilla' se manteve como a mais suscetível nas duas avaliações. Esses resultados contradizem parcialmente outros estudos, nos quais 'Arbequina' e 'Frantoio' foram consideradas suscetíveis (Moreira *et al.*, 2023), e 'Picual' foi considerada resistente (Gomes *et al.*, 2012; Moreira *et al.*, 2023). Entretanto, outros estudos semelhantes se alinham aos resultados deste trabalho, reportando 'Frantoio' como a menos suscetível, 'Arbequina' e 'Picual' como moderadamente suscetíveis, e 'Manzanilla' como a cultivar mais suscetível a *C. acutatum* (Moral *et al.*, 2014, 2017; Moral; Trapero, 2009; Riolo *et al.*, 2023; Talhinhas *et al.*, 2015).

Os frutos maduros mostraram maior suscetibilidade ao patógeno, porém, diferentemente dos frutos verdes, não apresentaram diferenças significativas

entre as cultivares avaliadas (Tabela 2). Resultados semelhantes foram reportados por (Moreira *et al.*, 2023) ao avaliar diversas cultivares de oliveira, incluindo 'Frantoio', 'Arbequina' e 'Picual', em que todas apresentaram alta suscetibilidade à antracnose em frutos maduros. Outros estudos corroboram com essa observação, indicando semelhança entre os frutos maduros na suscetibilidade ao *Colletotrichum* (Moral; Trapero, 2009; Moreira *et al.*, 2023; Riolo *et al.*, 2023).

Os frutos podem ser infectados por *Colletotrichum* em diferentes estádios de maturação, no entanto, com o avanço da maturação aumenta também a suscetibilidade, independentemente da cultivar (Chattaoui *et al.*, 2016; Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008; Moral *et al.*, 2017; Moral; De Oliveira; Trapero, 2009; Sergeeva, 2014). Por outro lado, frutos imaturos apresentam maior imunidade a *Colletotrichum* sp., independentemente da cultivar (Cacciola *et al.*, 2012; Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008; Moral; Trapero, 2012). Outros autores relataram que a maior suscetibilidade dos frutos maduros, pode estar envolvida com a redução dos compostos fenólicos que ocorre nesta fase (Moral; Trapero, 2009).

Além disso, a suscetibilidade dos frutos maduros está correlacionada com a dos frutos verdes (Riolo *et al.*, 2023). Isso sugere que a suscetibilidade observada nas azeitonas verdes poderia indicar a suscetibilidade futura à medida que os frutos amadurecem. No entanto, ao observar os resultados deste estudo, seria possível considerar que a maturação dos frutos foi um fator dominante que igualou a suscetibilidade entre as cultivares no estágio maduro. Esta observação foi descrita por outros autores, ao relatarem que quando os frutos amadurecem, todas as cultivares se tornam igualmente vulneráveis a níveis severos da doença, independentemente da suscetibilidade observada durante os estágios iniciais de desenvolvimento (Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008). Há relatos, que esporos de espécies de *Colletotrichum* desenvolveram mecanismos para usar o hormônio da maturação dos hospedeiros como um sinal para iniciar a germinação, formação de estruturas de penetração e processo de colonização (Flaishman; Kolattukudy, 1994).

6.2 Espessura da cutícula como mecanismo de defesa biofísico

Nos últimos anos, pesquisas sobre o ciclo de vida e a ação de doenças fúngicas causadas por espécies de *Colletotrichum* sp. têm crescido, bem como estudos sobre métodos de supressão e ações preventivas. O seu ataque é similar ao de outros fungos, começando com a adesão e germinação dos esporos na superfície do hospedeiro, seguida pela formação de estruturas que penetram a cutícula do fruto, levando à infecção quiescente (Agosteo *et al.*, 2015). Durante essa fase, a infecção permanece latente até o amadurecimento do fruto, momento em que ocorre a colonização ativa dos tecidos, resultando no desenvolvimento da doença (Cacciola *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2009).

Naturalmente no campo, o ataque fúngico pode ser influenciado pela cultivar ou pela maturação dos frutos (Gomes *et al.*, 2012; Moral; Bouhmidi; Trapero, 2008), sendo que algumas diferenças relacionadas à espessura da cutícula, e outras partes do epicarpo podem estar positivamente associadas com a suscetibilidade das cultivares (Gomes *et al.*, 2012). Assim, a espessura da cutícula pode corresponder a uma importante variável nas interações planta-patógeno.

Neste estudo avaliou-se a espessura da cutícula dos frutos das quatro cultivares, Arbequina, Picual, Frantoio e Manzanilla, afim de compreender o seu papel protetivo na defesa contra a antracnose causada por *C. acutatum*. Os resultados de espessura da cutícula dos frutos mostram diferenças consideráveis entre as cultivares e estágio de maturação, o que, em geral, corresponde às descobertas reportadas em estudos anteriores (Goldental-Cohen *et al.*, 2019; Gomes *et al.*, 2012; Hammami; Rapoport, 2012; Jiménez *et al.*, 2017). Entre as quatro cultivares estudadas, 'Arbequina' e 'Manzanilla' apresentaram redução significativa na espessura da cutícula no estágio maduro. Em estudos anteriores, os autores sugerem que a variação na espessura da cutícula pode ocorrer de forma intraespecífica, tanto entre diferentes estádios de maturação quanto ao longo do tempo (Diarte *et al.*, 2019; Gomes *et al.*, 2012; Lanza; Di Serio, 2015).

Entretanto, a análise de correlação (Tabela 5) não indicou uma relação significativa entre a espessura da cutícula e a suscetibilidade dos frutos. As cultivares com cutícula mais delgada, como 'Frantoio' e 'Manzanilla', foram

classificadas como resistente e suscetível, respectivamente. Por outro lado, 'Arbequina' e 'Picual', que apresentaram cutículas mais espessas, demonstraram níveis variados de suscetibilidade, sendo moderadamente suscetível e suscetível. Estes resultados apresentam algumas discrepâncias com outros estudos. Por exemplo, frutos de azeitona resistentes apresentaram espessura de cutícula significativamente maior, sugerindo que a cutícula mais espessa pode atuar como barreira física eficaz contra a penetração do fungo (Gomes *et al.*, 2012). Estudos anteriores mostram que a cultivar 'Picual' apresentou espessura de cutícula semelhante à observada neste estudo (18,15 μm), mas foi classificada como resistente ao *C. acutatum*. (Gomes *et al.*, 2012). Isso indica que, apesar da espessura similar da cutícula, a resistência à infecção pode depender de outros fatores ou mecanismos adicionais, como a proporção dos componentes da cutícula, a composição fenólica, fatores nutricionais ou genéticos. Em tomates, a maior espessura da cutícula foi associada a uma menor suscetibilidade à antracnose (Orsi *et al.*, 2023). No entanto, em pimentões, a espessura da cutícula não mostrou correlação com a resistência à antracnose (Mongkolporn *et al.*, 2022).

Contudo, a interação entre a espessura da cutícula das azeitonas e *Colletotrichum* sp., assim como sua função protetiva contra a antracnose, tem sido pouco investigada. Pesquisas adicionais são necessárias para compreender melhor como essa característica anatômica contribui para a resistência ou suscetibilidade das azeitonas à doença.

6.3 Compostos fenólicos como mecanismo de defesa bioquímico

Os compostos fenólicos são antioxidantes naturais (Leoni *et al.*, 2018) e, assim como em outras interações planta-patógeno, podem atuar na resistência dos frutos à antracnose (Loureiro *et al.*, 2012; Mikulic-Petkovsek *et al.*, 2013; Moral *et al.*, 2014). Assim, esta etapa do estudo concentrou-se na avaliação da relação entre o teor fenólico total dos frutos e sua suscetibilidade ao *C. acutatum*, com o objetivo de estabelecer um paralelo entre essas interações.

Para isso, foram comparados os teores médios de fenóis totais das quatro cultivares: 'Frantoio' (resistente), 'Arbequina' e 'Picual' (moderadamente suscetíveis), e 'Manzanilla' (suscetível) em dois estádios de maturação. A

condição de declínio da composição fenólica total nos frutos maduros, foi observada apenas para a cultivar 'Manzanilla' no primeiro ano de avaliação (2023). Essa diferença, possivelmente, estaria relacionada à época de coleta dos frutos, já que esta cultivar apresentou precocidade de maturação e foi coletada antes das demais cultivares, pela disponibilidade de frutos. Os resultados observados para esta cultivar, são consistentes aos de outras pesquisas, ao afirmarem que geralmente, a concentração dos compostos fenólicos tendem a reduzir quando a maturação dos frutos avança (Gomes *et al.*, 2012, 2009; Leoni *et al.*, 2018; Miho *et al.*, 2024; Moral; Trapero, 2009; Talhaoui *et al.*, 2015).

Contrariamente, as demais cultivares, Arbequina, Picual e Frantoio, não diferiram significativamente os frutos verdes dos maduros em ambos os anos avaliados. Algumas cultivares, em distintos estádios de maturação, podem manter concentrações mais elevadas de compostos fenólicos (Peres *et al.*, 2016). Estudos anteriores relatam que os teores totais destes compostos estão relacionados diretamente com cada cultivar, assim, genótipos de maturação precoce tendem a obter menor conteúdo de compostos fenólicos na fase final de maturação dos frutos (Amiot; Fleuriet; Macheix, 1986; Gomes *et al.*, 2012; Gouvinhas *et al.*, 2019; Nieto; Hodaifa; Peña, 2010). Os valores desses compostos variam, alcançando níveis máximos em estádios de maturação intermediários (IM = 3-4), e diminuem à medida que os frutos atingem o estágio maduro mais avançado (Amiot; Fleuriet; Macheix, 1986). Isso sugere que os frutos no estágio maduro deste estudo poderiam corresponder predominantemente ao IM 4. Algumas possíveis explicações para a similaridade nos teores fenólicos entre as fases de maturação podem incluir um equilíbrio dos compostos fenólicos totais nos dois estádios, considerando o período de coleta. Tanto os frutos verdes quanto os maduros foram coletados das mesmas plantas e no mesmo dia, o que pode ter contribuído para essa homogeneidade. Um estudo detalhado de oliveiras australianas encontrou similaridade nos perfis de compostos fenólicos entre azeitonas verdes e maduras, sugerindo um equilíbrio entre os estágios de maturação (Ali *et al.*, 2023).

Foram observadas diferenças significativas nas concentrações totais de compostos fenólicos entre as cultivares. Resultados semelhantes também foram encontrados por outros autores, que relataram diferenças significativas nos teores de compostos fenólicos em diferentes cultivares de oliveira (Miho *et al.*,

2024; Talhaoui *et al.*, 2015). As cultivares Arbequina e Frantoio apresentaram as menores concentrações, 2817,86 mgAG/kg MF e 2817,86 mgAG/kg MF, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores para a cultivar Arbequina, que também obteve níveis mais baixos de compostos fenólicos (Meftah; Boughdad; Bouchelta, 2014; Talhaoui *et al.*, 2016). As cultivares Manzanilla e Picual obtiveram as maiores concentrações de fenóis, conforme observado por outros autores para 'Picual' (Talhaoui *et al.*, 2016).

Embora fossem observadas diferenças nos teores de compostos fenólicos totais entre as cultivares, e maior severidade da doença nos frutos maduros, este estudo não encontrou correlação entre esses compostos e a suscetibilidade das cultivares (Tabela 5). As cultivares 'Frantoio' e 'Arbequina', que apresentaram os menores teores de compostos fenólicos, foram classificadas como resistente e moderadamente suscetível, respectivamente. Por outro lado, 'Picual' e 'Manzanilla', que apresentaram os maiores teores, foram classificadas como suscetível e moderadamente suscetível, respectivamente. Curiosamente, a concentração fenólica total das cultivares parece não ter influenciado os efeitos causados pelo patógeno, sugerindo que outros fatores podem ser responsáveis pela resistência ou suscetibilidade observada.

Estes resultados contrastam com estudos anteriores, que associam a suscetibilidade dos frutos à perda de mecanismos de resistência do hospedeiro (Moral; Trapero, 2009), como alterações substanciais nos compostos fenólicos da azeitona (Cecchi *et al.*, 2015) que podem aumentar a vulnerabilidade dos frutos ao patógeno (Moral *et al.*, 2017). Entretanto, outros autores sugerem que a resistência atribuída aos compostos fenólicos está relacionada ao tipo e à estrutura dos compostos prevalentes, como a oleuropeína e o ligstrosídeo que são predominantes em frutos verdes de todas as cultivares e permanecem dominantes (correspondendo a >90% dos fenóis totais) durante o amadurecimento, principalmente nas cultivares resistentes (Miho *et al.*, 2024). Tais compostos podem ter maior expressividade em genótipos específicos e contribuir de forma mais eficaz contra o patógeno (Miho *et al.*, 2024).

Um estudo bioquímico preliminar com cultivares de oliveira revelou que as variações nos compostos fenólicos totais não estão relacionadas aos diferentes níveis de tolerância das cultivares (Gomes *et al.*, 2009). Outros autores apontaram que é necessário definir a atuação das vias metabólicas

envolvidas na síntese de fenóis individuais na vulnerabilidade da azeitona ao patógeno (Miho *et al.*, 2024). No entanto, parece haver outros mecanismos envolvidos na interação patossistema que transcendem a quantificação dos compostos fenólicos totais. Esses resultados sugerem que, embora os compostos fenólicos desempenhem um papel na defesa da planta, sua concentração total por si só pode não ser um indicador definitivo de suscetibilidade a patógenos. Isso pode ser devido ao envolvimento de outras vias bioquímicas ou compostos fenólicos específicos que podem ter efeitos mais significativos.

7 Conclusões

Entre as cultivares avaliadas no estágio de maturação verde, 'Frantoio' demonstrou ser a menos suscetível à antracnose, enquanto 'Manzanilla' foi a mais suscetível. 'Arbequina' e 'Picual' apresentaram suscetibilidade moderada.

No estágio de fruto maduro, a doença foi mais severa, sem diferenças significativas entre as cultivares avaliadas.

A espessura da cutícula não evidenciou um mecanismo de defesa biofísico relevante para influenciar a suscetibilidade dos frutos em nenhuma das cultivares.

O teor de compostos fenólicos totais nos frutos das cultivares estudadas não apresentou correlação com a suscetibilidade ao patógeno.

Considerações e perspectivas

Considerando que a olivicultura é um setor de grande importância econômica em diversos países e está em constante expansão, é importante intensificar a investigação sobre os principais fatores limitantes da produção. Este estudo oferece uma contribuição relevante para o entendimento de um problema fitossanitário emergente nos olivais em todos os continentes, ao identificar e avaliar a suscetibilidade de diferentes cultivares a um isolado fúngico. Esse isolado foi selecionado a partir de um grupo da principal espécie responsável pela antracnose da oliveira, que tem alta prevalência em frutos com os sintomas da doença. Além disso, buscou-se avaliar o efeito de dois mecanismos de defesa envolvidos na interação *Olea europaea* x *Colletotrichum acutatum* no desenvolvimento da podridão causada por esse patógeno.

Sugere-se que investigações futuras explorem outros aspectos dos mecanismos de defesa das oliveiras, como a composição e proporção dos constituintes isolados que compõem esses mecanismos e que possam ter um papel mais significativo na defesa contra agentes patogênicos. A interação entre a espessura da cutícula das azeitonas e *Colletotrichum* spp. é um campo ainda pouco explorado, e este estudo se destaca como um dos poucos a investigar a relação entre a dimensão dessa estrutura e a antracnose. No entanto, com base nos resultados obtidos, é possível que outros fatores relacionados à cutícula,

como os componentes presentes, a proporção entre eles e o grau de cutinização, possam explicar melhor a resistência dos frutos à antracnose.

Além disso, a análise isolada de compostos fenólicos específicos presentes na azeitona, que poderiam estar associados à resistência contra o fungo, pode proporcionar uma compreensão mais detalhada de como esses metabólitos contribuem efetivamente para a defesa dos frutos. Estudos futuros poderiam focar na avaliação de cultivares sob outras perspectivas defensivas, utilizando técnicas avançadas de microscopia, expressão gênica, hormonal e nutricional. Esses estudos poderiam contribuir significativamente para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes de manejo da antracnose, minimizando o impacto da doença, especialmente em cultivares de oliveira mais suscetíveis.

Referências

AGOSTEO, G. E.; MACRI, C.; TACCONI, P. Susceptibility of olive cv "Itrana" to anthracnose. **Journal of Plant Pathology**, v. 87, n. 4, p. 287, 2005.

AGOSTEO, G. E.; SANZANI, S. M.; MACRÌ, C.; CACCIOLA, S. O.; LI DESTRI NICOSIA, M. G.; SCHENA, L. Olive leachates affect germination of *Colletotrichum godetiae* conidia and the development of appressoria. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 54, n. 1, p. 35-44, 2015.

ALI, A.; AHMADI, F.; COTTRELL, J. J.; DUNSHEA, F. R. Comprehensive Metabolite Fingerprinting of Australian Black and Green Olives and Their Antioxidant and Pharmacokinetics Properties. **Separations**, v. 10, n. 6, p. 354, 2023.

ALMEIDA, J. V. **La gaffa des olives en Portugal**. p. 5, 1899. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/13266/1/Bulletin_bulletin15soci.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2024.

AMIOT, M.-J.; FLEURIET, A.; MACHEIX, J.-J. Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 823-826. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, n. 5, p. 823-826, 1986.

ANAND, T.; BHASKARAN, R.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R.; PRAKASAM, V.; GOPALAKRISHNAN, C. Defence responses of chilli fruits to *Colletotrichum capsici* and *Alternaria alternata*. **Biologia Plantarum**, v. 53, n. 3, p. 553-559, 2009.

ARX, J. A. **A Revision of the Fungi Classified as Gloeosporium**: Bibliotheca mycologica. J. Cramer, 1970. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=GysJAQAAMAAJ>>.

ARYA, G. C.; SARKAR, S.; MANASHEROVA, E.; AHARONI, A.; COHEN, H. The Plant Cuticle: An Ancient Guardian Barrier Set Against Long-Standing Rivals. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 663165, 2021.

AZEVEDO-NOGUEIRA, F.; MARTINS-LOPES, P.; GOMES, S. Current understanding of *Olea europaea* L. – *Colletotrichum acutatum* interactions in the context of identification and quantification methods – A review. **Crop Protection**, v. 132, p. 105106, 2020.

BAILEY, J. A.; NASH, C.; MORGAN, L. W.; O'CONNELL, R. J.; TEBEEST, D. O. Molecular taxonomy of *Colletotrichum* species causing anthracnose on the *malvaceae*. **Phytopathology**, v. 86, n. 10, p. 1076-1083, 1996.

BARONCELLI, R.; TALHINHAS, P.; PENSEC, F.; SUKNO, S. A.; LE FLOCH, G.; THON, M. R. The *Colletotrichum acutatum* Species Complex as a Model System to Study Evolution and Host Specialization in Plant Pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2001, 2017. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02001/full>>.

BARRANCO NAVERO, D.; FERNÁNDEZ ESCOBAR, R.; RALLO ROMERO, L. **El cultivo del olivo**, v. 7, p. 1008, 2017.

BESNARD, G.; TERRAL, J. F.; CORNILLE, A. On the origins and domestication of the olive: A review and perspectives. **Annals of Botany**, v. 121, n. 3, p. 385-403, 2018.

BIANCHI, G. Lipids and phenols in table olives. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 105, n. 5, p. 229-242, 2003.

BOHM, J. O Grande Livro da Oliveira e do Azeite. **O Grande Livro da Oliveira e do Azeite**, p. 24–25, 2013.

BOSKOU, D. **Química y tecnología del aceite de oliva**. 1. ed. [s.l.] AMV Ediciones, 1988. 291 p.

BOUDET, A. M. Evolution and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22–24, p. 2722-2735, 2007.

BROEKAERT, W. F.; DELAURÉ, S. L.; DE BOLLE, M. F. C.; CAMMUE, B. P. A. The Role of Ethylene in Host-Pathogen Interactions. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, n. 1, p. 393–416, 1 set. 2006. Disponível em:

<<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143440>>.

BUONAURIO, R.; ALMADI, L.; FAMIANI, F.; MORETTI, C.; AGOSTEO, G. E.; SCHENA, L. Olive leaf spot caused by *Venturia oleaginea*: An updated review. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1061136, 2023. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.1061136/full>>.

CACCIOLA, S. O.; FAEDDA, R.; SINATRA, F.; AGOSTEO, G. E.; SCHENA, L.; FRISULLO, S.; MAGNANO DI SAN LIO, G. Olive anthracnose. **Journal of Plant Pathology**, v. 94, n. 1, p. 29–44, 2012.

CAMPBELL, C. Lee; MADDEN, Laurence V. **Introduction to plant disease epidemiology**. 1990.

CARLQUIST, S. Ecological Factors in Wood Evolution: A Floristic Approach. **American Journal of Botany**, v. 64, n. 7, p. 887-896, 1977.

CARVALHO, M. T.; SIMÕES-LOPES, P.; MONTEIRO DA SILVA, M. J. Influence of different olive infection rates of *colletotrichum acutatum* on some important olive oil chemical parameters. **Acta Horticulturae**, v. 791 PART 2, n. 791, p. 555–558, jun. 2008. Disponível em: <https://www.actahort.org/books/791/791_85.htm>.

CECCHI, L.; MIGLIORINI, M.; CHERUBINI, C.; INNOCENTI, M.; MULINACCI, N. Whole lyophilized olives as sources of unexpectedly high amounts of secoiridoids: The case of three Tuscan cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 4, p. 1175-1185, 2015.

CHAROENPRASERT, S.; MITCHELL, A. Factors Influencing Phenolic Compounds in Table Olives (*Olea europaea*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 29, p. 7081–7095, 25 jul. 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf3017699>>.

CHATTAOUI, M.; RAYA, M. C.; BOURI, M.; MORAL, J.; PEREZ-RODRIGUEZ, M.; TRAPERO, A.; MSALLEM, M.; RHOUMA, A. Characterization of a *Colletotrichum* population causing anthracnose disease on Olive in northern

Tunisia. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, n. 5, p. 1368-1381, 2016.

CHEN, G.; KOMATSUDA, T.; MA, J. F.; LI, C.; YAMAJI, N.; NEVO, E. A functional cutin matrix is required for plant protection against water loss. **Plant Signaling and Behavior**, v. 6, n. 9, p. 1297-1299, 2011.

COI. Uruguai - Um Cielo Azul Que Viaja. **Olivae - Revista Oficial Del Consejo Oleícola Internacional**, v. 128, 2021a. Disponível em: <<https://www.internationaloliveoil.org/product/olivae-128-spanish-edition/?lang>>. Acesso em: 17 ago. 2024.

COI. **Dados estatísticos.** Disponível em: <<https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2021/02/IOC-Import-profiles-Brazil-2019-20-rev0.html>>. Acesso em: 10 dez. 2021b.

COI. **Dados estatísticos.** Disponível em: <<https://www.internationaloliveoil.org/>>. Acesso em: 17 ago. 2024.

CORDEIRO, A.; CALDERÓN, R.; INÊS, C. Episódios climáticos que mais condicionam a produtividade do olival. **Vida Rural**, p. 32–35, 2018.

COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. **Cultivo de oliveira (*Olea europaea* L.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 125 p.

DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDEBERG, J. H. C.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 37–113, set. 2012. Disponível em: <<https://www.ingentaconnect.com/content/10.3114/sim0010>>.

DAWSON, D. **Producers in Uruguay See Awards Fueling Exports, Local Olive Oil Culture.** Disponível em: <<https://www.oliveoiltimes.com/production/producers-in-uruguay-see-awards-fueling-exports-local-olive-oil-culture/127752>>. Acesso em: 17 ago. 2024.

DIARTE, C.; LAI, P. H.; HUANG, H.; ROMERO, A.; CASERO, T.; GATIUS, F.; GRAELL, J.; MEDINA, V.; EAST, A.; RIEDERER, M.; LARA, I. Insights Into Olive Fruit Surface Functions: A Comparison of Cuticular Composition, Water

Permeability, and Surface Topography in Nine Cultivars During Maturation. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1484, 2019.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, n. 6839, p. 843–847, jun. 2001. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/35081178>>.

DOMINGUES, R. J.; TÖFOLI, J. G.; FERRARI, J. T.; MOGUEIRA, E. M. C. **Doenças fúngicas com potencial limitante para o desenvolvimento da olivicultura no Estado de São Paulo**. São Paulo. Instituto Biológico - Apta, 2016. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/dt/fungos_oliveira.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2024.

DUARTE, H. S. S.; CABRAL, P. G. C.; PEREIRA, O. L.; ZAMBOLIM, L.; GONÇALVES, E. D.; VIEIRA NETO, J.; ZAMBOLIM, E. M.; SERGEEVA, V. First report of anthracnose and fruit mummification of olive fruit (*Olea europaea*) caused by *Colletotrichum acutatum* in Brazil. **Plant Pathology**, v. 59, n. 6, p. 1170–1170, 2 dez. 2010. Disponível em: <<https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3059.2010.02297.x>>.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAOSTAT**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat>>. Acesso em: 14 ago. 2024.

FILODA, P. F.; ARELLANO, A. D. V.; DALLAGNOL, L. J.; CHAVES, F. C. *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum nymphaeae* causing blossom blight and fruit anthracnose on olives in southern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 161, n. 4, p. 993-998, 2021.

FINGER, G.; WEGNER, B. R.; ZANINI, F.; LANNA FILHO, R.; KERSCK, A. P.; BERTOLINI, E.; OLIVEIRA, A. D. Species of *Colletotrichum* causing olive anthracnose in South Brazil. In: PERDIKIS, D.; SACCHETTI, P.; BELCARI, A.; ROSI, M. C. **IOBC/WPRS meeting - Integrated Protection Of Olive Crops**. 8. ed. Florence, Italy: IOBC/WPRS, 2018. p. 71–74.

FLAISHMAN, M. A.; KOLATTUKUDY, P. E. Timing of fungal invasion using host's

ripening hormone as a signal. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 14, p. 6579–6583, 5 jul. 1994. Disponível em: <<https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.91.14.6579>>.

FREEMAN, B. C.; BEATTIE, G. A. An Overview of Plant Defenses against Pathogens and Herbivores. **The Plant Health Instructor**, 2008. Disponível em: <<https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Pages/OverviewOfPlantDiseases.aspx>>.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* Species Responsible for Anthracnose Diseases of Various Fruits. **Plant Disease**, v. 82, n. 6, p. 596–605, jun. 1998. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS.1998.82.6.596>>.

GALILI, E.; STANLEY, D. J.; SHARVIT, J.; WEINSTEIN-EVRON, M. Evidence for Earliest Olive-Oil Production in Submerged Settlements off the Carmel Coast, Israel. **Journal of Archaeological Science**, v. 24, n. 12, p. 1141–1150, dez. 1997. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030544039790193X>>.

GARCIA, S. R.; SANTOS, D. F. dos; MARTINS, F. B.; TORRES, R. R. Aspectos Climatológicos Associados Ao Cultivo Da Oliveira (*Olea europaea* L.) Em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 22, 2018.

GOLDENTAL-COHEN, S.; BITON, I.; MANY, Y.; BEN-SASON, S.; ZEMACH, H.; AVIDAN, B.; BEN-ARI, G. Green Olive Browning Differ Between Cultivars. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 1260, 2019.

GOMES, S.; BACELAR, E.; MARTINS-LOPES, P.; CARVALHO, T.; GUEDES-PINTO, H. Infection Process of Olive Fruits by *Colletotrichum acutatum* and the Protective Role of the Cuticle and Epidermis. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 2, p. 101, 2012.

GOMES, S.; PRIETO, P.; MARTINS-LOPES, P.; CARVALHO, T.; MARTIN, A.; GUEDES-PINTO, H. Development of *Colletotrichum acutatum* on tolerant and susceptible *Olea europaea* L. cultivars: A microscopic analysis. **Mycopathologia**, v. 168, n. 4, p. 203-211, 2009.

GOUVINHAS, I.; MARTINS-LOPES, P.; CARVALHO, T.; BARROS, A.; GOMES, S. Impact of *Colletotrichum acutatum* Pathogen on Olive Phenylpropanoid Metabolism. **Agriculture**, v. 9, n. 8, p. 173, 6 ago. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2077-0472/9/8/173>>.

GRANITI, A.; FRISULLO, S.; PENNISI, A. M.; DI SAN LIO, G. M. Infections of *Glomerella cingulata* on olive in Italy. **EPPO Bulletin**, v. 23, n. 3, p. 457-465, 1993.

GUERRA, D.; LAMONTANARA, A.; BAGNARESI, P.; ORRÙ, L.; RIZZA, F.; ZELASCO, S.; BEGHÈ, D.; GANINO, T.; PAGANI, D.; CATTIVELLI, L.; MAZZUCOTELLI, E. Transcriptome changes associated with cold acclimation in leaves of olive tree (*Olea europaea* L.). **Tree Genetics and Genomes**, v. 11, n. 6, p. 1-24, 2015.

HADJISAVVAS, S. **Olive oil processing in Cyprus : from the Bronze age to the Byzantine period**. Nicosia : Åström, 1992.

HAMMAMI, S. B. M.; MANRIQUE, T.; RAPOPORT, H. F. Cultivar-based fruit size in olive depends on different tissue and cellular processes throughout growth. **Scientia Horticulturae**, v. 130, n. 2, p. 445-451, 2011.

HAMMAMI, S. B. M.; RAPOPORT, H. F. Quantitative analysis of cell organization in the external region of the olive fruit. **International Journal of Plant Sciences**, v. 173, n. 9, p. 993-1004, 2012.

HUMPHRIES, C. J. **Guia de Campo das Árvores de Portugal e Europa**. Lisboa. 2006.

IBRAOLIVA. **Instituto Brasileiro de Olivicultura**. Disponível em: <<https://www.ibraoliva.com.br/>>. Acesso em: 17 ago. 2024.

ISAACSON, T.; KOSMA, D. K.; MATAS, A. J.; BUDA, G. J.; HE, Y.; YU, B.; PRAVITASARI, A.; BATTEAS, J. D.; STARK, R. E.; JENKS, M. A.; ROSE, J. K. C. Cutin deficiency in the tomato fruit cuticle consistently affects resistance to microbial infection and biomechanical properties, but not transpirational water loss. **Plant Journal**, v. 60, n. 2, p. 363-377, 2009.

JIMÉNEZ, M. R.; CASANOVA, L.; SUÁREZ, M. P.; RALLO, P.; MORALES-SILLERO, A. Internal fruit damage in table olive cultivars under superhigh-density hedgerows. **Postharvest Biology and Technology**, v. 132, p. 130-137, 2017.

JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. **Nature**, v. 147, p. 523, 1941. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/147222b0>>.

JONES, J. D. G.; DANG, J. L. The plant immune system. **Nature**, v. 444, n. 7117, p. 323–329, 2006.

KANIEWSKI, D.; VAN CAMPO, E.; BOIY, T.; TERRAL, J. F.; KHADARI, B.; BESNARD, G. Primary domestication and early uses of the emblematic olive tree: Palaeobotanical, historical and molecular evidence from the Middle East. **Biological Reviews**, v. 87, n. 4, p. 885-899, 2012.

KISLEV, M. E.; NADEL, D.; CARMI, I. Epipalaeolithic (19,000 BP) cereal and fruit diet at Ohalo II, Sea of Galilee, Israel. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 73, n. 1–4, p. 161-166, 1992.

KOSTELENOS, G.; KIRITSAKIS, A. Olive Tree History and Evolution. *In*: **Olives and Olive Oil as Functional Foods**. Wiley, 2017. p. 1–12.

LANZA, B.; DI SERIO, M. G. SEM characterization of olive (*Olea europaea* L.) fruit epicuticular waxes and epicarp. **Scientia Horticulturae**, v. 191, p. 49-56, 2015.

LEONI, C.; BRUZZONE, J.; VILLAMIL, J. J.; MARTÍNEZ, C.; MONTELONGO, M. J.; BENTANCUR, O.; CONDE-INNAMORATO, P. Percentage of anthracnose (*Colletotrichum acutatum* s.s.) acceptable in olives for the production of extra virgin olive oil. **Crop Protection**, v. 108, p. 47-53, 2018.

LESK, C.; ROWHANI, P.; RAMANKUTTY, N. Influence of extreme weather disasters on global crop production. **Nature**, v. 529, n. 7584, p. 84-87, 2016.

LIPHSCHITZ, N. The Vegetational Landscape and the Macroclimate of Israel During Prehistoric and Protohistoric Periods. **Mitekufat Haeven: Journal of the Israel Prehistoric Society / האבן מתקופת**, v. ט"ו, p. 80*-90*, 1986. Disponível

em: <<http://www.jstor.org/stable/23373148>>.

LOUREIRO, A.; NICOLE, M. R.; VÁRZEA, V.; MONCADA, P.; BERTRAND, B.; SILVA, M. C. Coffee resistance to *Colletotrichum kahawae* is associated with lignification, accumulation of phenols and cell death at infection sites. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 77, n. 1, p. 23–32, jan. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0885576511001159>>.

LOUREIRO, A.; TALHINHAS, P.; OLIVEIRA, H. A gafa da oliveira é causada por fungos de diversas espécies, com distinta distribuição geográfica, virulência e preferência pela cultivar. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 41, n. spe, p. 102-109, 2019.

MARTÍN, M. P.; GARCÍA-FIGUERES, F. *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* cause anthracnose on olives. **European Journal of Plant Pathology**, v. 105, n. 8, p. 733-741, 1999.

MARTÍN, M. P.; GARCÍA-FIGUERES, F.; TRAPERO, A. Iniciadores específicos para detectar las especies de *Colletotrichum* causantes de la antracnosis de los olivos. **Bol. San. Veg. Plagas**. 2002. Disponível em: <https://www.mapama.gob.es/app/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_plagas%2FBSVP-28-01-043-050.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2024.

MARTINS, F.; PEREIRA, J. A.; BAPTISTA, P. Olive Anthracnose and Its Management by Fungal Endophytes: An Overview. *In*: **Plant Microbe Interface**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 253–269.

MATEO-SAGASTA, E. Estudios básicos sobre *Gloeosporium olivarum* Alm. (*Deuteromiceto Melanconial*). **Bol. Patol. Veg. Entomol. Agric**, v. 30, p. 31–135, 1968.

MATERATSKI, P.; VARANDA, C.; CARVALHO, T.; DIAS, A. B.; CAMPOS, M. D.; REI, F.; FÉLIX, M. do R. Spatial and temporal variation of fungal endophytic richness and diversity associated to the phyllosphere of olive cultivars. **Fungal Biology**, v. 123, n. 1, p. 66-76, 2019.

MATERATSKI, P.; VARANDA, C.; CARVALHO, T.; DIAS, A. B.; DOROTEIA CAMPOS, M.; REI, F.; DO ROSÁRIO FÉLIX, M. Diversity of *Colletotrichum* species associated with olive anthracnose and new perspectives on controlling the disease in Portugal. **Agronomy**, v. 8, n. 12, p. 301, 2018.

MEFTAH, H.; BOUGHADAD, A.; BOUCHELTA, A. Comparison of biological and demographic parameters of *Euphyllura olivina* Costa (Homoptera, Psyllidae) on four varieties of olive. **OLIVAE**, n. 120, p. 3–17, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/272888524_Comparison_of_biological_and_demographic_parameters_of_Euphyllura_olivina_Costa_Homoptera_Psyllidae_on_four_varieties_of_olive>. Acesso em: 4 ago. 2024.

MGAP-DIEA. **Resultado del Primer Censo de Productores de Olivos**. Montevideo, UY. 2020. Disponível em: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/noticias/Comunicado_Censo_Olivos_2020_0.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2024.

MGAP-DIEA. **Resultado del Primer Censo de Productores de Olivos**. Montevideo, UY. 2023. Disponível em: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/noticias/Comunicado_final.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2024.

MIHO, H.; EXPÓSITO-DÍAZ, A.; MARQUEZ-PEREZ, M. I.; LEDESMA-ESCOBAR, C.; DIEZ, C. M.; PRUSKY, D.; PRIEGO-CAPOTE, F.; MORAL, J. The dynamic changes in olive fruit phenolic metabolism and its contribution to the activation of quiescent *Colletotrichum* infection. **Food Chemistry**, v. 450, p. 139299, 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814624009488>>.

MIKULIC-PETKOVSEK, M.; SCHMITZER, V.; JAKOPIC, J.; CUNJA, V.; VEBERIC, R.; MUNDA, A.; STAMPAR, F. Phenolic compounds as defence response of pepper fruits to *Colletotrichum coccodes*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 84, n. 1, p. 138-145, 2013.

MITHÖFER, A.; BOLAND, W.; MAFFEI, M. E. Chemical Ecology of Plant–Insect Interactions. *In*: ROBERTS, J. A. **Annual Plant Reviews online**. [s.l.] Wiley, 2018. p. 261–291.

MONGKOLPORN, O.; BUABAN, P.; TAYLOR, P. W. J.; LUENGWILAI, K. Role of cuticle in *Colletotrichum* infection of chili fruit. **Agriculture and Natural Resources**, v. 56, n. 3, p. 617-626, 2022.

MONTELONGO, M. J.; HERNÁNDEZ, L.; CASANOVA, L.; CONDE, P. **Aceituna Jabonosa En Uruguay**. INIA Las Brujas – Estación Experimental “Wilson Ferreira Aldunate”. Montevideo. INIA, 2013. Disponible em: <<http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/10500/1/sad-721-p.-39-44.pdf>>. Acceso em: 4 ago. 2024.

MORAL, J.; AGUSTÍ-BRISACH, C.; AGALLIU, G.; DE OLIVEIRA, R.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, M.; ROCA, L. F.; ROMERO, J.; TRAPERO, A. Preliminary selection and evaluation of fungicides and natural compounds to control olive anthracnose caused by *Colletotrichum* species. **Crop Protection**, v. 114, p. 167–176, dez. 2018. Disponible em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261219418302631>>.

MORAL, J.; AGUSTÍ-BRISACH, C.; RAYA, M. C.; JURADO-BELLO, J.; LÓPEZ-MORAL, A.; ROCA, L. F.; CHATTAOUI, M.; RHOUMA, A.; NIGRO, F.; SERGEEVA, V.; TRAPERO, A. Diversity of *Colletotrichum* Species Associated with Olive Anthracnose Worldwide. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 9, p. 741, 9 set. 2021. Disponible em: <<https://www.mdpi.com/2309-608X/7/9/741>>.

MORAL, J.; ALSALIMIYA, M.; ROCA, L. F.; DÍEZ, C. M.; LEÓN, L.; DE LA ROSA, R.; BARRANCO, D.; RALLO, L.; TRAPERO, A. Relative susceptibility of new olive cultivars to *spilocaea oleagina*, *Colletotrichum acutatum*, And *pseudocercospora cladosporioides*. **Plant Disease**, v. 99, n. 1, p. 58-64, 2015.

MORAL, J.; ÁVILA, A.; LÓPEZ-DONCEL, L. M.; ALSAMIMIYA, M.; OLIVEIRA, R.; GUTIÉRREZ, F.; NAVARRO, N.; BOUHMIDI, K.; BENALI, A.; ROCA, L. F.; TRAPERO, A. Resistencia a los repilos de distintas variedades de olivo. **Vida Rural**, v. 34, n. May 2014, p. 34-40, 2005.

MORAL, J.; BOUHMIDI, K.; TRAPERO, A. Influence of fruit maturity, cultivar susceptibility, and inoculation method on infection of olive fruit by *Colletotrichum acutatum*. **Plant Disease**, v. 92, n. 10, p. 1421-1426, 2008.

MORAL, J.; DE OLIVEIRA, R.; TRAPERO, A. Elucidation of the disease cycle of olive anthracnose caused by *colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, v. 99, n. 5, p. 548-556, 2009.

MORAL, J.; TRAPERO, A. Assessing the susceptibility of olive cultivars to anthracnose caused by *colletotrichum acutatum*. **Plant Disease**, v. 93, n. 10, p. 1028-1036, 2009.

MORAL, J.; TRAPERO, A. Mummified fruit as a source of inoculum and disease dynamics of olive anthracnose caused by *Colletotrichum spp.* **Phytopathology**, v. 102, n. 10, p. 982-989, 2012.

MORAL, J.; XAVIÉR, C. J.; VIRUEGA, J. R.; ROCA, L. F.; CABALLERO, J.; TRAPERO, A. Variability in susceptibility to anthracnose in the world collection of olive cultivars of Cordoba (Spain). **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1892, 2017.

MORAL, J.; XAVIÉR, C.; ROCA, L. F.; ROMERO, J.; MOREDA, W.; TRAPERO, A. Olive Anthracnose and its effect on oil quality. **Grasas y Aceites**, v. 65, n. 2, p. e028-e028, 2014.

MOREIRA, V.; CARBONE, M. J.; MONDINO, P.; ALANIZ, S. *Colletotrichum* infections during flower development and fruit ripening in four olive cultivars. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 62, n. 1, p. 35-46, 2023.

MORIONDO, M.; FERRISE, R.; TROMBI, G.; BRILLI, L.; DIBARI, C.; BINDI, M. Modelling olive trees and grapevines in a changing climate. **Environmental Modelling and Software**, v. 72, p. 387-401, 2015.

MOSCA, S.; LI DESTRI NICOSIA, M. G.; CACCIOLA, S. O.; SCHENA, L. Molecular analysis of *Colletotrichum* species in the *carposphere* and *phyllosphere* of olive. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, p. e114031, 2014.

MUGNAI, L.; SURICO, G.; RAGAZZI, A. *Glomerella cingulata* on olive in India: morphological and pathological notes. **EPPO Bulletin**, v. 23, n. 3, p. 449-455, 1993.

NETO, J. V.; OLIVEIRA, A. F.; OLIVEIRA, N. C.; DUARTE, H. S. S. D.; GONÇALVES, E. D. **Aspectos técnicos da cultura da oliveira**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2008. v. 881–560 p.

NGOU, B. P. M.; DING, P.; JONES, J. D. G. Thirty years of resistance: Zig-zag through the plant immune system. **The Plant Cell**, v. 34, n. 5, p. 1447–1478, 26 abr. 2022. Disponível em: <<https://academic.oup.com/plcell/article/34/5/1447/6529015>>.

NIAOUNAKIS, M.; HALVADAKIS, C. P. Olive Processing Waste Management. **Literature Review and Patent Survey**, v. 2, 2006.

NIETO, L. M.; HODAIFA, G.; PEÑA, J. L. L. Changes in phenolic compounds and Rancimat stability of olive oils from varieties of olives at different stages of ripeness. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 14, p. 2393-2398, 2010.

OLIVE OIL SOURCE. Olive Classification. **Taxonomy**, 2020. Disponível em: <<https://www.oliveoilsource.com/info/olive-classification>>. Acesso em: 17 ago. 2024.

OLIVEIRA, P. R. K.; HENKES, J. A. AZEITE MADE IN BRAZIL: UMA ANÁLISE DA PRODUÇÃO NA REGIÃO DA SERRA DA MANTIQUEIRA. **Revista Brasileira de Meio Ambiente & Sustentabilidade**, v. 1, n. 3, p. 65–82, 2021.

ORSI, B.; SESTARI, I.; PRECZENHAK, A. P.; DE ABREU VIEIRA, A. P.; TESSMER, M. A.; DA SILVA SOUZA, M. A.; HASSIMOTTO, N. M. A.; KLUGE, R. A. Fruits from tomato carotenoid mutants have altered susceptibility to grey mold. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 204, p. 108100, 2023.

PERES, F.; MARTINS, L. L.; MOURATO, M.; VITORINO, C.; ANTUNES, P.; FERREIRA-DIAS, S. Phenolic compounds of “Galega Vulgar” and “Cobrançosa” olive oils along early ripening stages. **Food Chemistry**, v. 211, p. 51-58, 2016.

PERES, F.; TALHINHAS, P.; AFONSO, H.; ALEGRE, H.; OLIVEIRA, H.; FERREIRA-DIAS, S. Olive oils from fruits infected with different anthracnose pathogens show sensory defects earlier than chemical degradation. **Agronomy**, v. 11, n. 6, p. 1041, 2021.

PRUSKY, D. Pathogen Quiescence In Postharvest Diseases. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, n. 1, p. 413–434, set. 1996. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.phyto.34.1.413>>.

QUEIROGA, V. P.; GOMES, J. P.; QUEIROZ, A. J. M.; MENDES, N. V. B.; FIGUERÊDO, R. M. F.; LIMA, D. C.; ALBUQUERQUE, E. M. B. **Tecnologias utilizadas no cultivo em sebe da oliveira (*Olea europaea*, L.) mecanizada**. 1. ed. Campina Grande: AREPB, 2022. 1–423 p.

RAPOPORT, H. F.; FABBRI, A.; SEBASTIANI, L. Olive Biology. *In: The Olive Tree Genome*. 1. ed. Berlin: Springer Cham, 2016. p. 13–25.

RASBAND 1997-2024, W. S. **ImageJ**. Bethesda, Maryland, USA. U.S. National Institutes of Health, Disponível em: <<https://imagej.nih.gov/ij/>>. Acesso em: 10 jul. 2024.

RIO GRANDE DO SUL. **Secretaria da Agricultura, Pecuária, Produção Sustentável e Irrigação**. Disponível em: <<https://www.agricultura.rs.gov.br/pro-oliva>>. Acesso em: 17 ago. 2024.

RIOLO, M.; PANE, A.; SANTILLI, E.; MORICCA, S.; CACCIOLA, S. O. Susceptibility of Italian olive cultivars to various *Colletotrichum* species associated with fruit anthracnose. **Plant Pathology**, v. 72, n. 2, p. 255-267, 2023.

RODRIGUES, M. A.; CORREIA, C. M. **Manual da safra e contra safra do olival**. Bragança: AGRIS/CARIS, 2009. 1–113 p.

ROY, S.; NUCKLES, E.; ARCHBOLD, D. D. Effects of Phenolic Compounds on Growth of *Colletotrichum spp.* In Vitro. **Current Microbiology**, v. 75, n. 5, p. 550-556, 2018.

RUGINI, E.; CRISTOFORI, V.; SILVESTRI, C. Genetic improvement of olive

(*Olea europaea* L.) by conventional and in vitro biotechnology methods. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 687–696, set. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0734975016300234>>.

SÁNCHEZ-CALVO, B.; MASTROGIOVANNI, M.; SANTOS, M.; PETINGI, S.; CONDE-INNAMORATO, P.; ARIAS-SIBILLOTTE, M.; IBÁÑEZ, F.; TROSTCHANSKY, A.; RUBBO, H. Detection of Nitro-Conjugated Linoleic Acid and Nitro-oleic Acid in Virgin Olive Oil under Gastric Conditions: Relationship to Cultivar, Fruit Ripening, and Polyphenol Content. **ACS Food Science and Technology**, v. 2, n. 4, p. 673-681, 2022.

SANTOS, K. R. P. dos; JÚNIOR, F. C. A. de A.; ANTONIO, E. A.; SILVA, F. R. da; SILVA, K. T. da; MARINHO, K. S. do N.; JUNIOR, N. B. de L. Manual de Técnica Histológica de Rotina e de Colorações Manual de Técnica Histológica de Rotina e de Colorações. **Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV. Bibliotecária Ana Ligia F. dos Santos, CRB4/2005**, p. 37, 2021.

SCHENA, L.; MOSCA, S.; CACCIOLA, S. O.; FAEDDA, R.; SANZANI, S. M.; AGOSTEO, G. E.; SERGEEVA, V.; MAGNANO DI SAN LIO, G. Species of the *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. boninense* complexes associated with olive anthracnose. **Plant Pathology**, v. 63, n. 2, p. 437-446, 2014.

SCHEUNEMANN, T.; BERNARDI, D.; NAVA, D. E. Pragas da oliveira. **Cultivar HF**, p. 10–13, dez. 2009. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1120666/1/DoriPragasdaoliveira.pdf>>. Acesso em: 17 ago. 2024.

SEBASTIANI, L.; BUSCONI, M. Recent developments in olive (*Olea europaea* L.) genetics and genomics: applications in taxonomy, varietal identification, traceability and breeding. **Plant Cell Reports**, v. 36, n. 9, p. 1345–1360, 22 set. 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00299-017-2145-9>>.

SERGEEVA, V. The Role Of Epidemiology Data In Developing Integrated Management Of Anthracnose In Olives - A Review. **Acta Horticulturae**, v. 1057, n. 1057, p. 163–168, out. 2014. Disponível em:

<https://www.actahort.org/books/1057/1057_19.htm>.

SERGEEVA, V.; NAIR, N. G.; SPOONER-HART, R. Evidence of early flower infection in olives (*Olea europaea*) by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* causing anthracnose disease . **Australasian Plant Disease Notes**, v. 3, n. 1, p. 81-82, 2008.

SERGEEVA, V.; SPOONER-HART, R. Anthracnose and Queensland fruit fly in olives. **The Olive Press**, v. 16, p. 23–24, 2010. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Vera-Sergeeva-4/publication/360124223_Anthracnose_and_Queensland_fruit_fly_in_olives/links/626350b68e6d637bd1f63256/Anthracnose-and-Queensland-fruit-fly-in-olives.pdf?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9>. Acesso em: 17 ago. 2024.

SIMMONDS, J. H. Type specimens of *Colletotrichum gloeosporioides* var. minor and *Colletotrichum acutatum*. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 25, p. 178, 1968.

TALHAOUI, N.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; LEÓN, L.; DE LA ROSA, R.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Pattern of Variation of Fruit Traits and Phenol Content in Olive Fruits from Six Different Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 48, p. 10466-10476, 2015.

TALHAOUI, N.; GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; LEÓN, L.; DE LA ROSA, R.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. From olive fruits to olive Oil: Phenolic compound transfer in six different olive cultivars grown under the same agronomical conditions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 3, p. 337, 2016.

TALHINHAS, P.; GONÇALVES, E.; SREENIVASAPRASAD, S.; OLIVEIRA, H. Virulence diversity of anthracnose pathogens (*Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* species complexes) on eight olive cultivars commonly grown in Portugal. **European Journal of Plant Pathology**, v. 142, n. 1, p. 73-83, 2015.

TALHINHAS, P.; LOUREIRO, A.; OLIVEIRA, H. Olive anthracnose: a yield- and

oil quality-degrading disease caused by several species of *Colletotrichum* that differ in virulence, host preference and geographical distribution. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 8, p. 1797-1807, 2018.

TALHINHAS, P.; MOTA-CAPITÃO, C.; MARTINS, S.; RAMOS, A. P.; NEVES-MARTINS, J.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; VÁRZEA, V.; SILVA, M. C.; SREENIVASAPRASAD, S.; OLIVEIRA, H. Epidemiology, histopathology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. **Plant Pathology**, v. 60, n. 3, p. 483-495, 2011.

TALHINHAS, P.; SREENIVASAPRASAD, S.; NEVES-MARTINS, J.; OLIVEIRA, H. Molecular and phenotypic analyses reveal association of diverse *Colletotrichum acutatum* groups and a low level of *C. gloeosporioides* with olive anthracnose. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 6, p. 2987-2998, 2005.

TERAMOTO, J. R. S.; BERTONCINI, E. I.; PRELA-PANTANO, A. Mercado dos produtos da oliveira e os desafios brasileiros. **Informações Econômicas**, v. 43, p. 24–32, mar. 2013. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/ftpiea/publicacoes/ie/2013/tec2-0413.pdf>>. Acesso em: 17 ago. 2024.

TONNESSEN, B. W.; MANOSALVA, P.; LANG, J. M.; BARAOIDAN, M.; BORDEOS, A.; MAULEON, R.; OARD, J.; HULBERT, S.; LEUNG, H.; LEACH, J. E. Rice phenylalanine ammonia-lyase gene OsPAL4 is associated with broad spectrum disease resistance. **Plant Molecular Biology**, v. 87, n. 3, p. 273-286, 2015.

TRAPERO-CASAS, A.; ROCA, L. F.; MORAL, J.; TRAPERO, C.; LÓPEZ-ESCUADERO, J. Las Enfermedades Y Su Manejo En El Olivar Ecológico. *In*: Junta De Andalucía. **El Olivar Ecológico**. [s.l: s.n.]p. 2056.

VANDERPLANK, J. E. Disease Resistance in Plants. p. 208, 2012.

VOSSSEN, P. Olive Oil: History, Production, and Characteristics of the World's Classic Oils. **HortScience**, v. 42, n. 5, p. 1093–1100, ago. 2007. Disponível em: <<https://journals.ashs.org/view/journals/hortsci/42/5/article-p1093.xml>>.

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 115-180, 2012.

WHARTON, P. S.; DIÉGUEZ-URIBEONDO, J. The biology of *Colletotrichum acutatum*. **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, v. 61, n. 1, 2004. p. 3-22.

WREGE, M. S.; COUTINHO, E. F.; STEINMETZ, S.; REISSER JÚNIOR, C.; ALMEIDA, I. R. de; MATZENAUER, R.; RADIN, B. **Zoneamento agroclimático para oliveira no Estado do Rio Grande do Sul**. 1. ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. 24 p.

ZACHOS, D. G.; MAKRIS, S. A. Studies on *Gloeosporium olivarum* in Greece. **II. Symptoms of the disease. Ann. Inst. Phytopathol. Benaki**, v. 5, p. 128–130, 1963.