Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

A ferrugem da videira em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*: componentes epidemiológicos e respostas dos hospedeiros

Bárbara Ludwig Navarro

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2017

Bárbara Ludwig Navarro
Engenheira Agrônoma

A ferrugem da videira em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*: componentes epidemiológicos e respostas dos hospedeiros

Orientador:
Prof. Dr. **MARCEL BELLATO SPÓSITO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Navarro, Bárbara Ludwig

A ferrugem da videira em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*: componentes epidemiológicos e respostas dos hospedeiros / Bárbara Ludwig Navarro. - - Piracicaba, 2017.

93 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. *Vitis* spp. 2. Eficiência de doença 3. Epidemiologia comparativa 4. Histopatologia 5. Resposta fotossintética 6. Espécies reativas de oxigênio I. Título

OFEREÇO

"A Deus, ao Espírito Santo, por caminharem sempre comigo, me iluminando e protegendo nos momentos mais difíceis..."

DEDICO

"À minha família:
meu pai Edson Navarro pelo apoio e exemplo de profissional,
a minha mãe Verônica Ludwig Navarro, principalmente pela inspiração em seguir na profissão como eng. agrônoma,
a minha irmã Betina Ludwig Navarro, pelos conselhos e momentos felizes.
Obrigada pelo amor, apoio e compreensão! "

"A Antonio Fernandes Nogueira Júnior, todo amor, compreensão, apoio, companhia e ensinamentos. Obrigada por acreditar em mim!"

"A minha madrinha Profa. Dra. Renate Krause Sakate, pela inspiração e pelo incentivo em seguir na área da Fitopatologia."

"A minha avó (Oma) Rosa Ludwig, pelo exemplo de pessoa bondosa, paciente, trabalhadora, pelo seu amor e admiração."

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar sempre comigo, tanto nos momentos mais difíceis como nos mais gratificantes e por iluminar minhas decisões!

Ao Prof. Dr. Marcel Bellato Spósito, pela orientação, confiança, paciência e pelos momentos de descontração.

Aos professores Armando Bergamin Filho e Lilian Amorim, pelos ensinamentos e pela disponibilidade em me auxiliar nas dúvidas; pela contribuição na área da Epidemiologia de Plantas, minha admiração.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro concedido através da bolsa de Mestrado. A FAPESP pelo auxílio financeiro para desenvolvimento do projeto.

Ao Departamento de Fitopatologia e Nematologia da ESALQ-USP, a todos os professores pelos ensinamentos concedidos, contribuindo para minha formação. Aos funcionários pelo auxílio para desenvolvimento do projeto.

A profa. Beatriz Appezzato da Glória, pelo auxílio nas análises das imagens. A Marli Soares e João Paulo Marques, pelo auxílio no preparo e desenvolvimento das análises anatômicas. Aos colegas do Laboratório de Anatomia Vegetal, obrigada pelo auxílio.

Ao prof. Hilton Thadeu do Couto, pelo auxílio e desenvolvimento das análises estatísticas.

Ao prof. Sérgio Pascholati pelo auxílio no experimento sobre resposta de hipersensibilidade.

Ao prof. Rafael Vasconcelos Ribeiro, pelo auxílio no experimento de trocas gasosas.

Ao Núcleo de Apoio em Microscopia Eletrônica Aplicada a Agricultura, obrigada pela disponibilidade em desenvolver os trabalhos. Ao Renato, pelo auxílio no manuseio dos equipamentos e desenvolvimento das técnicas em microscopia eletrônica.

A Sílvia Lourenço, pela amizade, pelo auxílio e pelos ensinamentos para o desenvolvimento das minhas atividades no laboratório. Ao Eder Cintra pelos ensinamentos na condução das mudas.

A Leila Peters, por ter me ajudado na metodologia dos experimentos sobre resposta de hipersensibilidade.

Aos amigos que fiz no laboratório de Epidemiologia: a Profa. Dra. Maria Cândida, pelo apoio e incentivo, Juliana Baggio, Isabela Primiano, Kelly Pazolini, Josi Arruda, Guilherme Frare, Luiz Rafael Pinto, Ricardo Feliciano, Renan Fernandes, Meryele Camargo, Juanchi Edwards Molina, Ortiz, ao meu colega André Bueno Gama (Pena Brãk) pelos momentos compartilhados desde a graduação, a todos obrigada pelo apoio e pelos momentos de descontração. Em especial Antonio por todos os ensinamentos e pelo companheirismo.

Aos estagiários Ana Carolina Pagenotto (Grilis), Ana Lounardi, Bruna Momesso e Caio que me auxiliaram na realização dos experimentos.

As amigas que fiz na graduação Camila Klock de Lima (Põtuau) e Renata Rebelatto Linhares (Xis), pelos momentos de descontração e pelo apoio.

As amigas de república Rafaella Mazza (Golfiño), Caroline Isaac Ferreira (Niu) e Beatriz Ribeiro da Cunha (Certão), pelo apoio e compreensão nos momentos difíceis, mas também de descontração.

Aos amigos da república Cemitério: Julianne, Ranieri, Bruno, Ivanka, Rogério, Jéssica, Dinei, Sandra e Belchior por todas as risadas e momentos de diversão que compartilhamos.

A todos meu muito obrigada!

Sião dizia: "O Senhor abandonou-me, o Senhor esqueceu-me." Pode uma mulher esquecer-se daquele que amamenta? Não ter ternura pelo fruto de suas entranhas? E mesmo que ela o esquecesse, eu não te esqueceria nunca!
Isaías, 49, 14-15

"Mas eu, quando estiver com medo, confiarei em Ti."
Salmos, 56,3.

SUMÁRIO

RESUMO.....9
ABSTRACT 10
LISTA DE FIGURAS 11
LISTA DE TABELAS 15
1. INTRODUÇÃO 17
2. DESENVOLVIMENTO 19
2.1. Revisão Bibliográfica 19
2.1.1. Espécies de videiras 19
2.1.2. Viticultura 20
2.1.3. Ferrugem da videira 20
2.1.4. Suscetibilidade de espécies de videiras à ferrugem.....21
2.1.5. Resistência do hospedeiro a doenças de plantas 22
2.1.6. Epidemiologia comparativa entre espécies de hospedeiros.....25
2.1.6.1. Período de latência.....25
2.1.6.2. Eficiência de doença.....26
2.1.6.3. Período infeccioso 27
2.1.6.4. Capacidade de esporulação 27
2.1.6.5. Viabilidade de esporos 28
2.1.6.6. Severidade da doença.....29
2.1.6.7. Crescimento da lesão 29
2.1.7. Relação entre doenças foliares e trocas gasosas em hospedeiros 30
2.2. Material e Métodos 32
2.2.1. Manutenção e inoculação de *Phakopsora euvitis* 32
2.2.2. Eficiência de doença e severidade de ferrugem em *Vitis labrusca* cv. Niágara rosada em diferentes concentrações de inóculo, temperaturas e molhamento foliar.....33
2.2.3. Epidemiologia comparativa de ferrugem em *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera* 35
2.2.4. Análise anatômica e sintomatológica de ferrugem em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*.....38

2.2.5. Comparação da resposta fotossintética de folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* sadias e com sintomas de ferrugem 39
2.2.6. Presença de espécies reativas de oxigênio em folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* inoculadas com *Phakopsora euvitis* 41
2.3. Resultados e Discussão 43
2.3.1. Eficiência de doença e severidade de ferrugem em *Vitis labrusca* cv. Niágara rosada em diferentes concentrações de inóculo, temperaturas e molhamento foliar 43
2.3.2. Epidemiologia comparativa de ferrugem em *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera* 54
2.3.3. Comparação anatômica e sintomatológica de ferrugem em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* 61
2.3.4. Comparação da resposta fotosintética de folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* com ferrugem 65
2.3.5. Presença de espécies reativas de oxigênio em folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* inoculadas com *Phakopsora euvitis* 72
2.4. Considerações Finais 77
3. CONCLUSÕES 79
REFERÊNCIAS 81
ANEXOS 91

RESUMO

A ferrugem da videira em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*: componentes epidemiológicos e respostas dos hospedeiros

No estado de São Paulo são produzidas uvas de mesa de origem europeia (*Vitis vinifera*) e de origem americana (*Vitis labrusca*). Devido as condições climáticas, doenças fúngicas foliares são recorrentes e causam danos e prejuízos aos viticultores paulistas. Entre essas doenças se destaca a ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis*), por causar desfolha intensa, depreciar cachos e reduzir a produção. Entretanto, pouco se sabe sobre a interação desse patógeno e espécies de videiras. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a severidade e eficiência de doença da ferrugem em *V. labrusca*; e comparar a resistência à ferrugem entre as espécies de videira *V. vinifera* cv. Moscato Giallo e *V. labrusca* cv. Niágara Rosada, por meio de componentes epidemiológicos da doença e alterações anatômicas, sintomatológicas e fisiológicas dos hospedeiros. O período de molhamento foliar e a temperatura no processo de infecção, assim como a concentração de inóculo de *P. euvitis* influenciam na eficiência de doença e consequentemente na severidade de ferrugem em *Vitis labrusca*. A maioria dos componentes epidemiológicos avaliados mostrou que a *V. labrusca* é mais suscetível à ferrugem do que a *V. vinifera*. O período de latência e período infeccioso da ferrugem da videira são similares entre as espécies de videiras e folhas mais velhas (com 60 dias após a brotação) são mais suscetíveis à ferrugem que folhas mais jovens (34 e 24 dias após a brotação). As folhas mais velhas tem maior capacidade de esporulação. Em *V. labrusca* foi observado maior severidade da doença durante o período infeccioso. Em folhas de *V. labrusca* são observadas urédias satélites oriundas da primeira infecção que caracterizam o crescimento da pústula. Em folhas de *V. vinifera* há a presença de um halo encharcado ao redor da lesão, onde há acúmulo de substâncias pécticas e celulose que funcionam como mecanismos de defesa do hospedeiro para a ferrugem da videira. Em folhas de *V. vinifera* assim como de *V. labrusca* a ferrugem da videira reduz a fotossíntese tanto na região da lesão quanto na região assintomática ao redor da pústula. A ferrugem da videira causa danos no processo fotoquímico, pela redução do transporte aparente de elétrons. Em ambas as espécies também pode ser observada o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) no sítio de infecção horas após a inoculação, relacionando a resposta de hipersensibilidade a uma reação pós-formada do hospedeiro como estratégia de reduzir a área lesionada.

Palavras-chave: *Vitis spp*.; Eficiência de doença; Epidemiologia comparativa; Histopatologia; Resposta fotossintética; Espécies reativas de oxigênio

ABSTRACT

The grapevine rust in *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*: epidemiological compounds and host responses

Grapevines cultivar of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* are cultivated in Sao Paulo state for producing table grapes. Foliar fungal diseases are recurrent and cause yield losses when climatic conditions are favourable to disease development. Grapevine rust (*Phakopsora euvitis*) causes intense defoliation, fruit depreciation and yield losses. However, little is known about the interaction between *P. euvitis* and *Vitis* spp. Therefore, the objective of this work was to evaluate the severity and disease efficiency of rust in *V. labrusca*; and compare the resistance of the species *V. vinifera* cv. Moscato Giallo and *V. labrusca* cv. Niagara Rosada measuring of epidemiological components of the disease and anatomical, symptomatological and physiological alterations in the hosts. The leaf wetness period and the temperature during the infection process, as well as the inoculum concentration of *P. euvitis* influence the disease efficiency and, consequently the rust severity in *V. labrusca*. Most of the evaluated epidemiological components showed that *V. labrusca* is more susceptible to rust than *V. vinifera*. The latent period and the infectious period of rust are similar between the species and older leaves (60 days after bud break) are more susceptible to rust than younger leaves (34 and 24 days after bud break). Older leaves have greater sporulation capacity. During infectious period of rust in *V. labrusca* was observed a higher severity of disease than in *V. vinifera*. Satellite uredias originary from the first infection are observed in *V. labrusca* leaves which characterize the pustule growth. *V. vinifera* leaves showed a soaked halo surround the lesion, and accumulation of pectic substances and cellulose was observed in this region. These substances accumulation may are defense mechanisms of the host against the rust. Rust reduces photosynthesis in the region of lesion, and also in the asymptomatic region around the pustule in both grapevine species. Rust causes damage in photochemical process as a result of reduction from apparent transport of electrons. In both species, one day after inoculation it was observed accumulation of reactive oxygen species (ROS). Therefore, hypersensitivity response is related to a post-formed host reaction such as a strategy to reduce the injured area.

Keywords: *Vitis spp*.; Disease efficiency; Comparative epidemiology; Histopathology; Photosynthetic response; Reactive oxygen species

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. MUDAS DE *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA E *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO COM TRÊS FOLHAS DE DIFERENTES IDADES (A) AS MUDAS FIXADAS EM PLACA DE ISOPOR MANTIDAS EM CÂMARA ÚMIDA A TEMPERATURA CONTROLADA (B). FOLHAS FIXADAS EM PLACAS DE ISOPOR COM A FACE ABAXIAL VOLTADA PARA CIMA E INOCULADAS NA REGIÃO DELIMITADA PELA MOLDURA DE BORRACHA (DETALHE NA FITA PLÁSTICA PARA MANTER CÂMARA ÚMIDA) (C). COLETA DOS ESPOROS COM AUXÍLIO DE PINCEL (D). ADIÇÃO DE 5 ML DE ÁGUA DESTILADA AOS ESPOROS COLETADOS (E). CONTAGEM DE ESPOROS EM CÂMARA DE NEUBAUER PARA DEFINIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA SUSPENSÃO (F). PREPARO DO TESTE DE GERMINAÇÃO COM O DEPÓSITO DE TRÊS GOTAS EM TRÊS PLACAS DE POLIESTIRENO (G).....37

FIGURA 2. AMOSTRAS DE FOLHAS DE *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO *E V. LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA INOCULADAS COM *PHAKOPSORA EUVITIS* DURANTE PROCESSO DE SECAGEM EM PONTO CRÍTICO (A). *STUBS* APÓS O PROCESSO DE METALIZAÇÃO (B). FOLHAS DAS DUAS ESPÉCIES DE VIDEIRA COM OS DISCOS DE 2 CM DE DIÂMETRO QUE FORAM DESTACADOS PARA TESTES DE REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE (C). DISCOS EM SOLUÇÃO DE DAB E NBT EM BOMBA A VÁCUO (D). DISCOS DURANTE PROCESSO DE DESCOLORAÇÃO EM BANHO-MARIA COM ETANOL (E). COLORAÇÃO DAS ESTRUTURAS FÚNGICAS COM AZUL DE ALGODÃO, MONTAGEM DAS LÂMINAS COM GLICERINA A 50% E SELAGEM COM ESMALTE (F).....42

FIGURA 3. SINTOMAS DE FERRUGEM DA VIDEIRA EM ÁREA FOLIAR DE *V. LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA INOCULADA COM *PHAKOPSORA EUVITIS* NA CONCENTRAÇÃO DE 10^4 UREDINIÓSPOROS ML^{-1}, SUBMETIDAS ÀS TEMPERATURAS 15, 20, 25 E 30°C COM DURAÇÕES DE PERÍODOS DE MOLHAMENTO DE 6, 12, 18 E 24 HORAS. AS IMAGENS FORAM REALIZADAS NO 14º DIA APÓS A INOCULAÇÃO. A ÁREA INOCULADA EM CADA UMA DAS FOLHAS REPRESENTA 12 CM^2.....45

FIGURA 4. SEVERIDADE DE FERRUGEM DA VIDEIRA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR EM *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA, 14 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO COM *PHAKOPSORA EUVITIS*, PARA A REPETIÇÃO 1 (●) E REPETIÇÃO 2 (○).....47

FIGURA 5. EFICIÊNCIA DE DOENÇA (PÚSTULAS POR ESPOROS INOCULADOS) DE FERRUGEM DA VIDEIRA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E PERÍODO DE MOLHAMENTO FOLIAR EM *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA, 14 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO COM *PHAKOPSORA EUVITIS*, PARA A REPETIÇÃO 1 (●) E REPETIÇÃO 2 (○).....48

FIGURA 6. SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA EFICIÊNCIA DE DOENÇA (PÚSTULAS POR ESPOROS INOCULADOS) DE *PHAKOPSORA EUVITIS* INOCULADA EM FOLHAS DE *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E DO PERÍODO DE MOLHAMENTO, DESCRITA PELA EQUAÇÃO ED=0,22*(((T-5,8)/(24,28-5,8))^(7,09*((24,28-5,8)/(37,36-24,28)))*(((37,36-T)/(37,36-24,28))^7,09))*(0,825*(1-1,99*(EXP(-0,11*M)))), EM QUE ED É EFICIÊNCIA DE DOENÇA, T A TEMPERATURA (°C) E M O PERÍODO DE MOLHAMENTO (HORAS). FORAM SOMADOS OS DADOS DA REPETIÇÃO 1 (●) E REPETIÇÃO 2 (○) DO EXPERIMENTO. 49

FIGURA 7. IMAGENS DE FOLHAS DE *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA INOCULADAS NAS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES 10^2, 10^3, 10^4 E 10^5 UREDINIÓSPOROS DE *PHAKOPSORA EUVITIS* ML^{-1}. AS IMAGENS FORAM REALIZADAS 14 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO. A ÁREA INOCULADA REPRESENTA 12 CM^2 50

FIGURA 8. OS RESULTADOS FORAM OBTIDOS EM ÁREAS DA FOLHA DE 12 CM^2 DE *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA INOCULADAS COM *PHAKOPSORA EUVITIS* E AVALIADAS 14 DIAS APÓS A INOCULAÇÃO. EFICIÊNCIA DE DOENÇA (NÚMERO DE PÚSTULAS POR ESPOROS VIÁVEIS) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO, AJUSTADA AO MODELO POTÊNCIA INVERSA ($Y(X)= 2,08*(X^{-0,39})$) (A); SEVERIDADE MÉDIA (EM PROPORÇÃO) EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO, AJUSTADA AO MODELO LOGÍSTICO ($Y=1/(1+((1/0,0686))-1)*EXP(-0,14E^{-4})*X)$) (C); PRODUÇÃO DE ESPOROS POR PÚSTULA EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO (E). AS BARRAS REPRESENTAM ERRO PADRÃO PARA DADOS DAS DUAS REPETIÇÕES DO EXPERIMENTO (A,C,E). ESPOROS PRODUZIDOS EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE PÚSTULAS FORMADAS (B); SEVERIDADE DA FERRUGEM EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE PÚSTULAS FORMADAS (D) E NÚMERO DE ESPOROS PRODUZIDOS EM FUNÇÃO DA SEVERIDADE DA FERRUGEM (F). FORAM UTILIZADOS OS DADOS DA REPETIÇÃO 1 (●) E REPETIÇÃO 2 (○) DO EXPERIMENTO (B,D,F). 51

FIGURA 9. EFICIÊNCIA DE DOENÇA (PÚSTULAS/ UREDINIÓSPOROS) PARA *V. VINIFERA* (A) E *V. LABRUSCA* (B) EM FOLHAS (F) VELHAS, INTERMEDIÁRIAS E JOVENS. BARRAS REPRESENTAM ERRO PADRÃO. A INOCULAÇÃO DA PRIMEIRA REPETIÇÃO (●) FOI REALIZADA NO DIA 09/01/2016 E PARA A SEGUNDA REPETIÇÃO (○) EM 23/03/2016. 55

FIGURA 10. SEVERIDADE D E FERRUGEM (*PHAKOPSORA EUVITIS*) (EM PROPORÇÃO) (A,B), CAPACIDADE DE ESPORULAÇÃO (C,D), ESPOROS/PÚSTULA/DIA (E,F), ESPOROS ACUMULADOS (G,H) E VIABILIDADE DE ESPOROS (I,J) EM TRÊS DIFERENTES IDADES DE FOLHA: VELHA (●), INTERMEDIÁRIA (○) E JOVEM (▼) DE *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO. (A,C,E,G,I) E *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA. (B,D,F,H,J). OS VALORES REPRESENTAM DUAS REPETIÇÕES. 57

FIGURA 11. SEVERIDADE DE FERRUGEM (*PHAKOPSORA EUVITIS*) (EM PROPORÇÃO) (A,B) E TAMANHO MÉDIO DE PÚSTULAS (MM^2) (C,D) EM TRÊS DIFERENTES IDADES DE FOLHA: VELHA (●), INTERMEDIÁRIA (○) E JOVEM (▼) DE *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO (A,C) E *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA. (B,D).....59

FIGURA 12. SINTOMAS DE *PHAKOPSORA EUVITIS* EM VIDEIRA *VITIS SPP.* COM 17DAI. *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO (A-E). DETALHE PARA HALO ENCHARCADO AO REDOR DA LESÃO (A). IMAGEM EM ESTÉREO-MICROSCÓPIO, DETALHE PARA O SURGIMENTO DE NOVA PÚSTULA (B). IMAGEM EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA, DETALHE PARA O ROMPIMENTO DA EPIDERME NA FORMAÇÃO DA NOVA PÚSTULA (C). CORTE TRANSVERSAL CORADO COM AZUL DE TOLUIDINA (D). CORTE TRANSVERSAL EM CORANTE DE FLUORESCÊNCIA WGA ALEXAFLUOR 488 (FLUORESCÊNCIA EM VERDE) E CALCOFLUOR (FLUORESCÊNCIA EM AZUL). FLUORESCÊNCIA EM VERDE INDICA PRESENÇA DO FUNGO LIMITADA A REGIÃO DA PÚSTULA (NO INTERIOR DO HALO ENCHARCADO). NO HALO ENCHARCADO HÁ ESPESSAMENTO DAS CÉLULAS PELO ACÚMULO DE CELULOSE (E). *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA (F-J). SINTOMAS EM VIDEIRA CV. NIÁGARA ROSADA (F). IMAGEM EM ESTEREOSCÓPIO, INTENSIDADE DE TRICOMAS DE COLORAÇÃO ESBRANQUIÇADA (G). IMAGEM EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA, INTENSIDADE DE TRICOMAS MESMO SOBRE A PÚSTULA (H). CORTE TRANSVERSAL CORADO COM AZUL DE TOLUIDINA (I). CORTE TRANSVERSAL EM CORANTE DE FLUORESCÊNCIA WGA ALEXAFLUOR 488 (FLUORESCÊNCIA EM VERDE) E CALCOFLUOR (FLUORESCÊNCIA EM AZUL), O FUNGO (EM VERDE) COLONIZA ESPAÇOS INTERCELULARES (J).....63

FIGURA 13. RESPOSTA FOTOSSINTÉTICA DE *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO (●) E *V. LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA (○) INOCULADAS COM FERRUGEM DA VIDEIRA (*PHAKOPSORA EUVITIS).* OS VALORES DE TAXA FOTOSSINTÉTICA (A) (A), CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (GS) (B), EFICIÊNCIA DO FOTOSSISTEMA II (PHIPSII) (C) E EFICIÊNCIA INSTANTÂNEA DE CARBOXILAÇÃO APARENTE (K) (D) EM FUNÇÃO DA SEVERIDADE FORAM AJUSTADAS AO MODELO EXPONENCIAL NEGATIVO (Y=A*EXP(-B*X), A LINHA CHEIA REPRESENTA O MODELO PARA *V. VINIFERA* E A LINHA TRACEJADA PARA *V. LABRUSCA.* OS VALORES SÃO DE AMBAS AS REPETIÇÕES DO EXPERIMENTO. 67

FIGURA 14. TAXA RELATIVA DE FOTOSSÍNTESE LÍQUIDA (PX/PO) (A,B), TAXA RELATIVA DE CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (PX/PO) (C,D) E TAXA RELATIVA DE TRANSPORTE APARENTE DE ELÉTRONS (PX/PO) (E,F) EM FUNÇÃO DA SEVERIDADE DE FERRUGEM DA VIDEIRA (*PHAKOPSORA EUVITIS*) EM FOLHAS DE *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO (A,C,E) E *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA (B,D,F)*.* OS DADOS FORAM AJUSTADOS A EQUAÇÃO $PX/PO=(1-SEV)^B$ (BASTIAANS, 1991) (A-F). SÍMBOLO (●), REPRESENTA VALORES DA PRIMEIRA REPETIÇÃO E (○) VALORES DA SEGUNDA REPETIÇÃO.....70

FIGURA 15. VALORES MÉDIOS (EM SÍMBOLOS) E ERRO PADRÃO (EM BARRAS) PARA DIÂMETRO MÉDIO (A, B) E ÁREA (C,D) DA REGIÃO QUE APRESENTOU COLORAÇÃO MARROM PARA REAGENTE DAB (3,3-DIAMINOBENZIDINA) 0,1% PARA INDUÇÃO DE PERÓXIDO (H_2O_2)(A,C) E COLORAÇÃO AZUL PARA REAGENTE NBT (NITROBLUE TETRAZOLIUM) 0,1% PARA INDUÇÃO DE SUPERÓXIDO (O_2^-) (B,D). SÍMBOLOS CHEIOS REPRESENTAM VALORES PARA *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO. SÍMBOLOS VAZIOS REPRESENTAM VALORES PARA *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA..... 73

FIGURA 16. A. FOLHAS TRATADAS COM DAB (3,3-DIAMINOBENZIDINA) 0,1% PARA INDUÇÃO DE PERÓXIDO (H_2O_2). A,B,E,G,I,K. *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO. C,D,F,H,J,L. *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA. A-D.1DAI (B,D. DETALHES: PENETRAÇÃO PELO ESTÔMATO). E,F. 3DAI. G,H. 7DAI. I,J. 10DAI. K,L. 13DAI. OS ESPOROS APRESENTAM COLORAÇÃO MARROM - AMARELADO. 74

FIGURA 17. FOLHAS TRATADAS COM NBT (NITROBLUE TETRAZOLIUM) 0,1% PARA INDUÇÃO DE SUPERÓXIDO (O_2^-). A,C,E,G,I. *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO. B,D,F,H,J. *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA. A,B. 1DAI. C, DIÂMETRO 13 DAI. D. 3DAI. E,F. 7DAI. G,H. 10DAI. I,J. 13DAI. DETALHE: DISCOS FOLIARES COM DOIS CENTÍMETROS DE DIÂMETRO. OS ESPOROS APRESENTAM COLORAÇÃO VIOLETA. 75

FIGURA 18. CORTES TRANSVERSAIS DE FOLHAS SADIAS DE *VITIS VINIFERA* (A,C,E) E *VITIS LABRUSCA* (B,D,F). 91

FIGURA 19. SÍMBOLOS REPRESENTAM OS VALORES MÉDIOS PARA FOLHAS SADIAS E INOCULADAS A CONCENTRAÇÃO DE 10^2, 10^3, 10^4 E 10^5 UREDINIÓSPOROS ML^{-1} DO EXPERIMENTO 1 SOBRE TROCAS GASOSAS PARA: SEVERIDADE DA DOENÇA (EM PROPORÇÃO) (A,B), TAXA DE ASSIMILAÇÃO DE CO_2 (A) (C,D), CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (GS) (E,F), CONCENTRAÇÃO INTERNA DE CO_2 (CI) (G,H) E EFICIÊNCIA DO FOTOSSINTEMA II (PHIPSII) (I,J) PARA *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO (A,C,E,G,I) E *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA (B,D,F,H,J). A INOCULAÇÃO FOI REALIZADA NO DIA 22/08/2016. 92

FIGURA 20. SÍMBOLOS REPRESENTAM OS VALORES MÉDIOS PARA FOLHAS SADIAS E INOCULADAS A CONCENTRAÇÃO DE 10^2, 10^3, 10^4 E 10^5 UREDINIÓSPOROS ML^{-1} DO EXPERIMENTO 2 SOBRE TROCAS GASOSAS PARA: SEVERIDADE DA DOENÇA (EM PROPORÇÃO) (A,B), TAXA DE ASSIMILAÇÃO DE CO_2 (A) (C,D), CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (GS) (E,F), CONCENTRAÇÃO INTERNA DE CO_2 (CI) (G,H) E EFICIÊNCIA DO FOTOSSINTEMA II (PHIPSII) (I,J) PARA *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO (A,C,E,G,I) E *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA (B,D,F,H,J). (NESSE EXPERIMENTO A PRIMEIRA MEDIÇÃO FOI REALIZADA NO DIA ANTERIOR A INOCULAÇÃO). A INOCULAÇÃO FOI REALIZADA NO DIA 05/10/2016. 93

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. VIABILIDADE DE UREDINIÓSPOROS DE *PHAKOPSORA EUVITIS* E CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO (UREDINIÓSPOROS ML^{-1}) UTILIZADA PARA INOCULAÇÃO EM FOLHAS DE *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA PARA ANÁLISE DE EFICIÊNCIA DE DOENÇA E SEVERIDADE DE FERRUGEM RELACIONADOS À TEMPERATURA DO AMBIENTE EM QUE FOI INOCULADO. FORAM REALIZADAS DUAS REPETIÇÕES. 44

TABELA 2. SEVERIDADE DE FERRUGEM (*PHAKOPSORA EUVITIS*) EM FOLHAS DE *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA (12 CM^2) E EFICIÊNCIA DE DOENÇA (NÚMERO DE PÚSTULAS FORMADAS POR ESPOROS DEPOSITADOS) EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E MOLHAMENTO FOLIAR. DADOS DA PRIMEIRA REPETIÇÃO.....46

TABELA 3. SEVERIDADE DE FERRUGEM (*PHAKOPSORA EUVITUS*) EM FOLHAS DE *VITIS LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA (12 CM^2) E EFICIÊNCIA DE DOENÇA (NÚMERO DE PÚSTULAS FORMADAS POR ESPOROS DEPOSITADOS) EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E MOLHAMENTO FOLIAR. DADOS DA SEGUNDA REPETIÇÃO 46

TABELA 4. . PERÍODO DE LATÊNCIA E PERÍODO INFECCIOSO (DIAS) PARA A FERRUGEM DA VIDEIRA (*PHAKOPSORA EUVITIS*) INOCULADAS EM MUDAS DE *VITIS VINIFERA* CV. MOSCATO GIALLO E *V. LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA, NAS DUAS REPETIÇÕES.....55

TABELA 5. ÁREA ABAIXO DA CURVA DE PROGRESSO DA SEVERIDADE DE FERRUGEM (*PHAKOPSORA EUVITIS*) (AACPD) NAS ESPÉCIES DE VIDEIRAS *VITIS VINÍFERA* CV. MOSCATO GIALLO E *V. LABRUSCA* CV. NIÁGARA ROSADA, E EM DIFERENTES IDADES DE FOLHAS INOCULADAS: VELHA (60 DIAS APÓS A BROTAÇÃO), INTERMEDIÁRIA (33 DIAS APÓS A BROTAÇÃO) E JOVEM (24 DIAS APÓS A BROTAÇÃO).....56

TABELA 6. COMPARAÇÃO ENTRE *V. VINIFERA* E *V. LABRUSCA* COM RELAÇÃO À CAPACIDADE DE ESPORULAÇÃO, ESPOROS/PÚSTULA/DIA, ESPOROS ACUMULADOS E GERMINAÇÃO. ANÁLISE ESTATÍSTICA COM DADOS DE AMBAS AS REPETIÇÕES.....58

TABELA 7. COMPARAÇÃO ENTRE FOLHAS DE TRÊS IDADES (VELHA, INTERMEDIÁRIA E JOVEM) COM RELAÇÃO A CAPACIDADE DE ESPORULAÇÃO, ESPOROS/PÚSTULA/DIA, ESPOROS ACUMULADOS E GERMINAÇÃO. ANÁLISE ESTATÍSTICA COM DADOS DE AMBAS AS REPETIÇÕES. 58

1. INTRODUÇÃO

O estado de São Paulo é o terceiro maior produtor de uvas do Brasil, com uma produção de 142 mil toneladas colhidas em uma área de 15,5 mil hectares, o que representa 15 % do total de uvas produzidas no país (INTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE, 2015). Em São Paulo são produzidas uvas de mesa europeias (*Vitis vinifera*) e americanas (*V. labrusca*), entretanto o cultivo de uvas europeias vem sendo reduzido e substituído por uvas americanas. Essa substituição deve-se ao alto custo de produção, maior custo de mão-de-obra, maior quantidade de tratos culturais e menor resistência a doenças (CAPPELLO, 2014). Dentre as principais doenças fúngicas foliares recorrentes em São Paulo está a ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis*) (EMBRAPA, 2015). Esta doença é endêmica no Sudeste e Sul do Brasil, entretanto, devido a sua pouca importância em regiões produtoras de uva em outros países, pouco se conhece sobre o patossistema tanto em videiras europeias quanto em americanas (ANGELOTTI et al., 2008).

Os sintomas de ferrugem caracterizam-se por diminutas pústulas na face inferior das folhas e áreas amareladas em sua face superior, que podem necrosar à medida que as pústulas coalescem. Em condições de severidade elevada, a ferrugem pode causar queda prematura de folhas, afetar a maturação dos frutos e o acúmulo de carboidratos no sistema radicular (AMORIM et al., 2016). Os carboidratos armazenados são necessários para a brotação das gemas após o período de dormência das videiras, e a sua redução pode afetar a produção na safra seguinte (EMBRAPA, 2015).

O controle da ferrugem é feito basicamente com o uso de agroquímicos. Entretanto, não se conhece ao certo o período de suscetibilidade das videiras à doença, e por consequência a época que a ferrugem deve ser controlada. A determinação da suscetibilidade do hospedeiro à ferrugem relacionada aos estádios fenológicos (CARISSE; BOUCHARD, 2010; FICKE et al., 2002), juntamente com as condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da doença (LEITE; AMORIM, 2002) são fundamentais para que as medidas de controle sejam mais eficazes e assim reduzir o uso excessivo de agroquímicos durante o ciclo da cultura.

A suscetibilidade dos tecidos de uma planta a um determinado patógeno pode ser diferente, de acordo com o estádio fenológico em que os tecidos se

encontram. A resistência ontogênica, assim como os diferentes graus de suscetibilidade dos hospedeiros, pode ser medida pela comparação dos componentes monocíclicos do patógeno relacionados aos tecidos do hospedeiro (IMHOFF et al., 1981). Pelos componentes epidemiológicos relacionados a um patossistema é possível mensurar a resistência parcial do hospedeiro a determinada doença (NEERVOORT; PARLEVLIET, 1978). Componentes monocíclicos como o período de latência, eficiência de doença, período infeccioso, capacidade de esporulação e germinação de esporos produzidos (TENG et al., 1977) auxiliam no entendimento de doenças policíclicas, por sintetizarem a epidemia pelos processos do ciclo da relação patógeno-hospedeiro (TENG, 1985; ZADOKS, 1974). Outros componentes epidemiológicos, como severidade e crescimento da lesão, também são importantes no progresso da doença (BERGER et al., 1997).

Além dos componentes epidemiológicos, diferenças sintomáticas e morfo-anatômicas entre tecidos de cultivares ou espécies hospedeiras permitem identificar diferentes mecanismos de resistência entre as relações patógeno-hospedeiro (MARQUES et al., 2010, 2014). Patógenos que colonizam tecido foliar podem causar sintomas que reduzem a área fotossinteticamente ativa, devido a danos ao aparato fotossintético como alterações na estrutura e função dos cloroplastos (SHTEINBERG, 1992), somados ao rompimento da epiderme foliar, o que pode causar um aumento da transpiração (BERGHAUS; REISENER, 1985). Esses danos podem levar a redução na capacidade fotossintética e a queda precoce de folhas (EMBRAPA, 2015).

Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar componentes monociclos da ferrugem em *Vitis labrusca*; e comparar a resistência à ferrugem entre as espécies de videira *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*, por meio de componentes epidemiológicos da doença e alterações anatômicas, sintomatológicas e fisiológicas dos hospedeiros.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. Revisão Bibliográfica

2.1.1. Espécies de videiras

Espécies ancestrais das videiras estavam presentes em todo hemisfério Norte. Entretanto, após o último período glacial, que se encerrou há cerca de dez mil anos, os ancestrais das videiras sobreviveram a glaciação em três centros de refúgio. O centro americano, localizado na região compreendida entre os Estados Unidos e México, onde foram originadas diversas espécies, entre elas *Vitis labrusca*, *Vitis vulpina, Vitis rupestris, Vitis rotundifolia.* O centro de refúgio euroasiático, localizado na região do Cáucaso, onde foi originado uma única espécie, a *Vitis vinifera* e o centro asiático, onde foi originada a espécie *V. amurensis* (KELLER, 2010). A videira europeia *V. vinifera* foi disseminada pelos Persas por toda Ásia Menor, dando início ao cultivo de parreiras na Síria e Egito e posteriormente sendo disseminadas por gregos e romanos por toda Europa (SOUZA, 1996).

A família Vitaceae tem aproximadamente 1000 espécies que estão incluídas em 17 gêneros. O nome Vitaceae é devido à maioria dos exemplares serem trepadeiras, lianas (do latim viere = fixar), seus frutos podem apresentar de 0 a 4 sementes. O gênero *Vitis* apresenta 2n=38 cromossomos, sendo as flores unissexuais. O predomínio do gênero é em regiões de clima temperado ou subtropical. A espécie mais plantada no mundo é a *V. vinifera* e os diferentes cultivares atendem o mercado de fruta fresca e a produção de vinhos e espumantes. A maioria das videiras americanas é utilizada em todos os países produtores como porta-enxerto, pois são resistentes a filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*) e em alguns países, como o Brasil, algumas espécies, como a *V. labrusca*, são plantadas como copa para produção de uva para o mercado de fruta fresca, produção de suco e vinhos comuns. As cultivares europeias, em geral apresentam boa qualidade dos frutos, entretanto menor resistência a pragas e doenças. As cultivares americanas apresentam características variáveis com relação aos frutos, no entanto sua resistência a pragas e doenças é maior (KELLER, 2010).

Dentre as cultivares de *Vitis vinifera* está a cv. Moscato Giallo, também conhecida como cv. Moscatel branco, cultivada desde a Grécia antiga. No Brasil, seu cultivo é encontrado no sul do país. Essa cultivar apresenta brotação tardia,

importante para evitar regiões de geadas, além de ser bastante vigorosa. Com relação à incidência de doenças, a cv. Moscato é suscetível a doenças fúngicas como podridões do cacho. A cultivar americana Niágara, (*Vitis labrusca*) foi originada do cruzamento de Concord x Cassady, ambas *V. labrusca*. Trazida dos EUA para o Brasil por volta de 1910, a cv. Niágara Branca sofreu mutação somática originando a cv. Niágara Rosada. A cultivar Niágara Rosada tem vigor médio e resistência a maioria das doenças fúngicas. A face inferior das folhas apresenta coloração branco-amarelada devido à pilosidade intensa (SOUZA, 1996).

2.1.2. Viticultura

O Brasil é o oitavo país produtor mundial de uvas, com uma produção de 1,5 milhões de toneladas (FAO, 2015). O estado de São Paulo é o terceiro maior produtor de uvas do país, com 142 mil toneladas, das quais 99,2% são destinadas ao mercado de fruta fresca (IBGE, 2015).

A uva ‘Niágara Rosada’ (*Vitis labrusca)* vem sendo plantada no estado de São Paulo em detrimento a cultivares de uvas de mesa de origem europeia (*Vitis vinifera*). Essa substituição se deve a boa aceitação da ‘Niágara Rosada’ no mercado interno (TECCHIO et al., 2011), a menor necessidade de tratos culturais, como o raleio de bagas, e maior resistência a algumas doenças fúngicas (FRACARO; PEREIRA, 2004), o que reduz o custo com o controle e consequentemente o custo de produção (COSTA et al., 2012).

2.1.3. Ferrugem da videira

A ferrugem da videira, cujo agente causal é o fungo *Phakopsora euvitis*, apresenta como sintomas pústulas urediniais de coloração amarelada na face abaxial e na face adaxial são formadas lesões necróticas (AMORIM et al., 2016). Em estádios mais avançados da doença aparecem télias, de coloração marrom, próximas as urédias (TESSMANN et al., 2004). As urédias são formadas na camada da subepiderme, apresentam formato arredondado, com grandes paráfises na periferia, são agregadas e quando maduras, rompem as camadas da epiderme para

liberação dos urediniósporos. Esses esporos apresentam equínulas e 4 a 6 poros germinativos equatoriais (ONO, 2000).

Por ser uma doença de final de ciclo, as lesões que ocorrem nas folhas podem levar à desfolha precoce, queda da produtividade e redução na qualidade dos frutos (ONO, 2000). Quando recorrente, após a colheita dos frutos, a doença pode afetar o acúmulo de reservas de carboidratos no sistema radicular da videira antes do período de dormência (ANGELOTTI, 2006). O acúmulo de amido nas raízes no final do ciclo vegetativo é fundamental para que na primavera seguinte a planta produza novos ramos (SIMÃO, 1998). A desfolha precoce, portanto, além de prejudicar a formação dos frutos da safra, também pode afetar a produção da safra seguinte (ANGELOTTI, 2006).

O fungo *P. euvitis* possui hospedeiros alternativos, como algumas espécies de *Ampelocissus* na Austrália (DALY et al., 2005) e *Meliosma myriantha* na Ásia (AMORIM et al., 2016). No hospedeiro alternativo ocorrem as fases basidial e espermogonial do fungo. O hospedeiro alternativo é importante em regiões onde há longos períodos de seca, pois permite que o fungo sobreviva em tecidos verdes. Na estação seguinte o fungo tem a possibilidade de infectar novamente *Vitis* spp. Entretanto, as fases basidial e espermogonial da P. euvitis só foram encontradas na Ásia e Oceania. Assim supõe-se que o centro de origem da doença seja o leste asiático e que a doença possa ter migrado para o Norte da América antes do surgimento e especialização das fases (ONO, 2000).

No Brasil, a ferrugem da videira foi relatada em 2001 na cidade de Jandaia do Sul, no estado do Paraná. No estado de São Paulo a doença foi constatada em 2003 (TESSMANN et al., 2004).

2.1.4. Suscetibilidade de espécies de videiras à ferrugem

A variação genotípica entre cultivares pode influenciar no grau de resistência a doenças (KRANZ, 2003). Hennessy et al. (2007) testaram a suscetibilidade de diferentes cultivares de videiras à ferrugem comparando o número de pústulas nas folhas. A maioria dos genótipos testados foi classificada como suscetível ou altamente suscetível. Os genótipos que foram classificados com algum nível de resistência foram os de origem americana, utilizados como porta-enxertos. A cultivar Moscato (*Vitis vinifera*), foi classificada como suscetível. Angelotti et al., (2008)

avaliaram a resistência de diferentes genótipos utilizados no Brasil a ferrugem da videira, por meio do número de pústulas por cm^2, diâmetro da pústula, número de urediniósporos por pústula e período de latência, sendo a cultivar Niágara Rosada (*Vitis labrusca*) classificada como altamente suscetível.

Diferenças genotípicas podem ser observadas por meio de comparações morfológicas entre as espécies. Cultivares de *Vitis vinifera* apresentam menos de 250 estômatos mm^{-2}, enquanto que em cultivares de *Vitis labrusca* esse número é superior a 300 estômatos mm^{-2}. Os estômatos estão localizados na face abaxial das folhas (KELLER, 2000). Em *Vitis labrusca* há uma grande densidade de tricomas na face abaxial, enquanto que em *Vitis vinifera* esses são quase ausentes (KORTEKAMP; ZYPRIAN, 1999). As variações morfológicas podem influenciar na suscetibilidade de cultivares e espécies a doenças.

2.1.5. Resistência do hospedeiro a doenças de plantas

A resistência ontogênica relaciona a suscetibilidade de um tecido da planta à idade desse tecido (CARISSE; BOUCHARD, 2010; KRANZ, 1996). A suscetibilidade pode estar associada ao estádio fenológico em que se encontra o hospedeiro e envolve mecanismos físicos e bioquímicos do sistema de defesa (CALONNEC et al., 2013).

Entre as doenças que causam danos à videira, a resistência ontogênica foi observada em oídio (*Uncinula necator*) e em míldio (*Plasmopara viticola*) em cachos de uva (GADOURY et al., 2001; KENNELLY et al., 2005) Para o oídio, cachos com bagas de diâmetros superiores a 6 mm apresentam menor severidade (GADOURY et al., 2001). Uma explicação seria o aumento dos sólidos solúveis nos frutos ao longo do tempo o que pode impedir a formação de hifas secundárias (FICKE et al., 2002). Os genótipos que apresentaram maior resistência com relação à idade das bagas foram os de origem americana. Supõe-se que esses genótipos tenham desenvolvido alguns mecanismos de resistência devido à coevolução entre essas espécies de videira e o patógeno (GEE et al., 2008). Os diferentes níveis de resistência a doenças estão relacionados à interação entre os patógenos e os tecidos do hospedeiro, tanto em função de variações morfológicas ou anatômicas como bioquímicas e fisiológicas (VANDERPLANK, 1984). Alguns fatores relacionados à resistência do hospedeiro como a espessura da cutícula foliar,

presença de tricomas e atividade fisiológica podem afetar nos processos de infecção e esporulação (LALANCETTE et al., 1987; SACHE, 1997; ZADOKS, SCHEIN, 1979).

As diferenças na microestrutura foliar de videiras, como a espessura foliar, a densidade, o formato e densidade de tricomas e estômatos pode indicar sua adaptabilidade a adversidades como, por exemplo, o estresse hídrico e ataque de patógenos (MONTEIRO et al., 2013). As folhas da videira são pentalobadas e apresentam cinco principais feixes vasculares. O sistema principal de feixes vasculares origina veias menores que estão interconectadas formando aréolas de 2 mm de diâmetro, sendo as menores com cerca de 10 µm de diâmetro, as quais podem envolver até 10 células (KELLER, 2010). As folhas de diferentes idades também podem apresentar diferentes características anatômicas. Em folhas jovens de *Vitis vinifera*, com idade de 5 a 10 dias, o mesofilo é mais compacto com menor número de espaços intercelulares, enquanto que em folhas completamente expandidas, com 11 a 16 dias de idade, o número de espaços intercelulares aumenta. Em folhas em senescência, com mais de 76 dias há um aumento na espessura do mesofilo e grande incidência de inclusões de cristais (KRIEDEMANN et al., 1970).

Para o míldio da videira, esporângios de *Plasmopara viticola* se fixam em superfícies hidrofóbicas, o que evita seu desprendimento pela água ou pelo vento. A presença nas folhas de tricomas retorcidos contendo substâncias hidrofóbicas aumenta a área de contato e consequentemente a retenção desses esporângios. Entretanto, há um menor contato da água com a epiderme, o que desfavorece o processo infectivo pelos zoósporos, os quais precisam de água livre para a infecção. Portanto, a presença de tricomas é um mecanismo de resistência do hospedeiro, pois limita a infecção desse patógeno apenas por meio de esporângios (KORTEKAMP; ZYPRIAN, 1999).

O processo de infecção consiste em uma série de mudanças morfológicas do fungo, como germinação do esporo, formação do apressório e penetração da hifa por estômatos ou pela cutícula e parede celular (SCHUCK, 2006). No caso de penetração direta, a cutícula foliar é a primeira barreira mecânica contra o ataque de patógenos e injúrias físicas e químicas. A cutícula repele a germinação do esporo e reduz a disponibilidade de nutrientes para o patógeno (KELLER, 2000). Um exemplo é o oídio do morangueiro (*Podosphaera aphanis*), onde a penetração depende da

espessura da cutícula foliar, assim como a quantidade de enzimas presentes na cutina da folha (CARISSE; BOUCHARD, 2010).

McLean (1979) relacionou os sintomas e a colonização de *Phakopsora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática da soja, a cultivares com diferentes níveis de resistência. Em cultivares suscetíveis há a formação de apressório e ocorre penetração diretamente pelas células da epiderme. No parênquima paliçádico ocorrem ramificações das hifas, colonização dos espaços intercelulares e formação de haustórios. Em cultivares resistentes ocorre penetração direta e quatro dias após a infecção observa-se sintomas necróticos em volta do sítio de infecção, caracterizando uma resposta de hipersensibilidade.

A resposta de hipersensibilidade consiste na presença de espécies reativas de oxigênio (ROS) e pode causar morte programada das células ao redor do local de penetração (BOSO et al., 2010). Outras funções das ROS são o fortalecimento da parede celular do hospedeiro pela diminuição da passagem de solutos e a regulação da expressão gênica por meio da ativação do sistema de defesa (BALBI-PEÑA et al., 2012; BALDO et al., 2011). Geralmente ocorre um maior acúmulo de peróxido de hidrogênio em hospedeiros resistentes. O acúmulo ocorre cerca de 24 horas após a inoculação e a sua frequência aumenta conforme o tempo. As células que sofreram morte celular são rodeadas por células vivas que estão produzindo peróxido de hidrogênio. Entretanto, há ocorrência de um balanço entre as ROS [peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ânion superóxido (O^{2-})] que restringem a morte celular (BALBI-PEÑA et al., 2012). Para patógenos necrotróficos a produção de enzimas é fundamental durante o processo de infecção, ao contrário dos biotróficos onde a penetração geralmente é mecânica exercida pelo apressório. Entretanto, fungos biotróficos também produzem enzimas que degradam da cutícula do hospedeiro (BELLINCAMPI et al., 2014).

A resposta de hipersensibilidade consiste na morte celular programa, sendo um importante mecanismo de defesa para biotróficos já que obtém nutrientes provenientes do metabolismo do hospedeiro. Para fungos necrotróficos a reação de hipersensibilidade pode facilitar a colonização. Nesse caso o mecanismo de defesa da planta é utilizado na sua patogenicidade (GOVRIN; LEVINE, 2000). Com a morte celular no sítio de infecção a planta começa a produzir enzimas peroxidase na região ao redor da reação de hipersensibilidade para impedir a morte de novas células. Nessa região, também, é observado um acúmulo de compostos fenólicos,

relacionados com mecanismos de defesa do hospedeiro (KORTEKAMP; ZYPRIAN, 2003).

Keogh et al. (1980) observaram que no patossistema soja-*P. pachyrhizi* a síntese de fitoalexinas ocorre primeiro nas cultivares mais resistentes e há uma maior espessura das células do parênquima paliçádico na região próxima ao local de infecção. Assim como o sucesso da infecção, o tamanho das pústulas também depende da resposta das células hospedeiras próximas ao local de infecção (SHANER, 1978). Para cultivares de *V. vinifera* resistentes ao míldio (*Plasmopara viticola*) foi observada a formação de calose ao redor dos estômatos, entretanto, não foi observada uma região necrótica. A formação de região necróticas em plantas da família Vitaceae é comum devido à rápida síntese de componentes fenólicos como flavanóides e fitoalexinas (GINDRO et al., 2003). A estrutura do mesofilo também pode influenciar na colonização do patógeno nos tecidos do hospedeiro. Um mesofilo muito denso, com poucos espaços intercelulares, pode dificultar o crescimento micelial (BOSO et al., 2010).

2.1.6. Epidemiologia comparativa entre espécies de hospedeiros

A mensuração dos componentes epidemiológicos é fundamental para comparação e definição dos níveis de resistência de hospedeiros a determinado patógeno (NEERVOORT; PARLEVLIET, 1978). Entretanto, cada patossistema tem o curso de sua epidemia sendo mais influenciado por alguns desses componentes. Em alguns casos pode haver correlações entre frequência de infecção, período de incubação, diâmetro da lesão, índice de esporulação e área lesionada (MEHAN et al., 1994). Dessa forma é importante mensurar cada um deles separadamente.

2.1.6.1. Período de latência

O período de latência consiste no período entre a infecção e o aparecimento de estruturas reprodutivas do patógeno. No caso da ferrugem da videira este período termina com o início da esporulação das pústulas. Com o período de latência pode-se calcular quantos ciclos do patógeno ocorrem em um ciclo da cultura (KRANZ, 1996; ZADOKS, SCHEIN, 1979) e comparar diferentes cultivares em

relação à resistência a determinado patógeno (AMORIM; PASCHOLATI, 2011). Folhas de diferentes idades podem apresentar diferentes períodos de latência, o que permite classificá-las quanto à resistência ao patógeno (PARLEVLIET, 1979).

O cálculo do período de latência pode ser feito pelo período entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões. Para sua determinação, o número de lesões esporulantes é contado quando a primeira lesão esporular até o momento que não é observado um aumento no número de lesões por dois dias consecutivos. Para ferrugem da alfafa (*Uromyces striatus*), o aparecimento e a estabilização do número de pústulas leva um maior período de tempo quando as temperaturas no período de pós-infecção são mais baixas, embora ela não influencie na eficiência de doença (WEBB; NUTTER JR., 1997).

2.1.6.2. Eficiência de doença

A eficiência de doença consiste na razão entre o número de lesões visíveis e o número de esporos viáveis depositados sobre a superfície do tecido vegetal (KRANZ, 1996). Lalancette et al., (1987), assim como Schein e Rotem (1965) denominam eficiência de doença como eficiência de infecção. Para míldio da videira essa razão foi de 0,06 lesões por zoósporos inoculados na cultivar Catawba (*V. labrusca*). Com o aumento da concentração de inóculo, há um aumento na severidade do míldio, entretanto a eficiência de doença não sofre alterações. Isto pode ocorrer supondo que dois ou mais zoósporos penetrem em um mesmo estômato, além do que pode ocorrer competição entre os zoósporos no início da infecção (LALANCETTE et al., 1987).

Para a ferrugem da videira, o cálculo da eficiência de doença pode ser influenciado pela concentração do inóculo (ANGELOTTI, 2006). Elevadas concentrações de inóculo dificultam a avaliação, pois pode ocorrer múltiplas infecções e causar coalescência entre as lesões. Alterações na fisiologia da folha como composição dos aminoácidos podem influenciar nos processos de infecção e desenvolvimento do patógeno (SAMBORSKI; FORSYTH, 1960), por isso não é desejável avaliar a eficiência de doença em folhas destacadas.

O conceito de eficiência de doença também foi utilizado para expressar a influência da temperatura e duração do molhamento foliar na ocorrência de míldio da videira (LALANCETTE et al., 1988b). No patossistema *Blumeria graminis* - cevada, a

eficiência de doença é influenciada pelo estádio fenológico. Com o aumento do número de folhas expandidas pode-se observar uma redução da eficiência de doença. Isso se explica pela resistência ontogênica e pelas alterações do microclima, já que a ocorrência de oídio é favorecida pela maior luminosidade e menor umidade. Folhas velhas são mais resistentes e pode ser observada uma redução na produção de hifas (HAU, 1985).

2.1.6.3. Período infeccioso

O período infeccioso consiste no tempo entre o início da esporulação e o momento em que a lesão para de esporular (TENG; CLOSE, 1978). A influência do período infeccioso sobre o ciclo secundário da doença é um importante parâmetro epidemiológico para a continuidade da epidemia. No período infeccioso é possível avaliar a capacidade de esporulação e a viabilidade de esporos (KRANZ, 1996). Entretanto, verifica-se uma dificuldade na estimativa acurada do final do período infeccioso devido ao formato assintótico da curva que descreve a esporulação. No caso de patógenos com um longo período infeccioso, esse fator é uma forma de sobrevivência do patógeno, mesmo com baixa intensidade da esporulação (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996; MEHTA; ZADOKS, 1970).

2.1.6.4. Capacidade de esporulação

A capacidade de esporulação consiste no número de esporos produzidos por lesão por dia (KRANZ, 1996). A esporulação pode variar de acordo com a temperatura em que as lesões se encontram. Para *Puccinia hordei* a somatória de esporos produzidos por dia durante o período infeccioso é maior para temperatura ambiente de 20 °C e o pico de produção de urediniósporos ocorre próximo ao quarto dia do período infeccioso e depois decresce (TENG; CLOSE, 1978). Para *Puccinia recondita* f.sp. triticina, o pico de esporulação ocorre próximo ao décimo dia do período infeccioso e em seguida a esporulação decresce (MEHTA; ZADOKS, 1970; SACHE, 1997;BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996).

Patógenos com um padrão de um pico de esporulação ocorrem em maior intensidade nas regiões de clima temperado. Nesse clima, o patógeno deve liberar

um maior número possível de esporos antes que se iniciem condições climáticas desfavoráveis a sua sobrevivência como, por exemplo, uma geada. Os patógenos que apresentam este tipo de padrão de esporulação tendem a apresentar uma maior taxa aparente de infecção e consequentemente um maior número de lesões e esporos, sendo caracterizadas como epidemias explosivas. Entretanto, existem patógenos que apresentam diversos picos ao longo do período infeccioso. Esse padrão de esporulação é caracterizado como do tipo intermitente (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). O fungo *P. pachyrhizi* assim como *Uromyces appendiculatus* apresentam esse tipo de padrão (MELCHING et al., 1979; MENDES; BERGAMIN, 1989). Patógenos de clima tropical apresentam uma quantidade razoável de esporos produzidos por um longo tempo visando a sua sobrevivência. A estratégia utilizada por patógenos de clima tropical para sua sobrevivência é sempre produzir esporos. A hostilidade enfrentada em clima tropical consiste em temperaturas mais altas e muitas vezes baixa umidade relativa do ar, características ambientais que desfavorecem a germinação dos esporos (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). A germinação dos esporos diminui conforme há aumento da temperatura do ar (SCHEIN; ROTEM, 1965). Por isso, patógenos de clima tropical tendem a apresentar uma maior continuidade de inóculo (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996; VANDERPLANK, 1984).

2.1.6.5. Viabilidade de esporos

A viabilidade de esporos consiste na capacidade de novos esporos em gerar novas lesões. A viabilidade de esporos também é chamada de eficiência de contágio e pode sofrer influência de vários fatores como a resistência do hospedeiro e as condições ambientais, dentre elas temperatura e umidade (KRANZ, 1996).

Os fatores que influenciam na germinação de esporos podem ser internos e externos. Dentre os fatores internos estão a maturidade, a longevidade e a vitalidade dos esporos. A maturidade dos esporos está relacionada a idade fisiológica, ou seja, mesmo ocorrendo seu desprendimento do hospedeiro não ocorrerá germinação se esses ainda não estiverem maduros. A longevidade dos esporos dependente da quantidade de nutrientes armazenada pelo esporo antes de ser destacado no hospedeiro. A vitalidade é um fator pouco conhecido sendo influenciado pelos fatores externos. Entre os fatores externos estão a temperatura, a umidade, a

presença de oxigênio, a luz, as substâncias nutritivas e as substâncias tóxicas, como os fungicidas. A umidade é o fator mais importante, pois pode influenciar na vitalidade do esporo. Com relação à quantidade de oxigênio, muitas vezes sua ausência acarreta competição e auto inibição entre esporos (DORAN, 1922). Para *Rhizopus stolonifer* a solução nutritiva liberada por pêssegos com ferimentos estimula a germinação de seus esporos, o que acaba por favorecer a penetração (BAGGIO et al., 2016). Para *Phakopsora euvitis* foi observado que a presença de luz inibe a germinação dos urediniósporos (ANGELOTTI et al., 2014). A temperatura do tecido hospedeiro também pode influenciar na vitalidade, folhas que estão mais ao topo do dossel recebem maior intensidade de luz, o que pode diminuir a germinação dependendo do patógeno (IMHOFF et al., 1981). Para *Plasmopara viticola*, a infectividade dos esporângios produzidos sofre influência das condições ambientais, como a temperatura e molhamento foliar, sendo o molhamento essencial para germinação (LALANCETTE et al., 1988a). Portanto, quanto mais próximas do ótimo estiverem às condições ambientais mais rápido os esporos germinam (DORAN, 1922).

2.1.6.6. Severidade da doença

A severidade consiste na proporção de área lesionada pelo patógeno em relação à área sadia do hospedeiro (AMORIM; BERGAMIN FILHO, 2011). A severidade é uma importante ferramenta para avaliação de doenças (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). Valores de severidade ao longo do tempo podem ser ajustados a modelos matemáticos que permitem a comparação entre epidemias por meio dos parâmetros gerados. A presença de mecanismos de resistência do hospedeiro pode atuar na taxa de crescimento da doença, o que faz que o crescimento da epidemia seja mais lento. Por meio das taxas de crescimento obtidas nas curvas de progresso é possível comparar suscetibilidade de hospedeiros em relação a doenças (VANDERPLANK, 1984; BASSANEZI et al., 1998; SPÓSITO et al., 2004).

2.1.6.7. Crescimento da lesão

O crescimento da lesão consiste na colonização de áreas ao redor da lesão. Essa estratégia de sobrevivência não depende de condições ambientais que favoreçam a infecção (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996) e dispensa a passagem por novos períodos de latência, que ocorrem quando há novas infecções (BERGER et al., 1997). O número de locais disponíveis para infecção também reduz conforme há crescimento da lesão, o que acaba por diminuir as chances de reinfecção. A taxa de crescimento da lesão tende a cair conforme há maturação, de modo a atingir a coalescência entre as lesões ou quando ocorre senescência da planta por condições climáticas adversas. O crescimento da lesão também pode ser chamado de zona de esporulação (EMGE et al., 1975).

Em *Phakopsora pachyrhizi* é observado um aumento no número médio de pústulas ao longo das semanas. A formação de áreas necróticas ao redor do sítio de infecção sugere que há conexão entre as urédias da região necrótica e as urédias da borda das pústulas, já que é necessária a passagem de nutrientes para pústulas da região necrosada. Assim é possível dizer que o surgimento de novas urédias por lesão é um mecanismo de crescimento de lesão para esse tipo de ferrugem (MELCHING et al., 1979).

O tamanho da lesão é um importante componente de resistência para vários patossistemas, o que o torna útil para definir agressividade de isolados ou raças de patógenos e resistência entre cultivares. Assim a seleção de cultivares resistentes pode ser feita com base em um número inicial de lesões e na taxa de crescimento da lesão (BERGER et al., 1997).

2.1.7. Relação entre doenças foliares e trocas gasosas em hospedeiros

Fungos causadores de ferrugens podem causar redução da taxa fotossintética nas áreas afetadas pelas lesões ou em regiões adjacentes às pústulas colonizadas pelo micélio do patógeno (SCHOLES; FARRAR, 1986). A transpiração de folhas infectadas por ferrugens pode ser alterada devido ao rompimento do tecido foliar causado pela emergência de pústulas ou alteração do fechamento estomático (SHTEINBERG, 1992). Alterações na difusão de CO_2 no mesofilo se deve a obstrução dos espaços intercelulares sendo ocupados por hifas e pela hipertrofia de células (SCHOLES; FARRAR, 1986). Bassanezi et al. (2002) observou que durante o monociclo da ferrugem do feijoeiro a condutância estomática foi inferior em folhas

sintomáticas quando comparada com folhas sadias, entretanto não houve relação com a severidade da doença. Em trigo os valores de taxa fotossintética e o peso de mil grãos foram inferiores para uma cultivar resistente a *Fusarium graminearum*, o que demonstra um maior custo fisiológico da cultivar resistente quando comparado com uma cultivar suscetível (YANG et al., 2016).

A taxa fotossintética também foi medida para cultivares de trigo com diferentes níveis de suscetibilidade a ferrugem no colmo do trigo (*Puccinia graminis* f.sp. tritici). Para as cultivares altamente resistentes foi observada uma tardia redução da fotossíntese quando comparado com plantas sadias. Para essas cultivares foi observado uma redução do conteúdo de clorofila devido à defesa da planta por resposta de hipersensibilidade. Para cultivares classificadas como resistentes (apresentam áreas cloróticas e necróticas nas folhas) houve um pequeno aumento na taxa fotossintética seguida de uma queda brusca chegando a valores nulos. Para cultivares moderadamente resistentes houve formação de ilhas verdes e as taxas fotossintéticas nunca ultrapassaram as taxas de plantas sadias e sempre caem chegando à zero. Para cultivares suscetíveis, as urédias foram maiores comparadas as cultivares resistentes, ocorrendo visível perda da clorofila e a fotossíntese decresceu chegando a valores muito próximos a zero (BERGHAUS; REISENER, 1985).

Ilha verde é um fenômeno caracterizado pela retenção de pigmento, como a clorofila, ao redor da pústula. Para patógenos biotróficos a ocorrência de ilhas verdes é um benefício porque prolonga a vida das células hospedeiras, sendo a senescência retardada. O fenômeno é observado quando as epidemias não são severas e a densidades de pústulas é baixa. Nessa região ocorre um acúmulo de citolisinas, o que provoca maior estímulo na síntese de proteínas. Em folhas de cevada infectadas com *Puccinia hordei*, a formação de ilhas verdes ocorre no início do aparecimento dos sintomas, e a taxa fotossintética pode ser 30% maior quando comparada a folhas sadias, entretanto posteriormente a taxa fotossintética cai cerca de 40 a 45% (SCHOLES; FARRAR, 1986). Entretanto, em folhas de mirtilo infectadas com *Uromyces muscari* ocorre uma redução da taxa fotossintética na região do tecido onde foi observada a presença de ilhas verdes quando comparado à região do tecido com pústulas esporulantes (WALTERS et al., 2008).

Diferentes idades de folha também podem alterar a taxa fotossintética. Folhas de diferentes idades de *Vitis vinifera* cv. Sultana apresentaram diferenças na

taxa fotossintética, ocorrendo o pico quando as folhas alcançaram cerca de 30 dias de idade. Nesse mesmo período a folha atinge o pico máximo de assimilação de carbono e o pico máximo de concentração de clorofila. Assim, conforme as folhas se tornam maduras, absorvem mais radiação e a concentração de clorofila aumenta (KRIEDEMANN et al., 1970).

2.2. Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Epidemiologia do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, em Piracicaba, São Paulo. Para a execução dos experimentos foram utilizadas mudas da cultivar de uva europeia Moscato Giallo (*Vitis vinifera*) enxertadas em 'SO4' e da cultivar de uva americana Niágara rosada (*Vitis labrusca*) enxertadas em 'IAC 766-Campinas'.

2.2.1. Manutenção e inoculação de *Phakopsora euvitis*

As mudas de *V. vinifera* e *V. labrusca* foram cultivadas em vasos de 7 L e 35 cm de altura, contendo substrato estéril de terra argilosa, esterco de curral e areia, na proporção 1:1:1, e conduzidas em haste única. As mudas foram adubadas uma vez por mês com 5 g de adubo formulado (NPK – 10-10-10). Parte das mudas, ao atingir nove folhas expandidas, foi utilizada na manutenção do inóculo de *Phakopsora euvitis*.

O inóculo utilizado nos experimentos foi obtido de folhas de *V. labrusca* cv. Niágara Rosada com sintomas de ferrugem, da área experimental do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, em Piracicaba, São Paulo. As folhas com sintomas de ferrugem foram levadas ao laboratório para a coleta dos urediniósporos com o auxílio de um pincel e a suspensão de esporos foi calibrada na concentração de 10^4 urediniósporos mL^{-1}, com o auxílio de uma câmara de Neubauer. A suspensão de esporos foi aspergida na face abaxial das folhas de cinco mudas de cv. Niágara rosada, as quais foram por 24 horas mantidas em câmara úmida a 25 °C, no escuro (ANGELOTTI et al., 2014). Para a manutenção do inóculo no hospedeiro, a cada três semanas três mudas

foram inoculadas. O inóculo produzido nessas mudas foi utilizado nos experimentos e em inoculações subsequentes para continuidade da manutenção do inóculo.

2.2.2. Eficiência de doença e severidade de ferrugem em *Vitis labrusca* cv. Niágara rosada em diferentes concentrações de inóculo, temperaturas e molhamento foliar

Mudas de uva *V. labrusca* cv. Niágara rosada com aproximadamente 30 dias após a brotação das gemas e com cerca de 10 folhas expandidas foram colocadas horizontalmente no solo, sob condição controlada, e tiveram suas folhas fixadas em placas de isopor com a face abaxial voltada para cima (Figura 1B). A área de inoculação foi limitada com a fixação, nas folhas, de molduras de borracha com área interna de 12 cm^2. Em cada área foram depositados 2 mL da suspensão de esporos contendo Tween 20 a 0,02%, e espalhada com ajuda da alça de Drigalski, para uma melhor distribuição da suspensão sobre o tecido foliar. Para a formação de câmara úmida, as áreas inoculadas foram fechadas com o uso de fita plástica (Figura 1C). Após 24 horas a fita plástica foi retirada e os tecidos inoculados foram fotografados 14 dias após a inoculação, para avaliação do número de lesões e área lesionada do tecido (severidade da doença). Para verificação da viabilidade dos urediniósporos da suspensão utilizada foi realizado um teste de germinação, em três placas de Petri, contendo cada uma três gotas da suspensão de inóculo e após 24 horas foi realizada a avaliação da germinação em 100 esporos por gota.

Foram realizados dois experimentos, sendo o primeiro para avaliar a temperatura e o período de molhamento foliar relacionados à eficiência de doença e o segundo para avaliar a concentração de esporos inoculados relacionada à eficiência de doença. O primeiro experimento foi repetido duas vezes, sendo na primeira repetição utilizada a concentração de inóculo de 10^4 urediniósporos mL^{-1} e na segunda repetição, a concentração de inóculo de 5 x 10^3 urediniósporos mL^{-1}. As mudas foram mantidas em câmaras de crescimento a temperaturas de 15, 20, 25, 30 °C em combinação com períodos de molhamento de 6, 12, 18 e 24 horas no escuro. Após o término dos diferentes períodos de molhamento, as mudas foram colocadas em câmaras de crescimento a 25 ºC por 14 dias, para avaliação dos sintomas. Foram utilizadas três mudas por combinação de molhamento foliar e temperatura e em cada muda foram inoculadas três folhas. Após 14 dias em cada

área delimitada pela moldura foram realizadas fotografias para contagem do número de pústulas com auxílio do software IMAGE J 1,51e (SCHNEIDER et al., 2012) e quantificação da severidade com auxilio do Quant (VALE et al., 2003). A eficiência de doença foi calculada com base no número de pústulas formadas por concentração de inóculo em cada um das temperaturas e período de molhamento foliar.

Com os dados de eficiência de doença de ambos os experimentos foi elaborada uma superfície de resposta com ajuste ao modelo beta-monomolecular (CAMPBELL, MADDEN;1990; BASSANEZI et al. 1998):

Y(T)=Yopt*(((T-Tmin)/(Topt-Tmin))^(B3*((Topt-Tmin)/(Tmax-Topt)))

(((Tmax-T)/(Tmax-Topt))^B3))(b1*(1-b2*(exp(-r*M)))), em que Y(T) é a eficiência de doença; Yopt é o valor de eficiência de doença na temperatura ótima (valor máximo de eficiência de doença); T é a temperatura em °C; Tmin é a temperatura mínima; Tot é a temperatura ótima; Tmax é a temperatura máxima; B3 corresponde à amplitude da curva na sua faixa assintótica; b1 e b2 são parâmetros do modelo; r está relacionado com a velocidade de aumento da eficiência de doença em função do período de molhamento e temperatura; e M é o período de molhamento em horas.

Os dados foram analisados com auxílio do software SAS (Statistical Analysis System) e os parâmetros estimados pelo modelo para eficiência de doença foram comparados pelo Statistica 7.0 (StatSoft, Tulsa, E.U.A). A superfície de resposta foi plotada com auxílio do software PLOT IT 3.2. Os demais gráficos foram plotados com auxílio do software SigmaPlot 10.0 (Systat Software, San Jose, CA, USA).

No segundo experimento as concentrações utilizadas para as inoculações foram 10^2, 10^3, 10^4 e 10^5 urediniósporos mL^{-1}. As mudas foram mantidas em câmara úmida a temperatura de 25 °C por 24 horas no escuro. Após esse período retirou-se a câmara úmida e as plantas foram transferidas para casa de vegetação e mantidas em temperatura ambiente. Em cada uma das 10 mudas (com nove folhas expandidas, cerca de um mês após a poda) foi inoculada uma folha por concentração, sendo inoculadas quatro folhas por planta, entre a primeira e quarta folha mais velha. Portanto, para cada concentração utilizada foram inoculadas 10 folhas.

Após 14 dias em cada área delimitada pela moldura foram realizadas fotografias para contagem do número de pústulas com auxílio do software IMAGE J

1,51e (SCHNEIDER et al., 2012) e quantificação da severidade com auxílio do software Quant (VALE et al., 2003). Após fotografar as áreas, em cada área delimitada foram coletados os esporos formados nas pústulas com a ajuda de um pincel e 5 mL de água destilada. O conteúdo foi colocado em um tubo de ensaio com 20 µL de lactoglicerol. Para contagem dos esporos, o tubo de ensaio foi agitado por 30 segundos e em seguida foi retirada uma alíquota da suspensão. A contagem de esporos foi feita em câmara de Neubauer, sendo calculado o número médio de esporos produzidos por lesão. O experimento foi realizado duas vezes.

Foram avaliadas correlações entre o número de esporos e o número de pústulas, entre a severidade e o número de pústulas e entre o número de esporos e a severidade. Os dados foram analisados com auxílio do software Statistica 7.0 (StatSoft, Tulsa, E.U.A) e foram plotados com auxílio do software SigmaPlot 10.0 (Systat Software, San Jose, CA, USA).

2.2.3. Epidemiologia comparativa de ferrugem em *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*

Seis mudas de *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo e seis mudas de *Vitis labrusca* cv. Niágara rosada foram podadas e tiveram as folhas recém-expandidas marcadas a cada semana. Após dois meses da poda, as mudas foram inoculadas com *Phakopsora euvitis*. As mudas foram colocadas horizontalmente no solo (Figura 1A,B) e tiveram três folhas de diferentes idades fixadas sobre uma placa de isopor de forma que permanecessem com a face abaxial voltada para cima durante o período da inoculação. Em cada folha foram fixadas molduras de borracha com área interna de 12 cm^2, de forma a delimitar a área de inoculação. Em cada uma das molduras foram depositados 2 mL da suspensão de inóculo na concentração 5 x 10^3 urediniósporos mL^{-1}. A suspensão de inóculo foi preparada com uma concentração de 0,01 % de Tween 20, para facilitar que a gota se espalhasse em toda superfície da folha dentro da moldura, com auxilio da alça de Drigalski. Após a inoculação, para a formação de câmara úmida, foi colocada uma fita plástica fechando completamente a moldura de borracha (Figura 1C). As mudas foram mantidas a 25 °C no escuro e período de molhamento foliar de 24 horas (ANGELOTTI et al., 2014). Após esse período foram retiradas as câmaras úmidas e as mudas foram mantidas em casa de vegetação em temperatura ambiente. Para a contagem do número de

pústulas foram utilizadas duas mudas de cada espécie. A contagem iniciou-se a partir do aparecimento dos sintomas e foi realizada até que o número de pústulas se estabilizasse por dois dias consecutivos. A contagem foi realizada por meio de fotografias retiradas diariamente, com o auxílio do software IMAGE J 1,51e (SCHNEIDER et al., 2012). O período de latência foi definido quando 50 % do número de pústulas estavam esporulando. Definiu-se a eficiência de doença a partir do número máximo de pústulas dividido pelo número de urediniósporos depositados sobre a superfície da folha, e a severidade foi quantificada na região inoculada com auxílio do software Quant (VALE et al., 2003). O experimento foi repetido duas vezes. Na segunda repetição, com a severidade e o número de pústulas foi calculado diariamente o tamanho médio das pústulas, para a caracterização do crescimento da lesão.

A avaliação da capacidade de esporulação foi realizada em quatro mudas inoculadas de cada espécie. A remoção dos urediniósporos foi realizada a cada três ou quatro dias a partir do primeiro dia do aparecimento dos sintomas. O experimento foi repetido duas vezes. Para a primeira repetição, para a remoção dos esporos, 5 mL de água destilada estéril foram aplicadas sobre a superfície da folha. Na segunda repetição, a água foi colocada na placa de Petri após a remoção dos esporos com o auxílio de um pincel (Figura 1D,E). A suspensão de esporos foi agitada e uma alíquota foi retirada para a contagem do urediniósporos em câmara de Neubauer (Figura 1F). A esporulação das pústulas por idade das folhas, para cada espécie, foi calculada pela média de quatro mudas inoculadas. A cada coleta dos esporos foi verificada a viabilidade dos urediniósporos produzidos por meio do teste de germinação (Figura 1G).

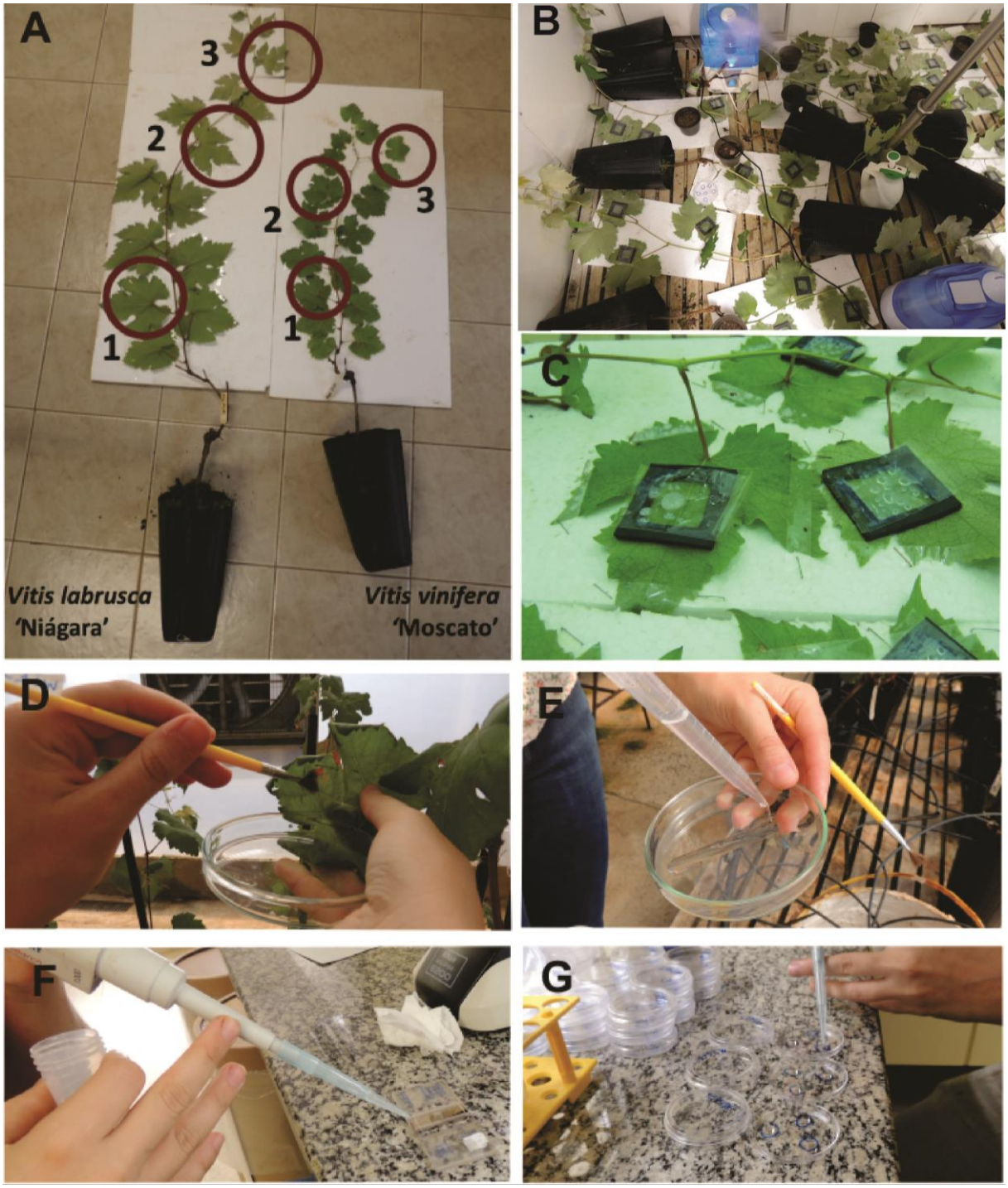

Figura 1. Mudas de *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada e *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo com três folhas de diferentes idades (A) As mudas fixadas em placa de isopor mantidas em câmara úmida a temperatura controlada (B). Folhas fixadas em placas de isopor com a face abaxial voltada para cima e inoculadas na região delimitada pela moldura de borracha (detalhe na fita plástica para manter câmara úmida) (C). Coleta dos esporos com auxílio de pincel (D). Adição de 5 mL de água destilada aos esporos coletados (E). Contagem de esporos em câmara de Neubauer para definição da concentração da suspensão (F). Preparo do teste de germinação com o depósito de três gotas em três placas de poliestireno (G).

Para a avaliação da severidade, a cada dia de coleta de esporos foram feitas fotografias da área inoculada. Com as imagens obtidas foi feita a contagem do número de pústulas com ajuda do software IMAGE J 1,51e (SCHNEIDER et al., 2012) e a severidade foi quantificada na região inoculada com auxílio do software Quant (VALE et al., 2003). Com o software SAS (Statistical Analysis System) foram realizadas análises estatísticas dos dados em delineamento fatorial. Os dados de cada variável foram comparados pelo teste Tukey-Kramer com 5 % de significância. Com auxílio do software Statistica (StatSoft, Tulsa, E.U.A), os dados de severidade avaliado no tempo foram ajustados aos modelos de Gompertz (Y=b1*exp(-b2 exp(-rt))), logístico (Y=b1/(1+b2*exp(-rt))) e monomolecular (Y=b1*(1-b2*exp(-rt))), em que Y é a variável analisada, b1 a assíntota máxima, b2 é a constante de integração igual a 1-y0 (y0= inóculo inicial), r é a taxa de progresso da doença e t o tempo (CAMPBELL; MADDEN, 1990; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996; SPÓSITO et al., 2004). Os parâmetros obtidos pelo melhor modelo ajustado aos dados foram comparados pelo teste t. A escolha do modelo que se ajusta melhor aos dados foi com base na natureza biológica da doença (PFENDER, 1992) e sua participação no ciclo, levando em consideração o padrão de resíduos e os valores do coeficiente de determinação (R^2) (CAMPBELL, MADDEN, 1990; BERGAMIN FILHO et al., 1998).

2.2.4. Análise anatômica e sintomatológica de ferrugem em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*

Aspectos estruturais e bioquímicos de folhas e os sintomas de ferrugem entre as espécies de videiras *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo e *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada foram analisados por técnicas de microscopia eletrônica de varredura e de microscopia de luz. Para isso, foram utilizadas seis mudas de cada espécie de videira. Em três mudas, folhas intermediárias com aproximadamente 60 dias após a brotação das gemas foram inoculadas com *Phakopsora euvitis* na concentração de 5 x 10^3 urediniósporos mL^{-1}. Três mudas de cada espécie foram mantidas sadias para comparação entre tecidos doentes e sadios com a mesma idade. Após 17 dias da inoculação foram coletas folhas sadias e folhas com sintomas de ferrugem. Os tecidos foram fotografados em estéreo-microscópio Leica M205C com lente de 5x de aumento e parte do mesofilo foi fixada em Karnovsky por 24 horas (KARNOVSKY, 1965). Durante esse período as amostras foram colocadas

na bomba de vácuo para melhor infiltração do fixador. Em seguida, as amostras foram submetidas a uma série etílica (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%). Na concentração de etanol a 100% as amostras foram desidratadas por três vezes. As amostras foram infiltradas em historesina hidroxi-etil metacrilato (Leica Historesin® - Heraeus Kulzer, Hanau, Germany) e seccionadas em micrótomo rotatório Leica RM 2045 a uma espessura de 5 µm. Os cortes transversais foram montados em lâminas de vidro e posteriormente corados com Azul de Toluidina para as análises histopatológicas (SAKAI, 1973). Após a coloração, as lâminas foram montadas com resina sintética Entellan® (Merck, Darmstadt, Germany) e as imagens foram feitas com câmera Leica DFC310FX em microscópio Leica DMLB. Parte das lâminas foi corada com WGA Alexafluor 488 por 30 minutos e com Calcofluor White por 1 minuto. As imagens com corantes de fluorescência foram realizadas em microscópio Leica DM5500B. O corante de fluorescência WGA Alexafluor 488 floresce em verde na presença de quitina, sendo visualizado com filtro 5 L (excitação entre 460 e 500 nm e emissão entre 515 e 485 nm). O corante Calcofluor White fluoresce em azul na presença de celulose, sendo visualizado com filtro DAP (excitação entre 325 a 375 nm e emissão 515 e 485 nm).O experimento foi realizado duas vezes.

Para as imagens em microscópio eletrônico de varredura as amostras seguiram o mesmo procedimento até a série etílica. Em seguida, foram submetidas ao processo de secagem em ponto crítico modelo Balzers CPD 050 (Figura 2A). Posteriormente as amostras foram coladas com fita de carbono sobre suportes de alumínio chamados stubs e seguiram para a metalização com vapor de ouro no metalizador Balzers modelo MED 010 (Balzers Union, Liechtenstein) a 50 mA por 180 segundos (MAY DE MIO et al., 2006) (Figura 2B). As amostras foram visualizadas em microscópio eletrônico de varredura (LEO 435 VP) e as imagens foram processadas no software CorelDRAW® Graphics Suite X8.

2.2.5. Comparação da resposta fotossintética de folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* sadias e com sintomas de ferrugem

Para comparação da resposta fotossintética foram realizadas medidas de fotossíntese em folhas de cinco mudas de *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo e de cinco mudas de *Vitis labrusca* cv. Niágara rosada, com cerca de 30 dias após a brotação

das gemas. Uma muda de cada uma das espécies foi utilizada como controle sadio. As plantas foram colocadas horizontalmente no solo e as quatro folhas mais velhas foram fixadas sobre uma placa de isopor com a face abaxial voltada para cima durante todo o período de inoculação. Sobre a face abaxial das folhas foram fixadas molduras com área de 12 cm^2. Em cada uma das molduras foram depositados 2 mL de suspensão nas concentrações de 10^2, 10^3, 10^4 e 10^5 urediniósporos mL^{-1} de forma aleatória entre as folhas fixadas. Cada muda recebeu as quatro concentrações de inóculo testadas. A suspensão foi preparada por diluição seriada e em seguida foi espalhada sobre a região da folha interna a moldura com auxílio da alça de Drigalski. A moldura foi coberta com ajuda de uma fita plástica para a formação de câmara úmida. As suspensões de inóculo foram preparadas e foi adicionada a concentração de 0,01 % de Tween 20, para facilitar que a gota se espalhasse em toda superfície da folha de dentro da moldura. As mudas foram mantidas a 25 °C no escuro e o período de molhamento foliar foi de 24 horas (ANGELOTTI et al., 2014). A viabilidade dos esporos foi verificada pelo teste de germinação. Após a inoculação, as mudas foram colocadas em casa de vegetação em temperatura ambiente.

Para a determinação da capacidade fotossintética foram realizadas medidas da taxa fotossintética líquida (A) (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}), condutância estomática (gs) (mol H_2O m^{-2} s^{-1}), transpiração (E) (mmol H_2O m^{-2} s^{-1}), concentração interna de CO_2 (Ci) (µmol mol^{-1}), eficiência do fotossistema II (PhiPSII) e transporte aparente de elétrons (ETR) (µmol (elétrons) $m^{-2}s^{-1}$) na região inoculada de cada uma das folhas e em folhas sadias, com auxílio do aparelho IRGA Li 6400 XT (Licor, Lincoln, NB, USA). O aparelho foi ajustado às condições: fluxo de fótons fotossintéticos de 1000 µmol m^{-2} s^{-1}, a concentração de CO_2 na câmara em torno de 400 µmol mol^{-1} e temperatura do ar externa utilizando a câmara de 2 cm^2. As medições foram realizadas no período entre às 10 h e 14 h. O experimento foi realizado duas vezes.

Na primeira repetição do experimento, a primeira medição foi realizada antes da inoculação e as sucessivas medições realizadas com intervalos de 2-3 dias até completar 16 dias após a inoculação (DAI). Na segunda repetição, a primeira medição foi realizada no dia anterior a inoculação. Após o aparecimento dos sintomas foram obtidas imagens nos dias avaliados e a severidade da região inoculada foi calculada com auxílio do software Quant (VALE et al., 2003).

A taxa fotossintética relativa, a condutância estomática relativa e transporte aparente de elétrons relativo foram calculados por meio da divisão do valor obtido para cada uma das folhas sintomáticas sobre os valores médios obtidos de folhas sadias. Os valores relativos foram correlacionados com a severidade da doença. A eficiência instantânea da carboxilação aparente (A/Ci 0 K) também foi estimada e os dados foram correlacionados com a taxa fotossintética líquida. Os gráficos foram plotados com auxílio do software SigmaPlot 10.0 (Systat Software, San Jose, CA, USA).

2.2.6. Presença de espécies reativas de oxigênio em folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* inoculadas com *Phakopsora euvitis*

Para o experimento de espécies reativas de oxigênio foram utilizadas quatro mudas de *V. vinifera* cv. Moscato Giallo e quatro mudas de *V. labrusca* cv. Niágara Rosada, com folhas com idade de 20 dias após a brotação. As mudas foram colocadas horizontalmente no solo e cinco folhas por muda foram fixadas sobre placas de isopor com a face abaxial voltada para cima durante o período de inoculação. Em cada folha foram fixadas duas molduras de borracha com área interna de 4 cm^2, de forma a delimitar a área de inoculação. Em cada uma das molduras foram depositados 660 µL de suspensão de esporos na concentração de 5 x 10^3 urediniósporos mL^{-1} contendo 0,01% de Tween 20 e espalhados sobre a área foliar delimitada com o auxílio de alça de Drigalski. Após a inoculação, para a formação de câmara úmida, foi colocada uma fita plástica fechando completamente a moldura de borracha. As mudas foram mantidas a 25 °C no escuro e o período de molhamento foliar foi de 24 horas (ANGELOTTI et al., 2014). Após esse período foram retiradas as câmaras úmidas e as mudas foram mantidas em casa de vegetação em temperatura ambiente. A viabilidade dos esporos foi verificada pelo teste de germinação. Para cada folha, dois discos de 2 cm de diâmetro foram coletados com 1, 3, 7, 10 e 13 DAI (Figura 2C).

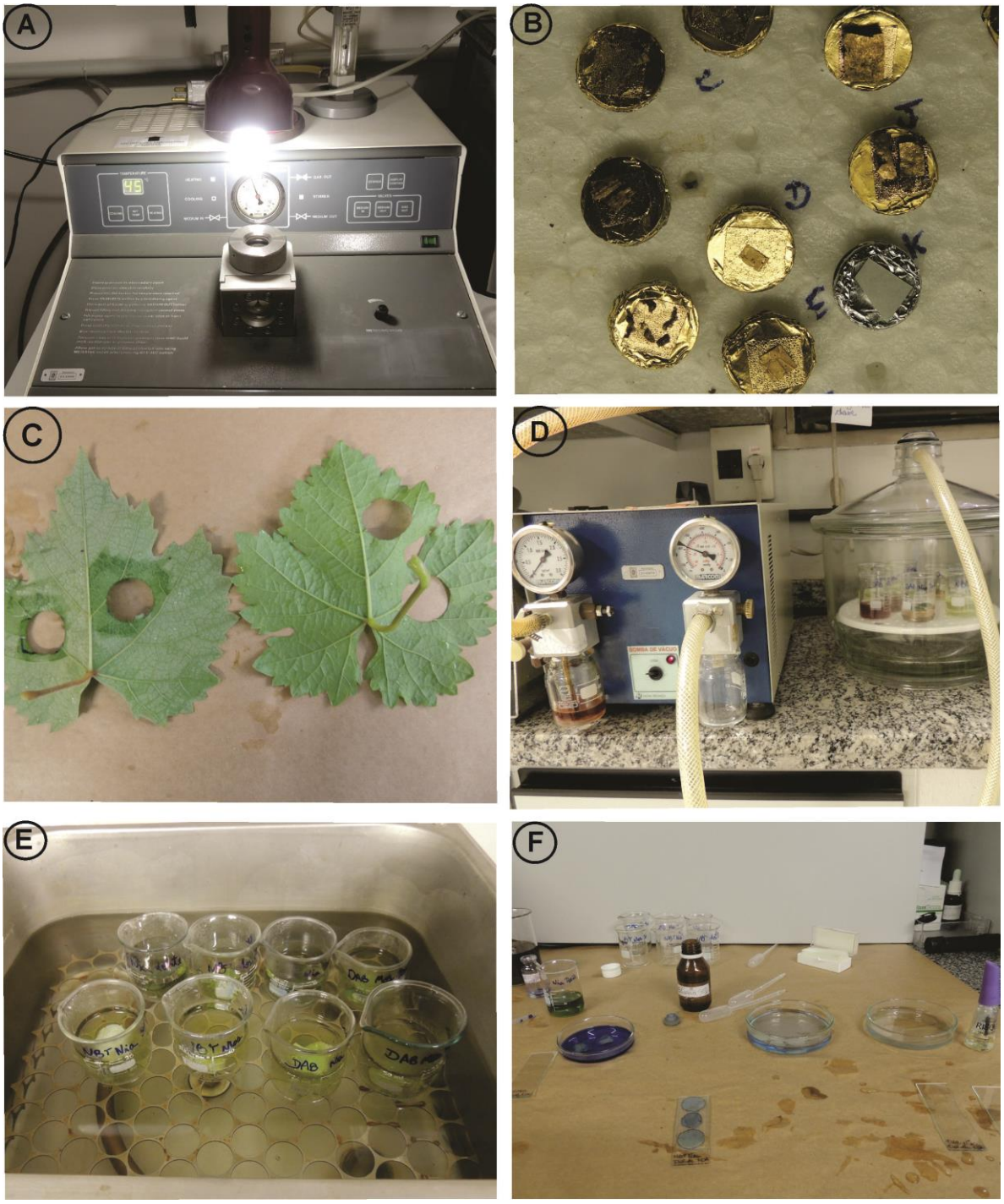

Figura 2. Amostras de folhas de *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo *e V. labrusca* cv. Niágara Rosada inoculadas com *Phakopsora euvitis* durante processo de secagem em ponto crítico (A). *Stubs* após o processo de metalização (B). Folhas das duas espécies de videira com os discos de 2 cm de diâmetro que foram destacados para testes de reação de hipersensibilidade (C). Discos em solução de DAB e NBT em bomba a vácuo (D). Discos durante processo de descoloração em banho-maria com etanol (E). Coloração das estruturas fúngicas com azul de algodão, montagem das lâminas com glicerina a 50% e selagem com esmalte (F).

Após a coleta dos discos, um disco de cada uma das folhas foi colocado em solução de DAB (3,3-diaminobenzidina) na concentração de 0,1% em tampão de fosfato de potássio 10 mM (pH 3,8 ajustado com NaOH) e outro disco de cada uma

das mesmas folhas foi colocado em solução NBT (nitroblue tetrazolium) na concentração de 0,1 % em tampão de fosfato de potássio 10 mM (pH 7,8 ajustado com NaOH) por 45 minutos em infiltração a vácuo (Figura 2D). Em seguida, todos os discos foram colocados em água destilada e incubados a luz fluorescente por uma hora. Para clareamento, os discos foram colocados em etanol fervente e levados em banho-maria (96 °C) por 5 minutos (BELTRAME, 2005) (Figura 2E). Os discos foram corados com azul de algodão (0,1 %) e foi montada lâmina com glicerina 50% e selada com esmalte incolor (Figura 2F).

As análises histológicas foram visualizadas em aumento de 100 a 500 vezes em estéreo-microscópio HiroxDigital Microscope Kh-8700. As imagens foram processadas no software CorelDRAW X8. Com as imagens obtidas foi medido o diâmetro médio e a área da região que apresentou coloração marrom para o reagente DAB ou azul para o reagente NBT indicando a presença de espécies reativas de oxigênio. As imagens foram processadas com auxílio do software do software IMAGE J 1,51e (SCHNEIDER et al., 2012). Com os dados do diâmetro médio e da área da região foi calculada a média e erro padrão com auxílio do Software Statistica 7.0 (StatSoft, Tulsa, E.U.A). Os gráficos foram plotados com auxílio do software SigmaPlot 10.0 (Systat Software, San Jose, CA, USA).

2.3. Resultados e Discussão

2.3.1. Eficiência de doença e severidade de ferrugem em *Vitis labrusca* cv. Niágara rosada em diferentes concentrações de inóculo, temperaturas e molhamento foliar

A eficiência de doença é uma variável influenciada pelo hospedeiro, concentração e viabilidade de inóculo. Para cada uma das temperaturas, em cada uma das repetições foi obtido um valor de viabilidade de esporos (Tabela 1). A viabilidade dos esporos teve influência da temperatura de inoculação. Como a diferença na concentração de inóculo entre as repetições pode influenciar nas variáveis analisadas, as análises estatísticas foram feitas separadamente.

Tabela 1. Viabilidade de urediniósporos de *Phakopsora euvitis* e concentração de inóculo (urediniósporos mL^{-1}) utilizada para inoculação em folhas de *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada para análise de eficiência de doença e severidade de ferrugem relacionados à temperatura do ambiente em que foi inoculado. Foram realizadas duas repetições.

Temperatura	Repetição 1		Repetição 2	
da inoculação	Viabilidade	Concentração	Viabilidade	Concentração
15 °C	0,20	10000	0,04	5000
20 °C	0,53	10000	0,23	5000
25 °C	0,10	10000	0,28	5000
30 °C	0,15	10000	0,22	5000

A eficiência de doença, a severidade e número de pústulas aumentaram conforme o aumento da duração do molhamento foliar. Entretanto, para a temperatura de inoculação, nas temperaturas extremas (15 e 30 °C) foi observada uma redução nas variáveis analisadas (Figuras 3,4,5 e Tabelas 2,3). Com relação à temperatura, os maiores valores de pústulas, severidade e eficiência de doença ocorreram a 20 °C, na repetição 1 e a 25 °C na repetição 2 (Tabelas 2,3).

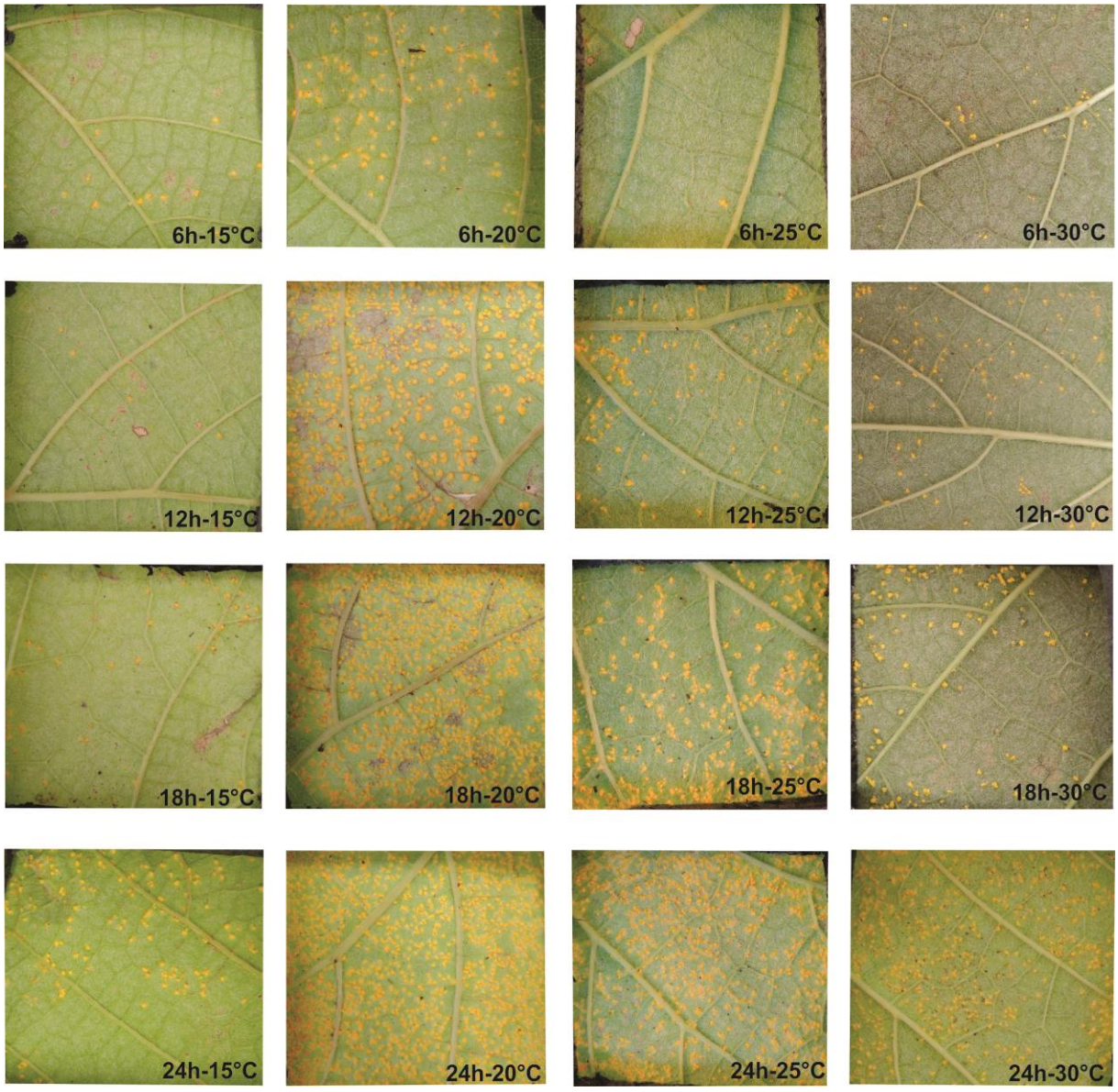

Figura 3. Sintomas de ferrugem da videira em área foliar de *V. labrusca* cv. Niágara Rosada inoculada com *Phakopsora euvitis* na concentração de 10^4 urediniósporos mL^{-1}, submetidas às temperaturas 15, 20, 25 e 30°C com durações de períodos de molhamento de 6, 12, 18 e 24 horas. As imagens foram realizadas no 14º dia após a inoculação. A área inoculada em cada uma das folhas representa 12 cm^2.

Tabela 2. Severidade de ferrugem (*Phakopsora euvitis*) em folhas de *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada (12 cm^2) e eficiência de doença (número de pústulas formadas por esporos depositados) em função da temperatura e molhamento foliar. Dados da primeira repetição.

Variáveis		Severidade[z]	Eficiência de doença[x]
Temperatura (°C)	15	0,0044 c	0,0046 b
	20	0,1638 a	0,0791 a
	25	0,0471 b	0,0908 a
	30	0,0221 b	0,0349 b
Molhamento foliar (h)	6	0,003 b	0,0029 c
	12	0,0641 a	0,0479 b
	18	0,0814 a	0,0611 ab
	24	0,0882 a	0,0975 a

Teste de Tukey-Kramer com significância a 5%: médias com mesma letra não são significativamente diferentes. [x] Teste com base na análise não-paramétrica Kruskal-Wallis.

Tabela 3. Severidade de ferrugem (*Phakopsora euvitus*) em folhas de *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada (12 cm^2) e eficiência de doença (número de pústulas formadas por esporos depositados) em função da temperatura e molhamento foliar. Dados da segunda repetição .

Variáveis		Severidade[x]	Eficiência de doença[x]
Temperatura (°C)	15	0 b	0 c
	20	0,0260 a	0,0047 b
	25	0,0413 a	0,0524 a
	30	0,0103 a	0,0178 b
Molhamento foliar (h)	6	0,0005 c	0,0003 c
	12	0,0169 b	0,0232 b
	18	0,0116 ab	0,0167 ab
	24	0,0251 a	0,0346 a

Teste de Tukey-Kramer com significância a 5%: médias com mesma letra não são significativamente diferentes. [x] Teste com base na análise não-paramétrica Kruskal-Wallis.

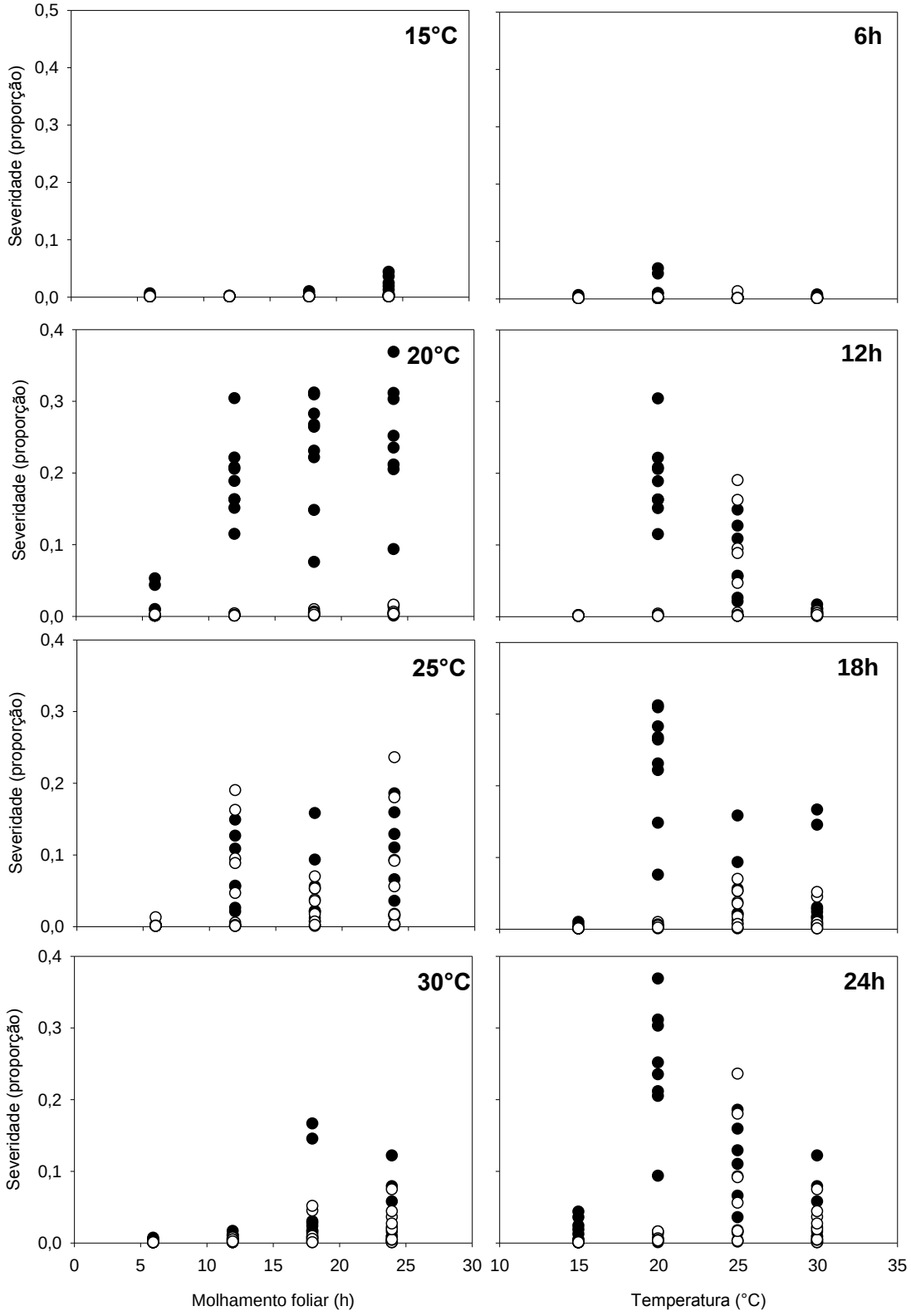

Figura 4. Severidade de ferrugem da videira em função da temperatura e período de molhamento foliar em *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada, 14 dias após a inoculação com *Phakopsora euvitis*, para a repetição 1 (●) e repetição 2 (○).

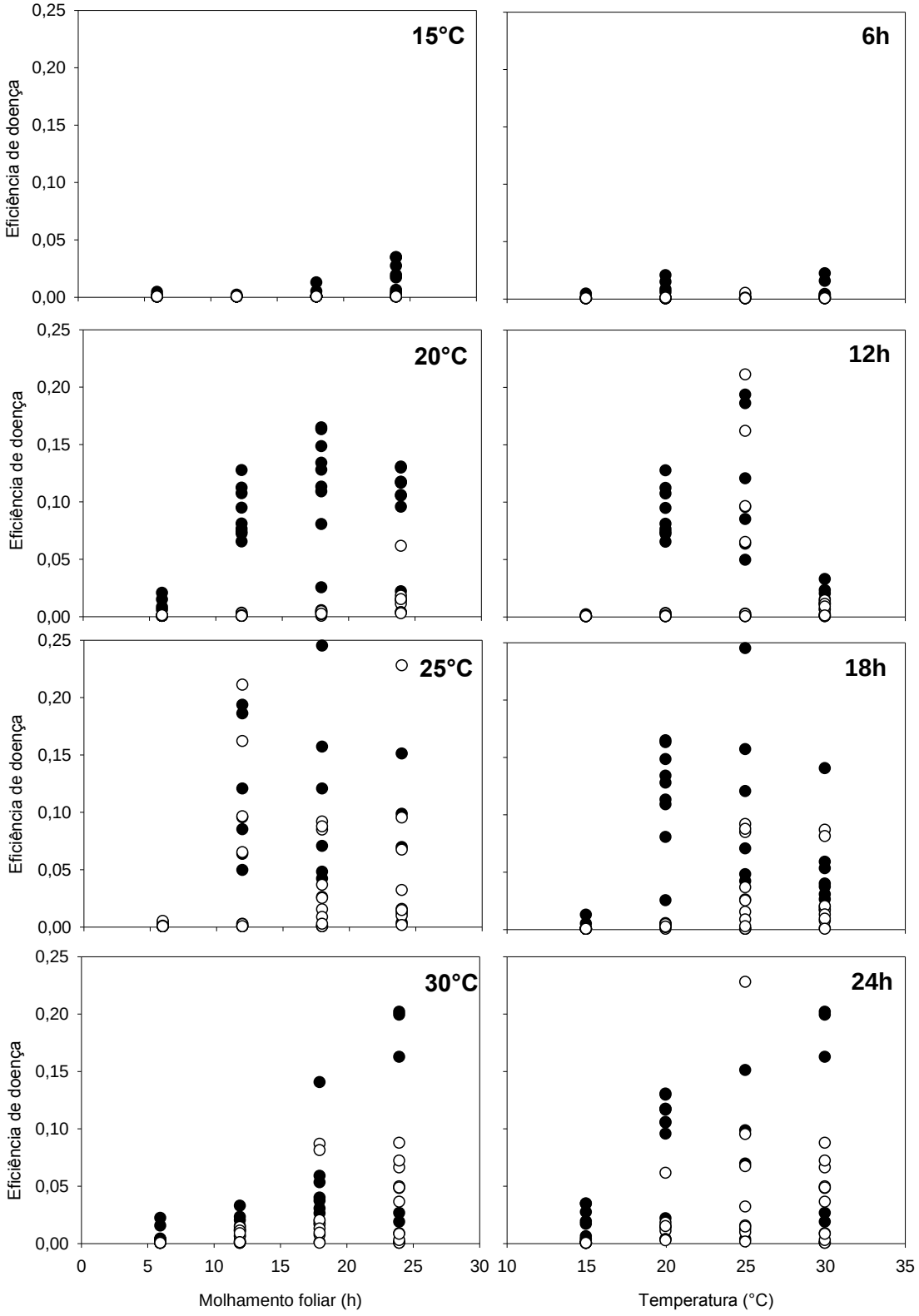

Figura 5. Eficiência de doença (pústulas por esporos inoculados) de ferrugem da videira em função da temperatura e período de molhamento foliar em *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada, 14 dias após a inoculação com *Phakopsora euvitis*, para a repetição 1 (●) e repetição 2 (○).

Os dados de eficiência de doença obtidos em ambas as repetições, com variação da temperatura e duração do molhamento foliar, foram ajudados ao modelo beta-monomolecular, cujos parâmetros obtidos foram: eficiência de doença na temperatura ótima (Yopt) de 0,22 esporos/pústulas; temperatura mínima (Tmin) de 5,8 °C; temperatura ótima (Topt) de 24,3 °C; amplitude da curva na faixa assintótica (B3) de 7,09; temperatura máxima (Tmax) de 37,4 °C; parâmetro b1 de 0,82; b2 de 1,99; taxa de aumento da eficiência de doença em função da temperatura e molhamento foliar (r) de 0,12 e coeficiente de determinação (R^2) de 0,70. Todos os parâmetros foram significativos a 5 % (Figura 6).

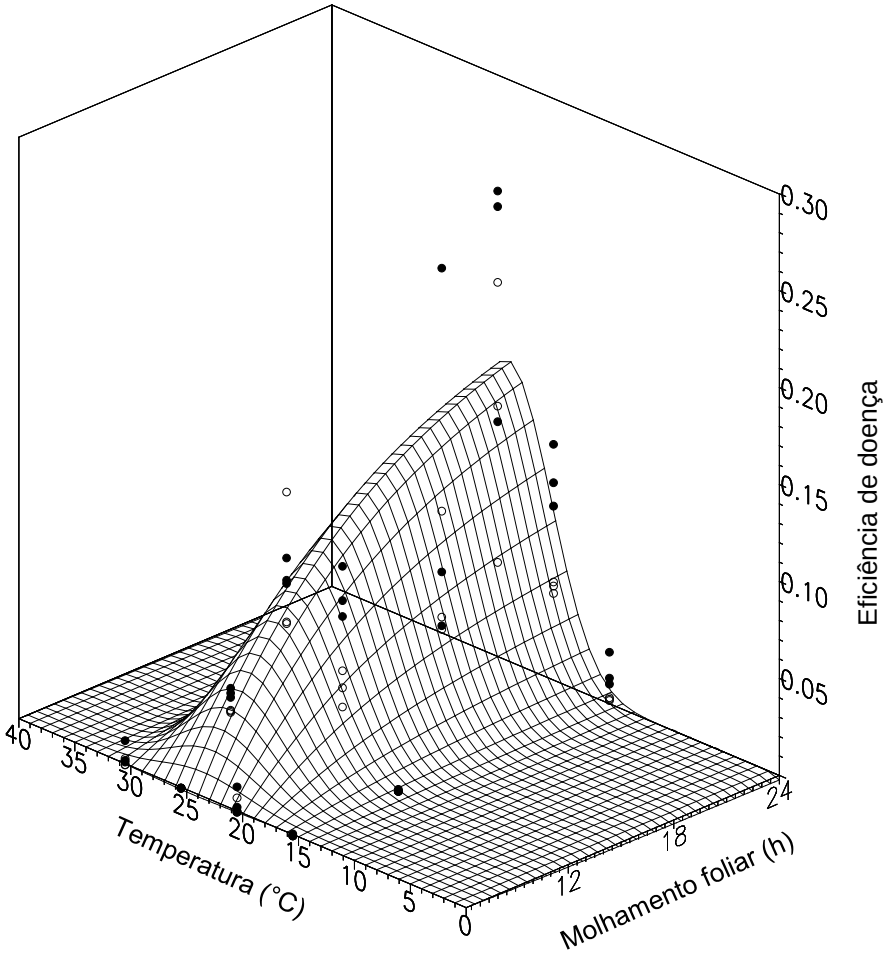

Figura 6. Superfície de resposta para eficiência de doença (pústulas por esporos inoculados) de *Phakopsora euvitis* inoculada em folhas de *Vitis labrusca* cv. Niágara rosada em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação ED=0,22*(((T-5,8)/(24,28-5,8))^(7,09*((24,28-5,8)/(37,36-24,28)))*(((37,36-T)/(37,36-24,28))^7,09))*(0,825*(1-1,99*(exp(-0,11*M)))), em que ED é eficiência de doença, T a temperatura (°C) e M o período de molhamento (horas). Foram somados os dados da repetição 1 (●) e repetição 2 (○) do experimento.

O valor de B3 (amplitude da curva na faixa assintótica) alto representa o estreitamento da superfície de resposta próximo à temperatura ótima. Esse resultado indica que a eficiência de doença foi mais dependente da temperatura do que do período de molhamento para que ocorresse o sucesso da infecção e colonização da *Phakopsora euvitis* em cv. Niágara Rosada.

No experimento sobre a eficiência de doença em função da concentração de inóculo, folhas inoculadas na concentração de 10^5 urediniósporos mL^{-1} apresentaram maior número de pústulas e consequentemente maior severidade da doença. A área inoculada apresentou uma maior coalescência de pústulas e necrose do tecido foliar, com 14 dias após a inoculação (Figura 7). Os dados de eficiência de doença em função da concentração de inóculo foram ajustados ao modelo da potência inversa, $Y(x)=a*x^{-b}$, em que Y(x) é a eficiência de doença em função da concentração de inóculo, *a* é eficiência de doença para um esporo inoculado, *b* é a taxa de decréscimo da eficiência de doença e x é a concentração de inóculo (Figura 8a). O valor obtido para o parâmetro *a* não foi significativo, entretanto o parâmetro *b* foi significativo. Portanto, a eficiência de doença foi reduzida com o aumento da concentração de inóculo.

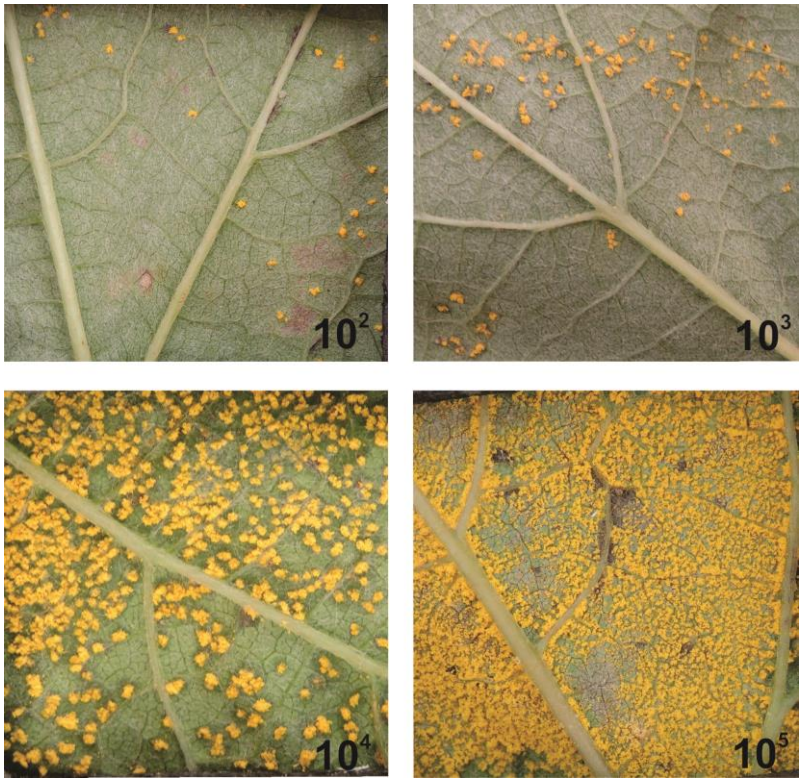

Figura 7. Imagens de folhas de *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada inoculadas nas diferentes concentrações 10^2, 10^3, 10^4 e 10^5 urediniósporos de *Phakopsora euvitis* mL^{-1}. As imagens foram realizadas 14 dias após a inoculação. A área inoculada representa 12 cm^2**.**

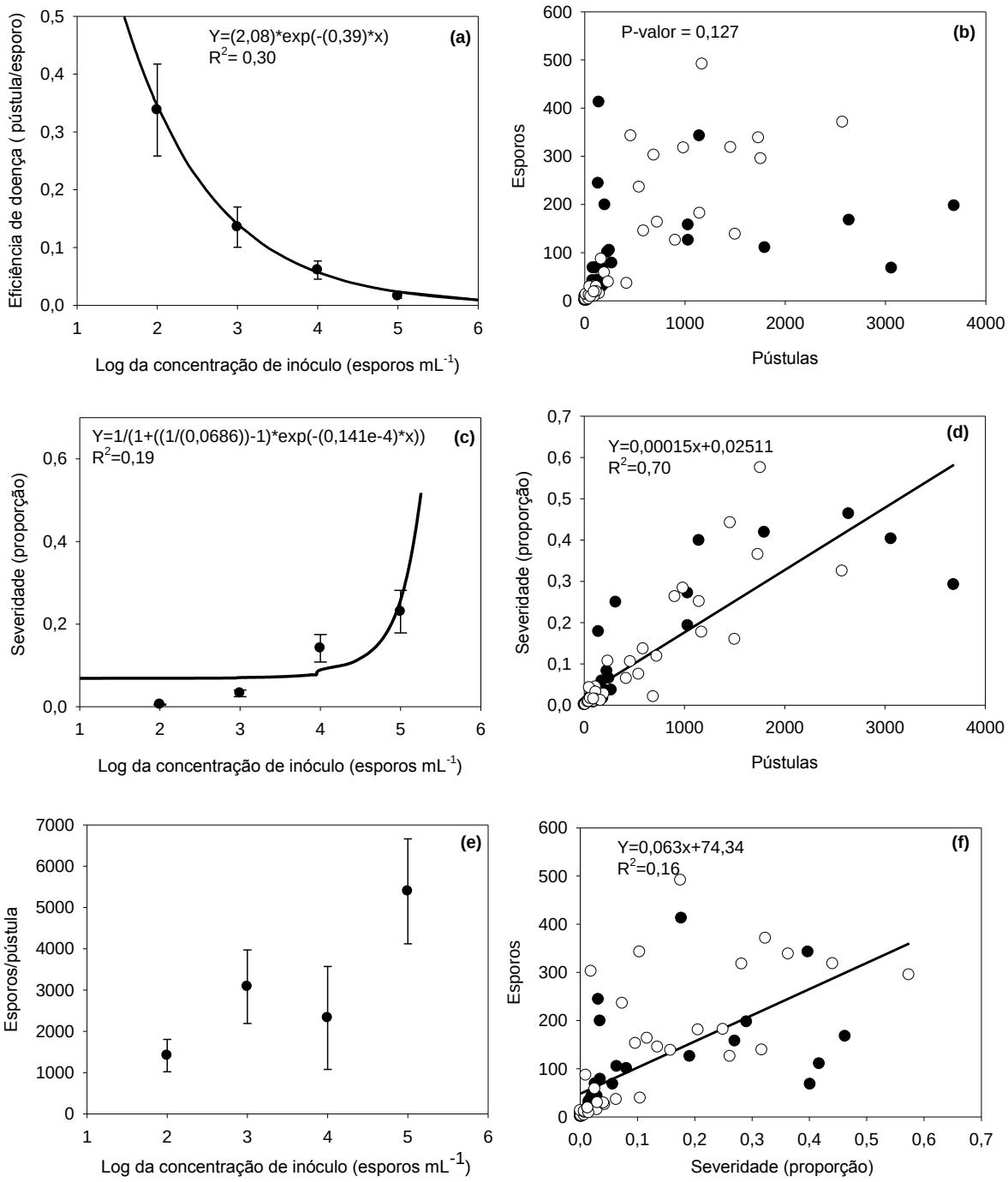

Figura 8. Os resultados foram obtidos em áreas da folha de 12 cm^2 de *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada inoculadas com *Phakopsora euvitis* e avaliadas 14 dias após a inoculação. Eficiência de doença (número de pústulas por esporos viáveis) em função da concentração de inóculo, ajustada ao modelo potência inversa ($Y(x)= 2,08*(x^{-0,39})$) (a); severidade média (em proporção) em função da concentração de inóculo, ajustada ao modelo logístico ($Y=1/(1+((1/0,0686))-1)*\exp(-0,14e^{-4})*x$)) (c); produção de esporos por pústula em função da concentração de inóculo (e). As barras representam erro padrão para dados das duas repetições do experimento (a,c,e). Esporos produzidos em função do número de pústulas formadas (b); Severidade da ferrugem em função do número de pústulas formadas (d) e número de esporos produzidos em função da severidade da ferrugem (f). Foram utilizados os dados da repetição 1 (●) e repetição 2 (○) do experimento (b,d,f).

A severidade da doença aumentou conforme com o aumento da concentração de esporos inoculados. A severidade foi ajustada ao modelo logístico Y(x)=1/(1+((1/b1))-1)*exp(-r*x), em que Y(x) é a severidade em função da concentração de inóculo, b1 é a severidade para o número mínimo de esporos, r é a taxa de crescimento da severidade com relação à concentração de inóculo e x é a concentração de inóculo (Figura 8c). A produção de esporos produzidos por pústula foi maior para a maior concentração de esporos inoculados (Figura 8e). Para severidade em função do número de pústulas formadas e número de esporos produzidos em função da severidade foram estabelecidas correlações lineares (Figura 9b,d,f). A melhor correlação foi entre severidade em função do número de pústulas (R^2 =0,70). Para a correlação entre esporos produzidos e severidade, o coeficiente de determinação apresentou um valor consideravelmente baixo (R^2=016).

A eficiência de doença é um importante componente epidemiológico no estudo dos processos de infecção e de colonização. No presente trabalho as mudas de *V. labrusca* cv. Niágara Rosada foram colocadas nas mesmas condições de temperatura (25 °C), após o período de infecção, para que a temperatura do ambiente não influenciasse na eficiência de doença. No período de infecção, as mudas foram mantidas no escuro, pois a luz influencia negativamente no processo de infecção de *P. euvitis* em *V. labrusca* (ANGELOTTI et al., 2014).

Os resultados do trabalho demonstraram que a eficiência de doença foi maior em temperaturas, no período de infecção, entre 20 e 25 ºC e pelo modelo ajustado a temperatura ótima foi de 24,28 °C. Esses resultados corroboram com Angelotti et al. (2014), que para o mesmo patossistema avaliado, o valor máximo de frequência de infecção (número de pústulas cm^{-2}) observado foi na temperatura de 20 °C.

Para o período de molhamento foliar, a eficiência de doença foi maior em períodos acima de 12 horas. Os maiores valores de eficiência de doença ocorrem em períodos de molhamento de 18 e 24 h. Angelotti et al. (2014) observaram que a maior frequência de infecção ocorreu em períodos de molhamento superiores a 12 horas, na temperatura de 20 ºC.

A eficiência de doença é uma variável que engloba os processos de germinação, infecção e colonização (WEBB; NUTTER JR, 1997). Em trabalhos avaliando a influência da temperatura e molhamento foliar com relação à severidade

e germinação de *Phakopsora euvitis*, a melhor temperatura para germinação foi de 20 °C e para severidade foi de 30 °C com duração do molhamento foliar superior a 18 h (ALVES, 2015). A manutenção das mudas após o processo de infecção a 25 ºC anulou o efeito da temperatura na colonização e possibilitou relacioná-la ao processo de infecção. A temperatura e o período de molhamento, no processo de infecção, que proporcionaram os maiores valores de severidade da ferrugem foram semelhantes aos valores obtidos para a eficiência de doença. Portanto, a severidade está diretamente relacionada com eficiência de doença até o limite dos valores médios encontrados no experimento, 16 % e 8 %, para temperatura e período de molhamento foliar, respectivamente.

O conceito de eficiência de doença também foi utilizado para expressar a influência da temperatura e molhamento foliar na ocorrência de míldio da videira (*Plasmopara viticola*). A temperatura ótima para ocorrência de míldio foi entre 15 e 20 °C. Para a duração do período de molhamento foliar a maior eficiência foi observada com 16 horas (LALANCETTE et al. 1988a). O fungo *Phakopsora euvitis* necessita de temperaturas mais altas que o *Plasmopara viticola*, dessa forma regiões de clima mais quente favorecem a ocorrência de ferrugem.

A concentração de inóculo, em condições ótimas para o processo de infecção, também influenciou na eficiência de doença, severidade e quantidade de esporos produzidos por pústula. No experimento desenvolvido os valores de eficiência de doença diminuíram conforme o aumento na concentração de inóculo. A curva obtida pelo modelo da potência inversa, ajustada aos dados de eficiência de doença, demonstra que a eficiência de doença chega próxima à zero em concentrações maiores que 10^6 urediniósporos mL^{-1}. O valor obtido no parâmetro *a* não se justifica biologicamente por não ser possível obter duas pústulas a partir da inoculação de um esporo. A redução da eficiência de doença com o aumento da concentração de inóculo pode ser explicada pelo fato de que a penetração de *Phakopsora euvitis* ocorre por estômatos e por consequência, o número de sítios de infecção se torna limitado (BERGAMIN FILHO, AMORIM, 1996). Caso dois esporos germinados estiverem próximos a um estômato, apenas um deles causará infecção. Para míldio da videira, entretanto, foi encontrado um valor para eficiência de doença de 0,06 lesões por zoósporos inoculados na cultivar Catawba (*Vitis labrusca*), conforme houve aumento da concentração de inóculo, a eficiência de doença não sofreu alteração significativa (LALANCETTE et al., 1987).

A severidade da ferrugem aumentou conforme aumentou a concentração de inóculo, sendo os dados ajustados ao modelo logístico. Esse resultado corrobora com Angelotti et al. (2008), que observaram, no mesmo patossistema, um aumento no número de pústulas com o aumento da concentração de inóculo. Essa relação também foi observada para míldio da videira (LALANCETTE et al, 1987).

Para a produção de esporos por pústula, ocorreu um aumento significativo entre as concentrações inoculadas de 10^2 e 10^5 urediniósporos mL^{-1}. No patossistema *Puccinia recondita* f.sp. tritici em trigo também ocorreu aumento no número de pústulas (severidade) com o aumento da concentração de inóculo, entretanto, a produção de esporos por pústula foi menor (SACHE, 1997).

No patossistema avaliado, a correlação entre severidade da doença e número de pústulas foi positiva. O aumento da severidade está diretamente relacionado ao aumento do número de pústulas formadas. Entretanto, o número de esporos formados não se correlacionou com o número de pústulas e com a severidade da doença. Portanto, a produção de esporos não é dependente da severidade da doença e nem do número de pústulas formadas.

2.3.2. Epidemiologia comparativa de ferrugem em *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*

A epidemiologia da ferrugem entre as espécies de videira foi comparada pelos componentes epidemiológicos: período de latência, eficiência de doença, período infeccioso, capacidade de esporulação, número de esporos formados por pústula por dia, esporos acumulados ao longo do período infeccioso, viabilidade dos esporos e severidade de doença, analisados em duas repetições. Na primeira repetição as mudas foram podadas em 24/11/2015 e inoculadas em 12/02/2016. Na segunda repetição, a poda foi realizada em 09/01/2016 e a inoculação em 23/03/2016. A viabilidade dos esporos, na primeira repetição foi de 10 % e na segunda repetição de 38,6 %.

A inoculação foi feita em folhas velhas com 58 e 61 dias após a brotação, folhas intermediárias com 34 e 33 dias após a brotação e folhas jovens com 24 e 24 dias após a brotação, para as repetições 1 e 2, respectivamente.

Para o período de latência, não ocorreu diferença entre as espécies de videiras e entre as diferentes idades de folha em ambas as repetições. Na primeira

repetição o período de latência foi de 7 dias após a inoculação (DAI) e no segundo experimento de 8 a 10 DAI. O período infeccioso teve duração de 15 a 20 dias, não sendo observada diferença entre idade de folhas e entre espécies (Tabela 4).

Tabela 4. . Período de latência e período infeccioso (dias) para a ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis*) inoculadas em mudas de *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo e *V. labrusca* cv. Niágara Rosada, nas duas repetições.

Espécie	Repetição 1		Repetição 2	
	Latência (erro)	Período infeccioso (erro)	Latência (erro)	Período infeccioso (erro)
V. vinifera	7,28(0,35)	15,85(0,78)	9,50(0,22)	18,50(0,92)
V.labrusca	7,80(0,48)	19,71(0,73)	8,20(0,20)	20,16(1,22)

Em *V. vinifera* a eficiência de doença aumenta com a idade da folha. Em folhas velhas a eficiência de doença foi de 0,1 a 0,18 pústulas por esporos inoculados, para as repetições 1 e 2, respectivamente. Em folhas jovens a eficiência de doença foi menor, sendo próxima a 0,01. Em *V. labrusca* a eficiência de doença variou entre 0,01 e 0,1, independentemente da idade da folha. Na comparação entre espécies, em folhas jovens a *V. labrusca* apresentou maior eficiência de doença enquanto que nas demais idades de folhas a *V. vinifera* foi mais eficiente (Figura 9a,b).

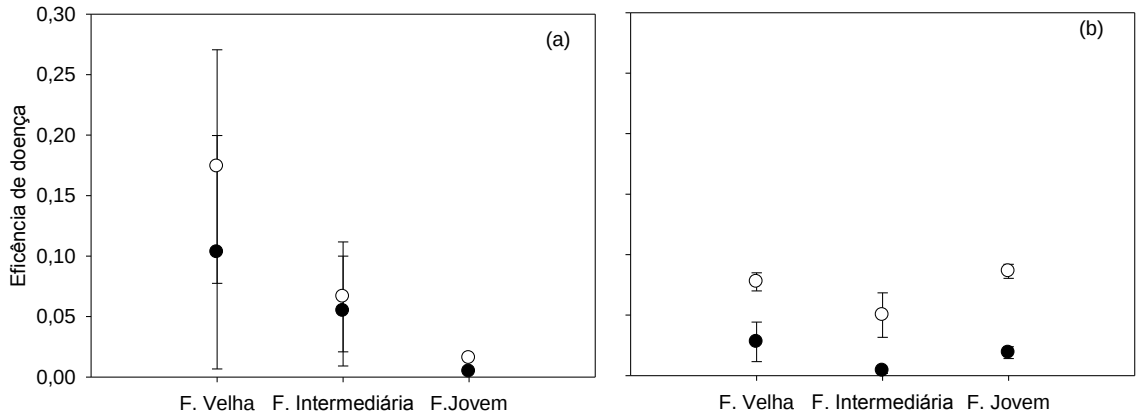

Figura 9. Eficiência de doença (pústulas/ urediniósporos) para *V. vinifera* (a) e *V. labrusca* (b) em folhas (F) velhas, intermediárias e jovens. Barras representam erro padrão. A inoculação da primeira repetição (●) foi realizada no dia 09/01/2016 e para a segunda repetição (○) em 23/03/2016.

As análises dos dados de severidade da doença, capacidade de esporulação, esporos/pústula/dia, esporos acumulados e germinação de esporos foram realizadas em conjunto com os dados das duas repetições.

Os dados de severidade não se ajustaram aos modelos de Gompertz, Logístico e Monomolecular, apresentando baixo coeficiente de determinação. Portanto, foi realizado o cálculo da área abaixo da curva de progresso da severidade da doença. Pela análise fatorial dos dados foi observado que a *V. labrusca* apresenta maior severidade de ferrugem quando comparada com *V. vinifera.* Em relação à idade de folhas, folhas velhas apresentaram maior severidade quando comparada com as demais (Tabela 5).

Tabela 5. Área abaixo da curva de progresso da severidade de ferrugem (*Phakopsora euvitis*) (AACPD) nas espécies de videiras *Vitis vinífera* cv. Moscato Giallo e *V. labrusca* cv. Niágara Rosada, e em diferentes idades de folhas inoculadas: velha (60 dias após a brotação), intermediária (33 dias após a brotação) e jovem (24 dias após a brotação).

Espécies e idade de folhas	AACPD
V. vinifera	1,62 b
V. labrusca	2,91 a
Velha	3,98 a
Intermediária	1,77 b
Jovem	1,03 b

Valores seguidos da mesma letra não são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey, com significância a 5%.

A severidade observada no último dia do período infeccioso, 29 dias após a inoculação, foi em média para *V. vinifera* de 28 % em folhas velhas, 14,9 % em folhas intermediárias e 5,7 % em folhas jovens. Em *V. labrusca* a severidade observada foi em média de 42,8 % em folhas velhas, 32,7 % em folhas intermediárias e 15,8 % em folhas jovens (Figura 10). Para a capacidade de esporulação, esporos/pústula/dia e germinação, na comparação entre espécies não houve diferença, entretanto para esporos acumulados a espécie *V. vinifera* apresentou maior valor (Tabela 6). Na comparação entre idades de folhas, a folhas velhas apresentaram uma maior capacidade de esporulação e um maior número de esporos acumulados (Tabela 7).

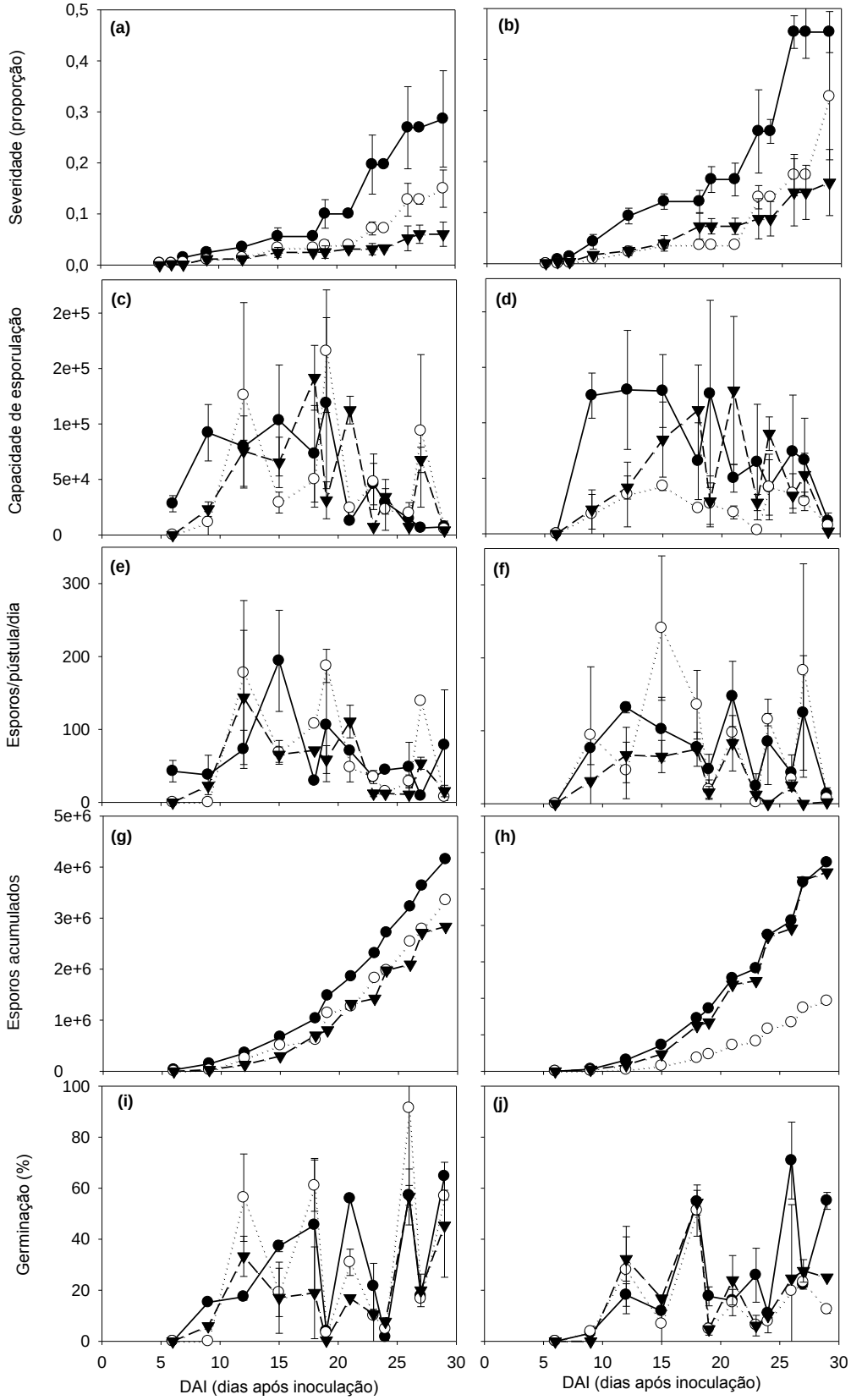

Figura 10. Severidade d e ferrugem (*Phakopsora euvitis*) (em proporção) (a,b), capacidade de esporulação (c,d), esporos/pústula/dia (e,f), esporos acumulados (g,h) e viabilidade de esporos (i,j) em três diferentes idades de folha: velha (●), intermediária (○) e jovem (▼) de *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo. (a,c,e,g,i) e *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada. (b,d,f,h,j). Os valores representam duas repetições.

Tabela 6. Comparação entre *V. vinifera* e *V. labrusca* com relação à capacidade de esporulação, esporos/pústula/dia, esporos acumulados e germinação. Análise estatística com dados de ambas as repetições.

Espécie	Capacidade de esporulação[x]		Esporos/ pústula/dia[xz]		Esporos acumulados[x]		Germinação[x]	
V. vinifera	49354,74	a	60,64	a	258501,15	a	26,38	a
V. labrusca	49962,96	a	108,35	a	188181,71	b	20	a

Teste de Tukey-Kramer com significância a 5%: médias com mesma letra não são significativamente diferentes. [X] Teste com base nos valores de transformação 0,25. [z] Teste com base nos valores de transformação logarítmica.

Tabela 7. Comparação entre folhas de três idades (velha, intermediária e jovem) com relação a capacidade de esporulação, esporos/pústula/dia, esporos acumulados e germinação. Análise estatística com dados de ambas as repetições.

Folha	Capacidade de esporulação[x]		Esporos/ pústula/dia[xz]		Esporos acumulados[x]		Germinação[x]	
Velha	62498,26	a	69,21	a	299884,54	a	28,50	a
Intermediária	36631,94	b	74,44	a	137018,22	c	22,58	a
Jovem	49846,35	b	109,84	a	233121,52	b	18,49	a

Teste de Tukey-Kramer com significância a 5%: médias com mesma letra não são significativamente diferentes. [X] Teste com base nos valores de transformação 0,25. [z] Teste com base nos valores de transformação logarítmica.

As mudas da segunda repetição do experimento que foram utilizadas para avaliação do período de latência e eficiência de doença (que não foram coletados os esporos) foram fotografadas diariamente a partir do surgimento dos sintomas até o 18 DAI (período de latência). Pela severidade da doença e número de pústulas foi calculado o tamanho médio da lesão (Figura 11).

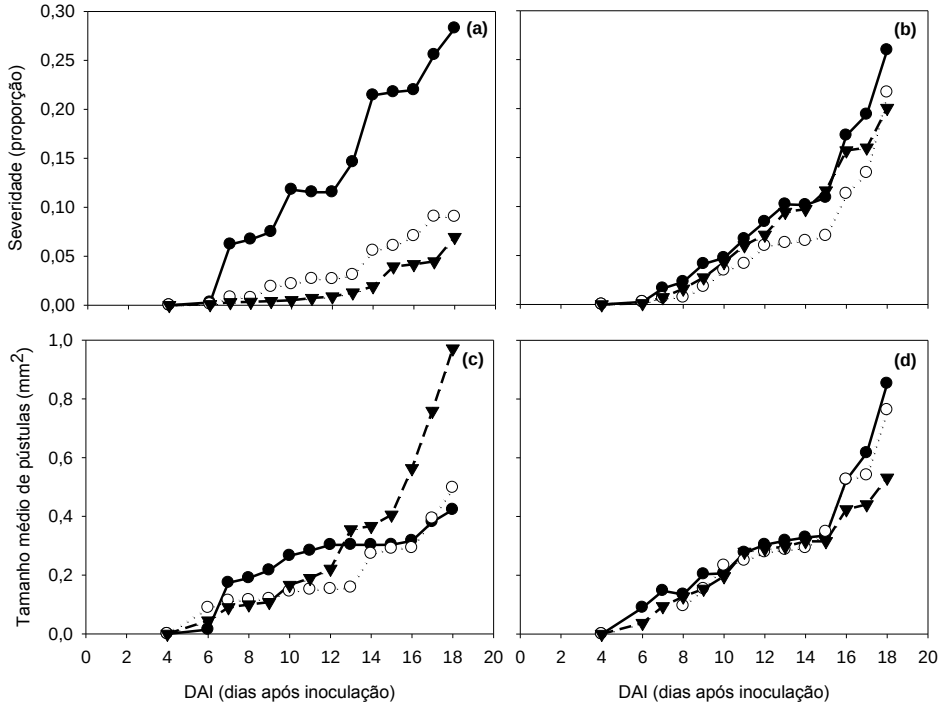

Figura 11. Severidade de ferrugem (*Phakopsora euvitis*) (em proporção) (a,b) e tamanho médio de pústulas (mm^2) (c,d) em três diferentes idades de folha: velha (●), intermediária (○) e jovem (▼) de *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo (a,c) e *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada. (b,d).

Folhas de diferentes idades podem apresentar diferentes períodos de latência o que permite classificá-las quanto à resistência ao patógeno. Alguns cultivares podem apresentam períodos de latência mais longos quando inoculados em folhas com um estádio fenológico mais desenvolvido que outras (PARLEVLIET, 1979). Entretanto, para ferrugem da videira tanto para espécie quanto para a idade das folhas não foi observada diferença para o período de latência. Esse resultado corrobora com Angelotti et al. (2008) que observaram em diferentes genótipos, período de latência pouco variável, entre 7 e 8 dias. Hennessy et al. (2007) também observaram latência de 7 dias para diferentes genótipos de videira em mudas mantidas a 25 °C. Entretanto, o período de latência pode variar de 7 a 13 dias, de acordo com a temperatura do ambiente (ANGELOTTI et al., 2014; ALVES, 2015).

O período infeccioso da ferrugem da videira foi similar entre as espécies de videiras avaliadas variando entre 15 e 20 dias. Para ferrugem asiática da soja, o período infeccioso é mais longo. Urédias de *Phakopsora pachyrhizi* começaram a esporular com 11 DAI e o início da senescência foi por volta de 29 DAI, aos 45 DAI 100% das urédias deixaram de produzir esporos caracterizando um período infeccioso de 34 dias (YEH et al., 1982). Para *Puccinia hordei* foi observada

influência da temperatura na duração do período infeccioso, sendo mais curto a 20 °C (TENG; CLOSE, 1978).

A eficiência de doença em folhas de *V. labrusca* variou de 1 a 10 %, não sendo observado um padrão com relação à idade da folha. Na espécie *V. vinifera,* entretanto, foi observado que quanto mais velha a folha maior a eficiência de doença. Portanto, folhas mais jovens de *V. vinifera* provavelmente apresentam maior resistência ao desenvolvimento do fungo. Kriedemann et al. (1970) visualizaram um mesofilo mais compacto em folhas mais jovens de *V. vinifera*, com menor número de espaços intercelulares, quando comparado com folhas completamente expandidas. Um maior número de espaços intercelulares pode facilitar a colonização do patógeno. Ao contrário da ferrugem da videira, para *Phakopsora pachyrhizi* a eficiência de doença foi maior em folhas jovens, com cerca de 15 dias, mostrando que folhas mais velhas (mais de 42 dias) apresentaram maior resistência à ferrugem asiática (MELCHING et al., 1988).

A capacidade de esporulação é um fator que pode estar relacionado ao tamanho de pústula (PARLEVLIET, 1979). Quanto maior o número de urédias por área, menor o tamanho das urédias e consequentemente menor o número de esporos produzidos por urédias (TENG, CLOSE 1978). Para *Phakopsora euvitis* foi observada uma redução da esporulação por urédias chegando próxima à zero por volta de 27 a 29 DAI, o que permitiu mensurar o período infeccioso. Para *Phakopsora pachyrhizi* foi observado um aumento no número médio de lesões e uma redução do número de esporos produzidos por urédia ao longo das semanas (MELCHING et al., 1979). Com 27 dias após a inoculação foram observadas pústulas senescentes (MERCHETTI et al., 1975) permitindo inferir que a capacidade de esporulação por urédias cai drasticamente com o tempo (MELCHING et al., 1979). Um fator limitante para a capacidade de esporulação pode ser a redução da capacidade fotossintética (MEHTA; ZADOKS, 1970). A esporulação demanda alto efluxo de metabólitos e energia das células hospedeiras, pois durante a esporulação o patógeno está em intensa atividade metabólica (BASSANEZI et al., 2002).

A capacidade de esporulação e consequentemente esporos produzidos por pústulas permitiu identificar um padrão de esporulação do patógeno. Para *Phakopsora euvitis* em ambas as espécies foi observado um padrão semelhante ao das ferrugens tropicais, sendo possível inferir que a ferrugem da videira trata-se de um patógeno de clima tropical. A *Phakopsora pachyrhizi*, assim como *o Uromyces*

appendiculatus também apresentam um padrão intermitente de esporulação (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). As curvas de esporos acumulados obtidas para *P. euvitis* não se estabilizaram no fim do período infeccioso, como observado para *Puccinia hordei* (TENG;CLOSE, 1978). Melching et al., (1988) sugerem que para determinação da resistência seria mais eficiente determiná-la por meio do número de esporos acumulados em vez de mensurar a capacidade de esporulação por pústula.

A viabilidade dos esporos coletados de folhas velhas de *V. labrusca* apresentou a maior porcentagem de germinação. Entretanto, a viabilidade dos esporos pode não estar relacionada apenas a idade do tecido do hospedeiro, mas também a idade da lesão. Em *Uromyces phaseoli* os esporos coletados de pústulas jovens em folhas novas apresentaram uma maior germinação quando comparado a esporos de pústulas jovens presentes em folhas velhas, supondo que pústulas de folhas mais velhas de feijoeiro apresentam compostos inibidores da germinação (IMHOFF et al., 1981).

Vanderplank (1984) atribuiu alguns parâmetros epidemiológicos a resistência horizontal, uma planta tem maior resistência quando a esporulação é menor, o período de latência é mais longo, o período infeccioso é mais curto ou quando apresenta um menor número de lesões, mesmo quando o número de esporos inoculados em ambas as cultivares for igual (eficiência de doença).

Os resultados que a espécie de videira *V. labrusca* e folhas mais velhas são mais suscetíveis à ferrugem. Em folhas velhas de *V. vinifera* a severidade está relacionada com o surgimento de novas lesões enquanto que em *V. labrusca* a severidade, provavelmente se deva ao crescimento das lesões.

2.3.3. Comparação anatômica e sintomatológica de ferrugem em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*

A espécie *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo apresentou poucos tricomas, sendo dificilmente observados durante as análises dos cortes transversais e visualização dos sintomas em estéreo-microscópio (Figura 12B) e em microscopia eletrônica de varredura (Figura 12C). A *V. labrusca* cv. Niágara Rosada apresentou alta densidade de tricomas de coloração esbranquiçada, o que confere uma coloração verde menos intensa na superfície abaxial das folhas (Figura 12F).

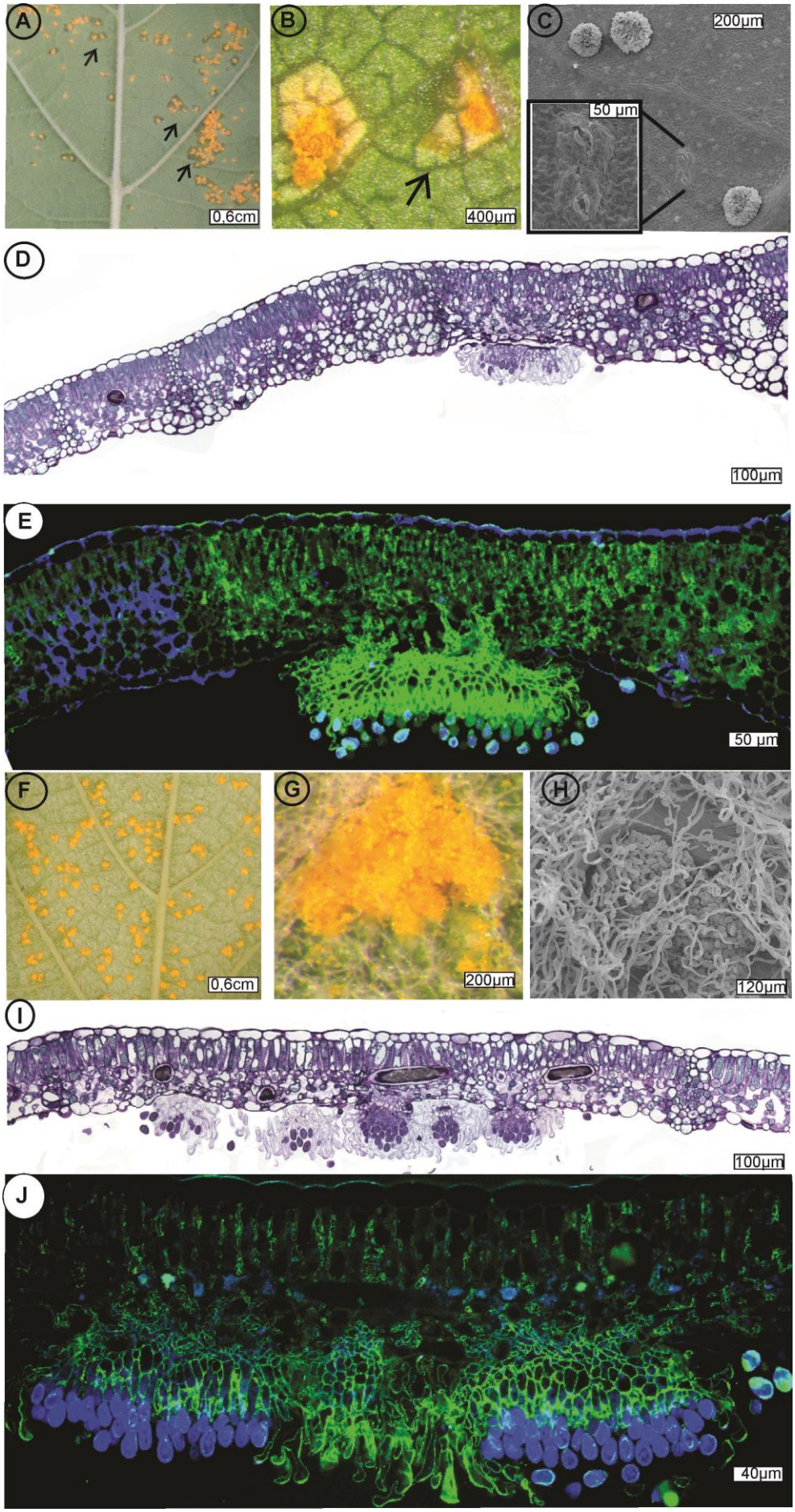
A
0,6cm
B
400µm
C
200µm
50 µm
D
100µm
E
50 µm
F
0,6cm
G
200µm
H
120µm
I
100µm
J
40µm

Figura 12. Sintomas de *Phakopsora euvitis* em videira *Vitis spp.* com 17DAI. *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo (A-E). Detalhe para halo encharcado ao redor da lesão (A). Imagem em estéreo-microscópio, detalhe para o surgimento de nova pústula (B). Imagem em microscopia eletrônica de varredura, detalhe para o rompimento da epiderme na formação da nova pústula (C). Corte transversal corado com azul de toluidina (D). Corte transversal em corante de fluorescência WGA Alexafluor 488 (fluorescência em verde) e Calcofluor (fluorescência em azul). Fluorescência em verde indica presença do fungo limitada a região da pústula (no interior do halo encharcado). No halo encharcado há espessamento das células pelo acúmulo de celulose (E). *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada (F-J). Sintomas em videira cv. Niágara Rosada (F). Imagem em estereoscópio, intensidade de tricomas de coloração esbranquiçada (G). Imagem em microscopia eletrônica de varredura, intensidade de tricomas mesmo sobre a pústula (H). Corte transversal corado com azul de toluidina (I). Corte transversal em corante de fluorescência WGA Alexafluor 488 (fluorescência em verde) e Calcofluor (fluorescência em azul), o fungo (em verde) coloniza espaços intercelulares (J).

Após 17 dias da inoculação, em folhas de *V. labrusca*, a imagem realizada em estéreo-microscópio mostrou uma grande massa de esporos sobre uma pústula (Figura 12 F,G). Contudo, com a remoção da massa de esporos foi possível identificar a presença de duas urédias pela conformação das paráfises (Figura 12H). A formação de um maior número de urédias na *V. labrusca* cv. Niágara Rosada, também foi observada em microscopia eletrônica (Figura 12H) e em cortes transversais (Figura 12I,J).

Em *V. vinifera*, 10 dias após a inoculação foi observado um halo encharcado ao redor da lesão (Figura 12A). Por meio de cortes transversais foi observada uma hipertrofia das células do mesofilo na região do halo, que reduziram os espaços intercelulares do parênquima lacunoso (Figura 12D). Na região do halo também foi observada um acúmulo de substâncias pécticas de natureza desconhecida principalmente nos espaços intercelulares. Pela técnica de fluorescência foi observado que o fungo (corado na cor verde) permaneceu restrito na região do halo, próxima à pústula. Nessa região foi observada hipertrofia das células do mesofilo e espessamento da parede celular que se deve ao acúmulo de celulose (Figura 12E). Em *V. labrusca* a colonização do fungo ficou restrito as células da bainha do feixe.

A comparação histopatológica de *Phakopsora euvitis* entre as espécies de videira avaliadas apresentaram diferenças estruturais como a densidade maior de tricomas na espécie americana (KELLER, 2010). Entretanto, a grande intensidade de tricomas observada em *V. labrusca* não funcionou como barreira estrutural pré-formada na penetração da *Phakopsora euvitis* por estômatos. Para *Plasmopara viticola,* os tricomas funcionam como barreira pré-formadas. Os esporângios de *P. viticola* se fixam em nos tricomas que contém substâncias hidrofóbicas os quais reduzem o contato da água com a epiderme, desfavorecendo o processo de

infecção pelos zoósporos (KORTEKAMP; ZYPRIAN, 1999). No caso do míldio, as videiras americanas apresentam maior resistência do que *V. vinifera* (KORTEKAMP, ZYPRIAN, 1999; GESSLER et al., 2011).

Em *V. vinifera* ao redor da lesão ocorreu a presença de um halo com aspecto encharcado, o qual não foi observado em *V. labrusca*. O halo encharcado ao redor da pústula de ferrugem limitou a colonização do fungo. Nessa região ocorreu hipertrofia de células do mesofilo, com acúmulo de celulose na parede celular que funciona como uma barreira restringindo a colonização do fungo na região adjacente. Esse mecanismo de acúmulo de celulose é caracterizado como uma barreira estrutural pós-formada (PASCHOLATI, 2011) Na região do halo, além do acúmulo de celulose também foi observado um maior acúmulo de substâncias pécticas nos espaços intercelulares. As substâncias pécticas são hidrofílicas que, provavelmente, torna a região com visual de aspecto encharcado. O acúmulo de substâncias pécticas é chamado lanosidade e também foi verificado em frutos de pêssego submetidos a baixas temperaturas que apresentaram perda da suculência. No pêssego há um afastamento das paredes celulares e dissolução da lamela média, o que causa um aumento nos espaços intercelulares e acúmulo de substâncias pécticas (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2004). Para *Phakopsora pachyrhizi* foi verificado o aumento de tamanho nas células do mesofilo em cultivar resistente (KEOGH et al., 1980). Os autores sugerem que há um acúmulo de fenóis nos espaços intercelulares entre as células da epiderme e do parênquima paliçádico próximo ao local da infecção. Nas duas espécies de videira foi observado grande quantidade de fenóis em folhas sintomáticas e sadias, comum nesse gênero (KELLER, 2010). Portanto, em *V. vinifera*, o acúmulo de celulose, substâncias pécticas, hipertrofia de células e a redução dos espaços intercelulares do parênquima paliçádico na região do halo encharcado restringiram a colonização do fungo às regiões adjacentes a pústula.

Em *V. labrusca* nas células próximas a pústula houve um acúmulo de amido (NOGUEIRA JR, 2016). O amido acumulado ao redor da lesão também foi observado em outros fungos biotróficos, incluindo ferrugens como *Puccinia poarum* (LONG et al., 1975; CHAKRAVORTY; SCOTT, 1982). Nessa espécie foi observado um maior número de urédias em uma mesma pústula, o que caracteriza lesões de maior diâmetro (PRIMIANO et al., 2016). Na ferrugem da soja foi observado um crescimento do número de urédias por lesão ao longo do tempo (MELCHING et al.,

1979). Marchetti et al. (1975) chamam os esporos originários das novas urédias como descendentes da primeira lesão. Em ferrugens novas urédias originadas ao redor de uma urédia proveniente da primeira infecção podem ser chamadas de urédias satélites, o que caracterizam o crescimento da pústula primária. Em cultivares suscetíveis a *Phakopsora pachyrhizi* ocorre um maior número de urédias por lesão (BONDE et al., 2006). Em *V. labrusca*, em folhas com 17 DAI não foi observada hipertrofia de células, ocorrendo a restrição da colonização do fungo pelos feixes vasculares. Fungos biotróficos muitas vezes apresentam restrições na produção de enzimas que degradam a lignina (BELLINCAMPI et al., 2014), ficando restritos pelos feixes vasculares. No caso da *V. labrusca* o crescimento da lesão pode fazer com que ocorram novos ciclos da doença em um período de tempo mais curto pela redução do período de latência (BERGER et al., 1997).

2.3.4. Comparação da resposta fotossintética de folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* com ferrugem

As análises de taxa fotossintética, condutância estomática e eficiência do fotossistema II foram realizadas em folhas das espécies *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo e *V. labrusca* cv. Niágara Rosada, inoculadas com diferentes concentrações de urediniósporos de *Phakopsora euvitis* em duas repetições realizadas em 22/08/2016 e em 05/10/2016. A viabilidade dos esporos foi de 39 % na primeira repetição e 30,16 % na segunda repetição. Os valores obtidos da taxa fotossintética e da eficiência do fotossistema II em função da severidade da doença foram ajustados ao modelo exponencial negativo $Y=a*\exp(-b*x)$, em que Y é a taxa fotossintética ou eficiência do fotossistema II, *a* é a taxa fotossintética ou eficiência do fotossistema II para valores de severidade igual a zero, *b* é a inclinação do gradiente e x a severidade da ferrugem (Figura 13). Os dados de condutância estomática em função da severidade de ferrugem não se ajustaram ao modelo, portanto, em ambas as espécies, a ferrugem independentemente da severidade não interferiu na condutância estomática (gs).

Com o aumento da severidade da doença houve uma redução da taxa fotossintética e da eficiência do fotossistema II (Figura 13). Para a taxa fotossintética em função da severidade da doença o parâmetro *a* foi significativo e o gradiente (*b*) não foi significativo entre as espécies de videira (Figura 13a). Portanto, pelo ajuste

do modelo, a taxa fotossintética em folhas assintomáticas de *V. labrusca* foi maior do que em folhas de *V. vinifera* e o aumento dos sintomas (severidade da ferrugem) apresentou o mesmo efeito negativo entre as espécies de videira. Para eficiência do fotossistema II em função da severidade da doença, os parâmetros obtidos pelo modelo foram semelhantes entre as espécies de videira (Figura 13 c). A eficiência instantânea de carboxilação aparente (k) foi calculada por meio dos valores da taxa fotossintética (A) sobre os valores de concentração interna de CO_2 (Ci) (Figura 13d).

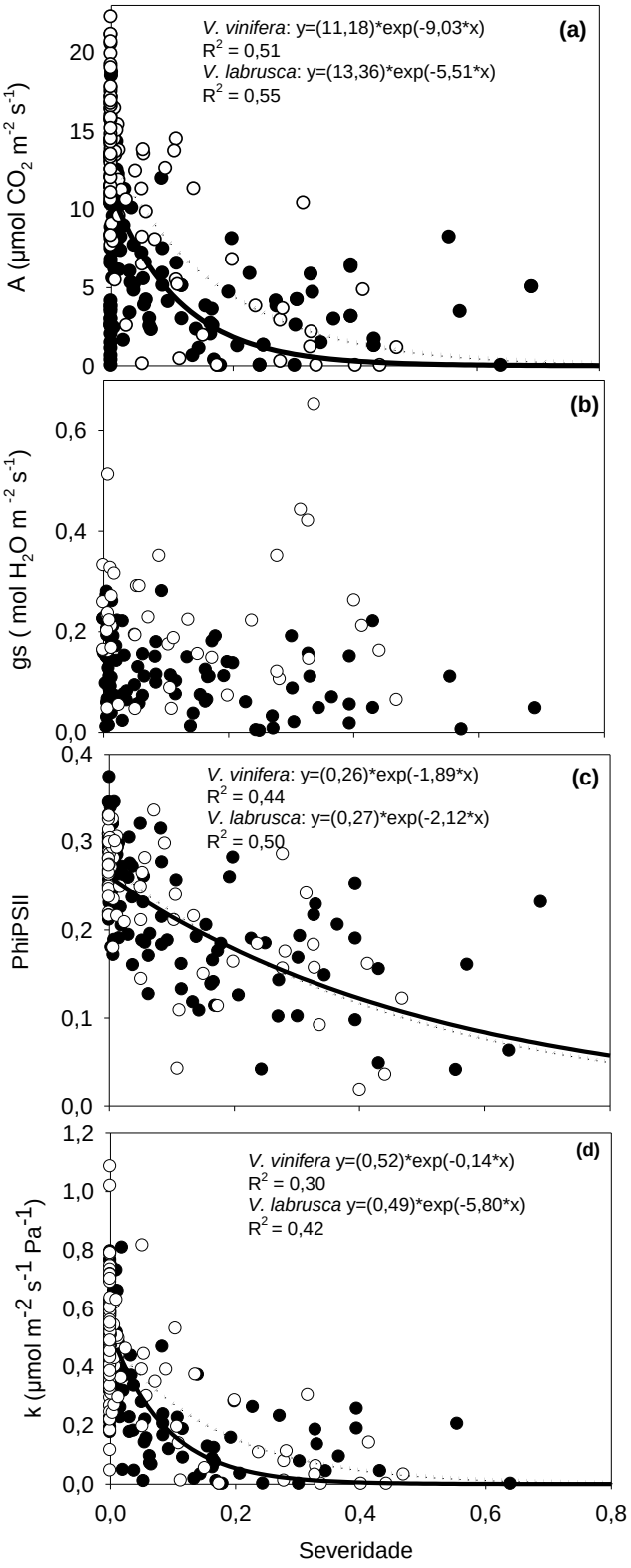

Figura 13. Resposta fotossintética de *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo (●) e *V. labrusca* cv. Niágara Rosada (○) inoculadas com ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis).* Os valores de taxa fotossintética (A) (a), condutância estomática (gs) (b), eficiência do fotossistema II (PhiPSII) (c) e eficiência instantânea de carboxilação aparente (k) (d) em função da severidade foram ajustadas ao modelo exponencial negativo (Y=a*exp(-b*x), a linha cheia representa o modelo para *V. vinifera* e a linha tracejada para *V. labrusca.* Os valores são de ambas as repetições do experimento.

A redução da fotossíntese em folhas infectadas pode ser consequência de vários fatores, como o fechamento estomático devido a ação do patógeno e a reação do hospedeiro (RAVEN et al., 1992), menor eficiência fotoquímica pela diminuição da captura de energia luminosa e transporte de elétrons do fotossistema II para o fotossistema I na produção de ATP (RIBEIRO, 2002) e no processos bioquímicos com a redução na atividade de algumas enzimas no ciclo de Calvin (RAVEN et al., 1992).

Mesmo sendo no processo de infecção de *Phakopsora euvitis* formados apressórios sobre as células guardas dos estômatos (PRIMIANO et al., 2016) e a penetração de hifas ocorrer via estômatos (LEU, 1988), as lesões que ocorreram sobre esses tecidos, pelos resultados obtidos, não afetaram a condutância estomática (Figura 13 b). Uma explicação para esse resultado pode estar relacionado a densidade de estômatos em folhas de videira, a área avaliada para a condutância estomática pelo IRGA (2 cm^2) e a severidade da doença. Informações da literatura mostram que a densidade estomática de *V. labrusca* é superior a 300 estômatos mm^{-2} (KELLER, 2010) sendo 4,6x superior ao número de urediniósporos viáveis inoculados a concentração máxima. Para *V. vinifera* a densidade estomática é inferior a 250 estômatos mm^{-2} (KELLER, 2010) sendo 3,8x superior ao número de urediniósporos viáveis inoculados a concentração máxima. Dessa forma, o número de sítios de infecção disponíveis é muito maior do que o número de urediniósporos que poderiam estar obstruindo o estômato e interferindo negativamente na condutância estomática em ambas as espécies.

Portanto, os resultados sugerem que a redução na taxa fotossintética de ambas as espécies de videira esteja relacionada a menor eficiência do fotossistema II. Quedas na eficiência do fotossintema II interferem no transporte aparente de elétrons para o fotossistema I (ETR) e consequentemente podem afetar a regeneração da ribulose 1,5-bifosfato (RuBP) no Ciclo de Calvin (RAVEN et al., 1992), interferindo tanto na fotoquímica quanto na bioquímica do processo fotossintético.

A ferrugem da videira, mesmo em severidades baixas de 10 e 18% para *V. vinifera* e *V. labrusca*, respectivamente, reduziu a taxa fotossintética a menos de 5 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}, o que se assemelha a folhas em senescência de videira *V. vinifera* cv. White Riesling, avaliadas após a colheita dos frutos (SCHULTZ et al., 1996) e folhas de *V. vinifera* cv. Cabernet Sauvignon com sintomas dos vírus *Rupestris stem*

pitting-associated virus e *Grapevine leafroll-associated virus 2* (BASSO et al., 2010). Esse resultado pode estar diretamente relacionado a queda precoce de folhas de videiras com ferrugem no fim do ciclo da cultura, o que pode interferir no acúmulo de amido no sistema radicular. Nogueira Jr. (2016) observou, em condições controladas, desfolha de *V. labrusca* cv. Niágara Rosada com o decréscimo da área foliar linearmente em função do aumento da severidade de ferrugem. O mesmo autor observou taxa fotossintética de 5 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1} para severidade de 20%, corroborando com os resultados desse trabalho.

Os dados de eficiência instantânea de carboxilação aparente (k) em função da severidade de ferrugem da videira foram ajustados ao modelo exponencial negativo mostrando que ocorre redução da eficiência conforme o aumento da severidade. O mesmo padrão padrão de eficiência da carboxilação apresentando correlação negativa com a severidade foi observado para oídio da videira (NAIL; HOWELL, 2004).

Quando se avalia severidade de doença, são consideradas as áreas lesionadas do tecido do hospedeiro, entretanto, os danos no aparato fotossintético podem ocorrer mesmo antes da expressão dos sintomas ou mesmo em regiões assintomáticas adjacentes as lesões, o que são denominadas lesões virtuais (BASTIAANS, 1991). A influência na fotossíntese da região ao redor da lesão, a partir da taxa fotossintética relativa, condutância estomática e transporte aparente de elétrons relativo (Px/Po) foram medidas pelo cálculo de β para cada uma das espécies. Valores de β>1 para o parâmetro de assimilação da fotossíntese indicaram a presença de lesão virtual em ambas as espécies. A *V. vinifera* apresentou um valor de β = 7,38 e a *V. labrusca* de β = 6,05, não sendo observada diferença entre as espécies.

Diferente do resultado da condutância estomática em função da severidade de ferrugem (Figura 13b), que não apresentou nenhum padrão e consequentemente não pode ser relacionado a redução da taxa fotossintética em função da severidade da doença (Figura 13a), a redução da taxa fotossintética na lesão virtual pode estar ligada a alterações na condutância estomática (Figura 14 c,d). Para *V. vinifera* foi obtido um valor de β= 3,8 e para *V. labrusca* β= 2,31. Além da condutância estomática as alterações causadas pela lesão virtual também foram observadas na fotoquímica do processo fotossintético. Os valores de β para o transporte aparente

de elétrons relativo foi *β*= 2,25 para *V. vinifera* e *β*= 1,69 para *V. labrusca* (Figura 14 e,f), os quais não diferiram entre si.

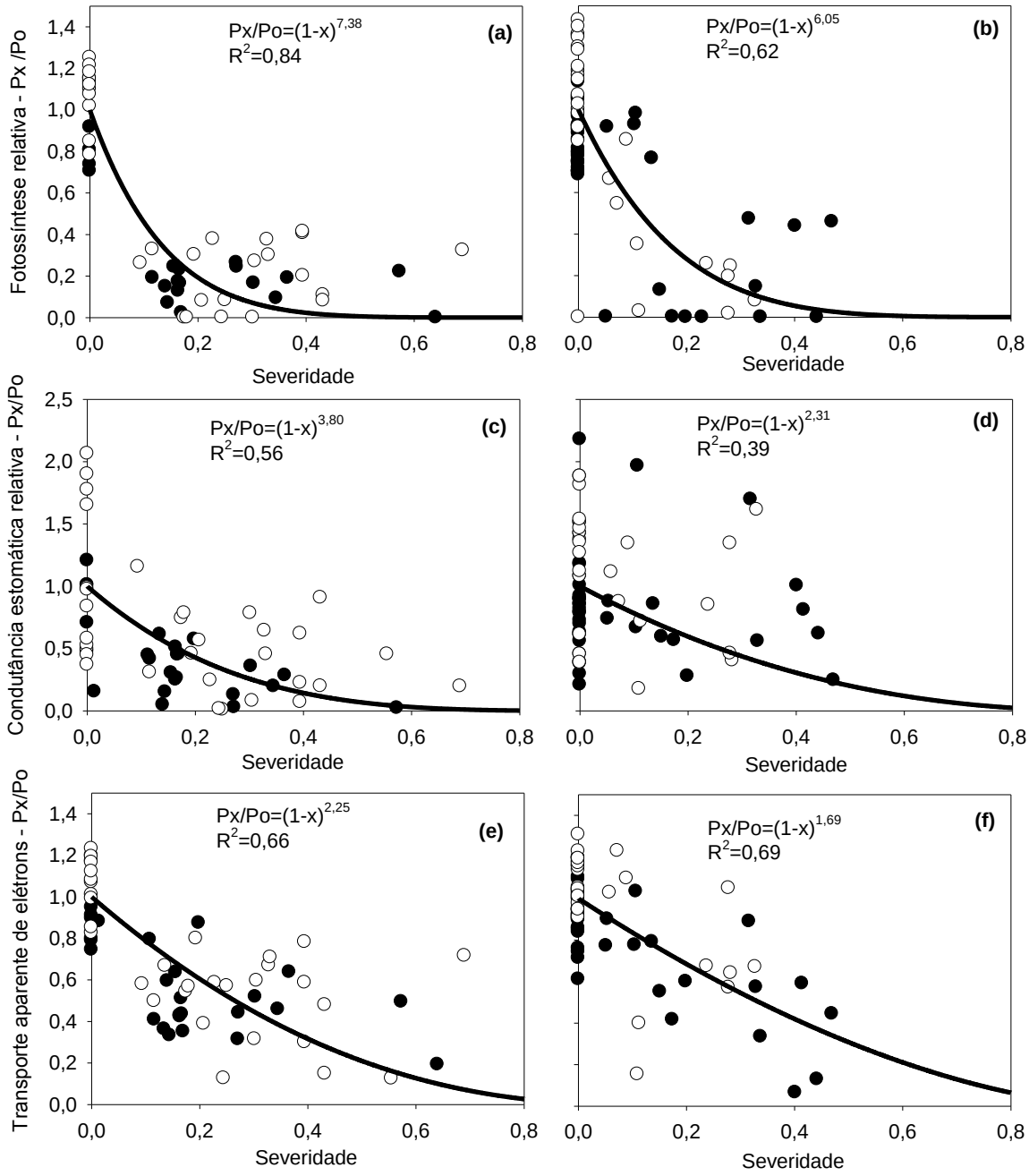

Figura 14. Taxa relativa de fotossíntese líquida (Px/Po) (a,b), taxa relativa de condutância estomática (Px/Po) (c,d) e taxa relativa de transporte aparente de elétrons (Px/Po) (e,f) em função da severidade de ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis*) em folhas de *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo (a,c,e) e *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada (b,d,f). Os dados foram ajustados a equação $Px/Po=(1-sev)^{\beta}$ (BASTIAANS, 1991) (a-f). Símbolo (●), representa valores da primeira repetição e (○) valores da segunda repetição.

Com relação a taxa fotossintética relativa, para *V. vinifera* foi encontrada uma área de lesão virtual 7x maior do que da área lesionada. Para *V. labrusca* o valor encontrado foi de 6x maior, corroborando com os dados observados por Nogueira Jr. (2016) para o mesmo patossistema. Diferentemente de outras ferrugens, como a ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*), em que o valor de β= 2,17 (BASSANEZI et al.; 2001), a ferrugem da videira apresentou valores altos. Para outras doenças da videira, os valores de β também se mostram baixos. Em *Vitis vinifera* cv. Sangiovese para míldio da videira (*Plasmopara viticola)* foi estimado um valor de β= 2,7 e para oídio da videira (*Uncinula necator*) de β= 4,6 (MORIONDO et al.; 2005). Para outros patossistemas como a *Pyricularia oryzae* – arroz (BASTIAANS, 1991), foi observado um valor de β >3.

Os valores reais de condutância estômatica das plantas avaliadas indicaram que não ocorreu interferência do patógeno nos estômatos. Entretanto, valores de condutância estomática relativa mostraram pequeno efeito da lesão virtual, o que indica que regiões ao redor da pústula pode ter o mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos alterados pelo patógeno. Alterações na condutância estomática como efeito da lesão virtual também são observadas para oídio da videira (*Uncinula necator*) em *Vitis vinifera* cv. Sangiovese, com valor de β= 4,6 (MORIONDO et al.; 2005).

Danos no aparato fotossintético podem estar ligados a dificuldades na difusão do CO_2 e alterações nos processos fotoquímicos. Alterações na fotoquímica podem ser identificadas pela redução da eficiência do fotossistema II e transporte aparente de elétrons (ETR), sendo responsáveis na produção de ATP e NADPH (MORIONDO et al.; 2005). A ferrugem da videira interferiu no processo fotoquímico, afetando a eficiência do fotossistema II e o transporte de elétrons do fotossistema II para o I, em ambas as espécies. Doenças interferindo no processo fotoquímico também foram verificadas para os patossistemas oídio (*Uncinula necator*) – *V. vinifera* e míldio (*Plasmopara viticola*) - *V. vinífera* (MORIONDO et al.; 2005).

O efeito da doença no processo fotoquímico também foi observado para o patossistema *Puccinia triticina* – trigo. Nesse patossistema danos no processo fotossintético são causados pela redução da condutância estomática e pela redução da ETR (CARRETERO et al., 2011). Para ferrugem asiática da soja, foi constatada observada uma redução no ETR, indicando que o dano causado por esse patógeno ocorre no processo fotoquímico (KUMUDINI et al., 2008).

Portanto, a ferrugem da videira afetou negativamente a fotossíntese com o aumento da severidade da doença, de maneira similar em ambas as espécies de videira. A *V. labrusca* apresentou maior taxa fotossintética em relação a *V. vinifera*, em folhas assintomáticas, entretanto, o gradiente foi similar demonstrando que ambas as espécies apresentaram o mesmo padrão de redução da fotossíntese com o aumento da severidade da doença. Com os resultados dos dados reais pode-se observar que a doença afetou diretamente o processo fotoquímico de maneira similar em ambas as espécies. Também, em ambas as espécies foram observadas a presença de lesão virtual muito superior ao relatado com outros patossistemas relacionados a videira e a ferrugens, as quais contribuíram para a redução na taxa fotossintética em severidades baixas de ferrugem.

2.3.5. Presença de espécies reativas de oxigênio em folhas de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* inoculadas com *Phakopsora euvitis*

Para constatação da presença de espécies reativas de oxigênio, folhas de ambas as espécies foram inoculadas com 10^4 urediniósporos mL^{-1}, com viabilidade de esporos de 37,5 % na primeira repetição e 35,5 % na segunda repetição. O acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) foi verificado com 1 DAI nas folhas de ambas as espécies (Figura 15, 16, 17). A área e o diâmetro da região com acúmulo de ROS foram similares para ambas as espécies até o 7 DAI (Figura 15). Com o aparecimento das lesões aos 7 DAI ocorreu um aumento acentuado do diâmetro e área com acúmulo de ROS, sendo visualizado até o 13 DAI (Figura 15). Aos 10 DAI, para *V. vinifera*, na região do halo encharcado, como o reagente DAB foi possível verificar um maior acúmulo de H_2O_2 ao redor da pústula.

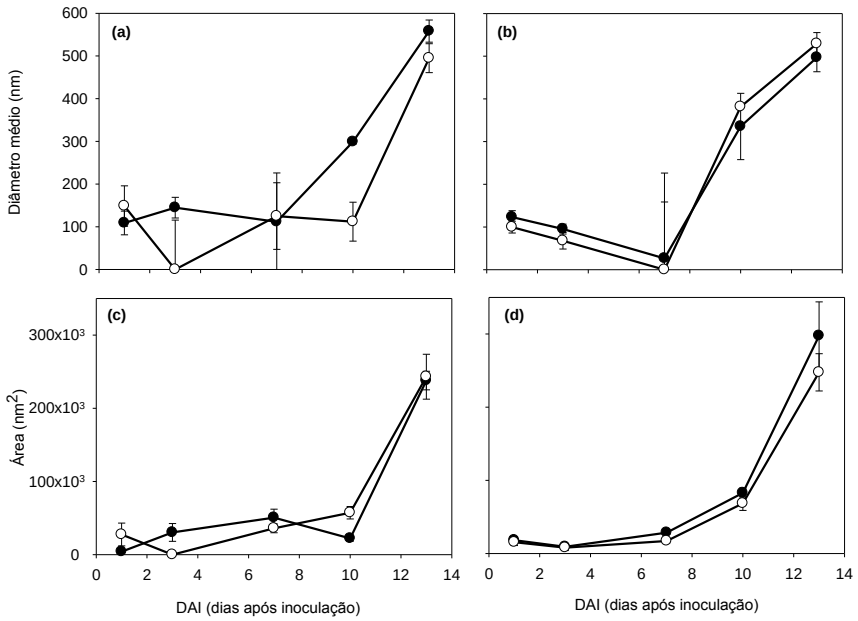

Figura 15. Valores médios (em símbolos) e erro padrão (em barras) para diâmetro médio (a, b) e área (c,d) da região que apresentou coloração marrom para reagente DAB (3,3-diaminobenzidina) 0,1% para indução de peróxido (H_2O_2)(a,c) e coloração azul para reagente NBT (nitroblue tetrazolium) 0,1% para indução de superóxido (O_2^-) (b,d). Símbolos cheios representam valores para *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo. Símbolos vazios representam valores para *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada.

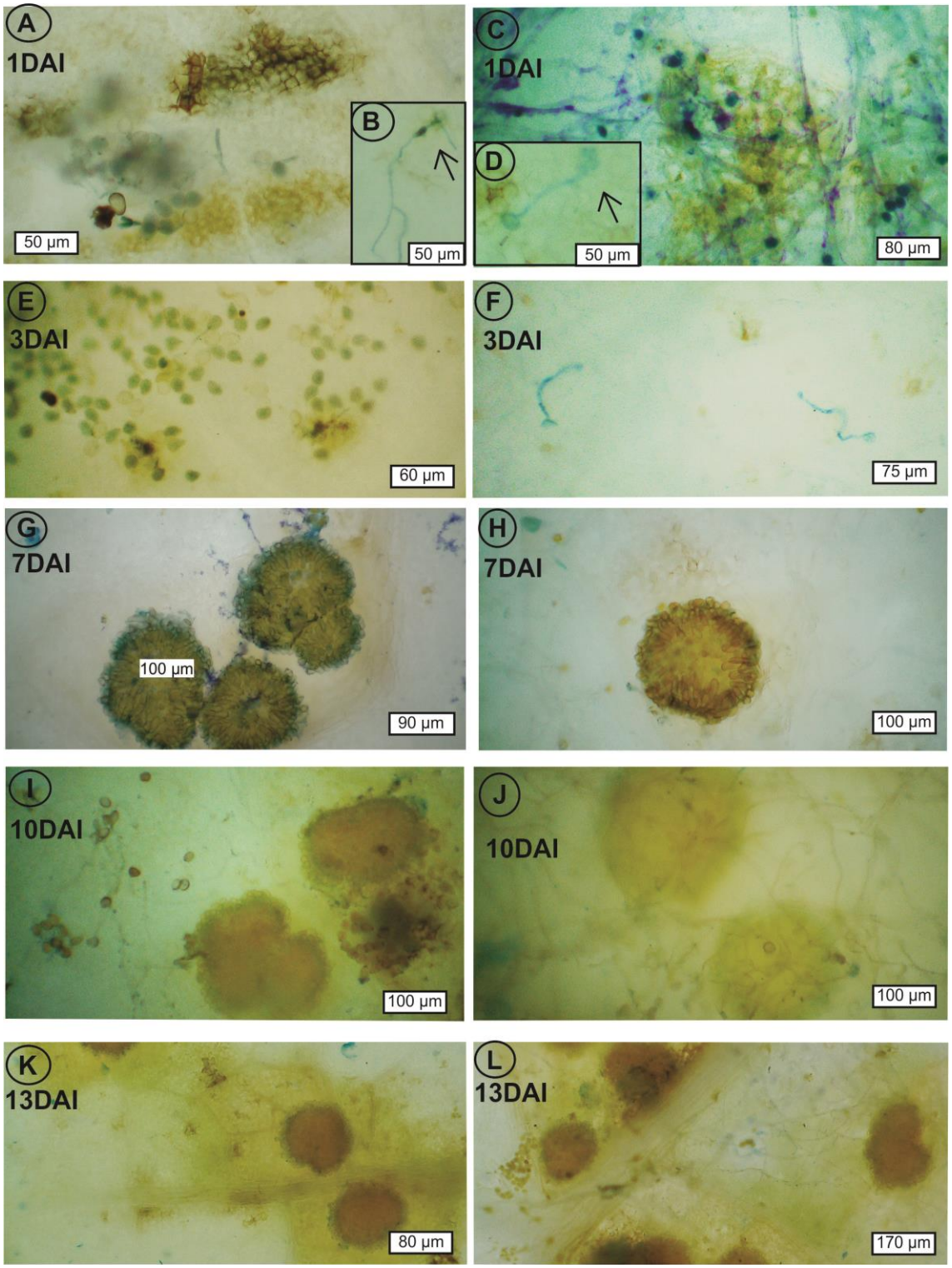

Figura 16. A. Folhas tratadas com DAB (3,3-diaminobenzidina) 0,1% para indução de peróxido (H_2O_2). A,B,E,G,I,K. *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo. C,D,F,H,J,L. *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada. A-D.1DAI (B,D. Detalhes: penetração pelo estômato). E,F. 3DAI. G,H. 7DAI. I,J. 10DAI. K,L. 13DAI. Os esporos apresentam coloração marrom - amarelado.

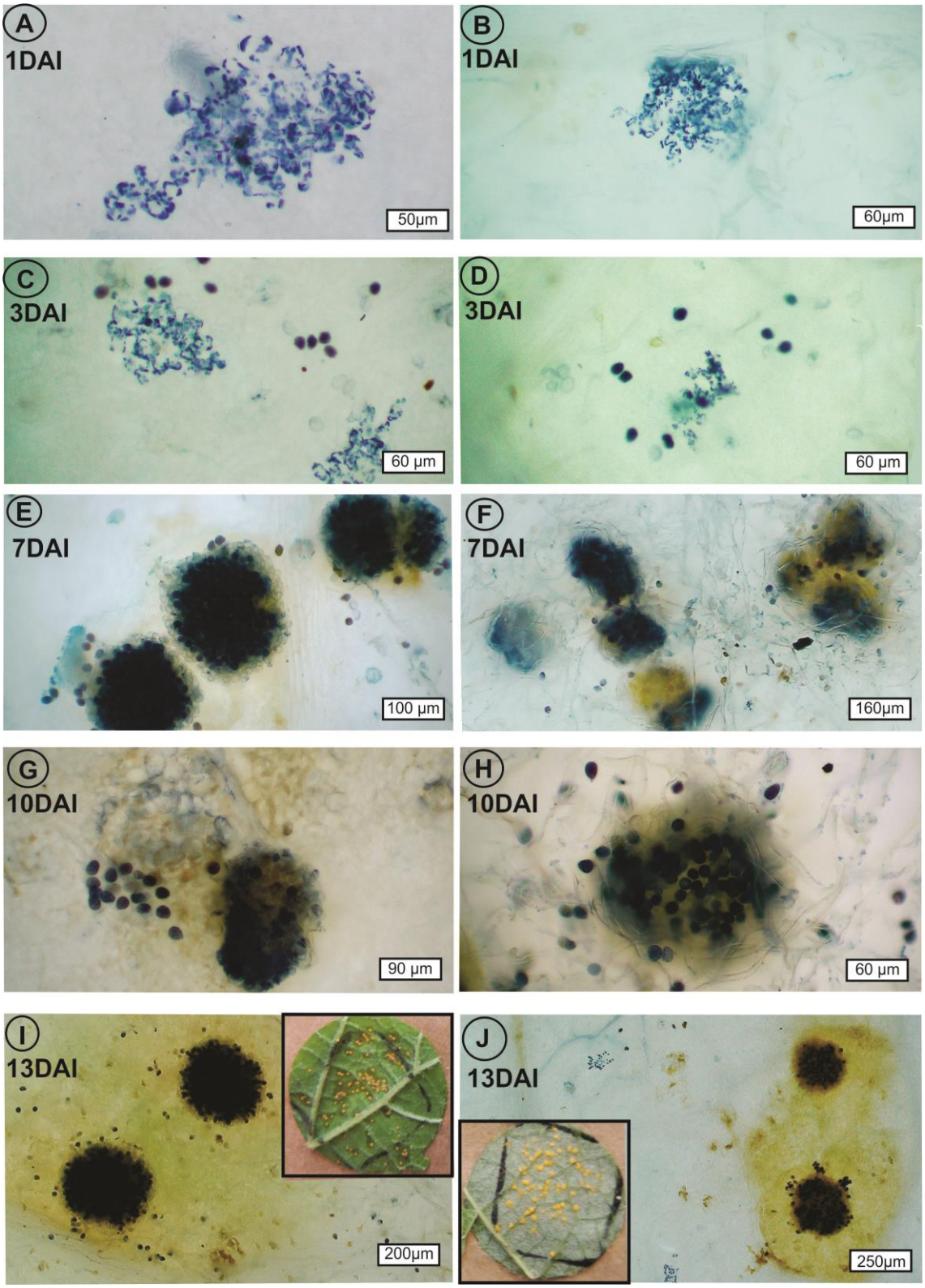

Figura 17. Folhas tratadas com NBT (nitroblue tetrazolium) 0,1% para indução de superóxido (O_2^-). A,C,E,G,I. *Vitis vinifera* cv. Moscato Giallo. B,D,F,H,J. *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada. A,B. 1DAI. C, diâmetro 13 DAI. D. 3DAI. E,F. 7DAI. G,H. 10DAI. I,J. 13DAI. Detalhe: discos foliares com dois centímetros de diâmetro. Os esporos apresentam coloração violeta.

Em *V. vinifera* e *V. labrusca* inoculadas com *Phakopsora euvitis* foi observada presença tanto de peróxido como de superóxido com 1 DAI. Com o surgimento das lesões aos 7 DAI foi observado que as pústulas reagiram apresentando coloração amarronzada para DAB e azul para NBT, sem acúmulo de ROS ao redor da pústula. Aos 10 e 13 DAI foi observado um halo de coloração amarronzada tanto para o reagente DAB como para o reagente NBT, o que pode estar indicando morte celular do tecido ao redor da pústula. Morte celular do tecido ao redor da lesão também foi verificada em *Plasmopara viticola* utilizando o reagente nitroblue tetrazolium (NBT) (KORTEKAMP; ZYPRIAN, 2003). Com 10 DAI o fungo já tinha colonizado os tecidos adjacentes à pústula, portanto outros mecanismos de defesa da planta estavam envolvidos, como o observado para *V. vinifera*, em que houve acúmulo de celulose e de substâncias pécticas aos 15 DAI.

Em *Vitis* spp. resistentes a *Plasmopara viticola* foi observado o acúmulo de ânions de superóxido de 4 a 6 horas após inoculação (HAI) e posteriormente houve resposta de hipersensibilidade 6 a 8 HAI quando as células apresentaram uma coloração marrom. Com 10 a 12 HAI foi observado aumento da atividade da peroxidase e entre 15 HAI foi observado acúmulo de compostos fenólicos (KORTEKAMP; ZYPRIAN, 2003). Dessa forma para *Plasmopara viticola*, em cultivares resistentes é observada resposta de hipersensibilidade, ao passo que em cultivares suscetíveis aos 1 DAI não foi observada nenhuma reação e aos 2 DAI foi observada necrose no tecido devido à colonização do oomiceto (KORTEKAMP, 2006).

Portanto, além dos mecanismos de defesa física como acúmulo de celulose na parede celular, também foi verificada a presença de espécies reativas de oxigênio. A produção de peróxidos de hidrogênio e de ânions de superóxido pode ser sinalizada por diferentes compostos, como os monômeros provenientes da quebra da parede celular por fragmentos de célula: celulose, hemicelulose, pectina e lignina; hormônios e enzimas como a celulase, hemicelulase, pectinase, além da peroxidase geralmente produzida pela planta.

2.4. Considerações Finais

Para a comparação de doenças entre as espécies, o conhecimento dos fatores que influenciam na eficiência de doença é fundamental para estimar o curso da epidemia. Com informações sobre temperatura e período de molhamento foliar favoráveis a formação de lesões somadas a outros componentes epidemiológicos como período de latência, período infeccioso, capacidade de esporulação e viabilidade dos esporos produzidos é possível desenvolver modelos para estimar a severidade de doença no campo (TENG, 1985).

Em *Vitis labrusca*, o período de molhamento foliar e a temperatura, no período de infecção, assim como a concentração de inóculo influenciam na eficiência da doença e consequentemente na severidade da ferrugem da videira. A eficiência de doença diminui quanto ocorre restrição pelo número de sítios de infecção disponíveis.

A maioria dos componentes epidemiológicos avaliados mostrou que a *Vitis labrusca* foi mais suscetível à ferrugem do que a *V. vinifera.* Em *V. labrusca* foi observado maior severidade da doença durante o período infeccioso. Tanto em *V. labrusca* quanto em *V. vinifera* as folhas mais velhas em comparação com folhas mais novas apresentaram maior severidade da doença e maior capacidade de esporulação. Esse resultado condiz com o comportamento da doença no campo, a qual é importante após a colheita dos frutos (AMORIM et al., 2016).

O padrão intermitente de esporulação observado para a ferrugem da videira em ambas as espécies ocorre em patossistemas de regiões de clima tropical (BERGAMIN FILHO, AMORIM, 1996). A doença já foi relatada em regiões tropicais da América do Sul, sul dos Estados Unidos, oeste da Rússia, Japão e outros países do Sul da Ásia (CABI, Crop Protection Compendium, 2015).

Em *V. vinifera* o sintoma da doença se diferencia da *V. labrusca* pela presença de um halo encharcado ao redor da lesão. Nesse halo foi verificado acúmulo de substâncias pécticas, que por serem hidrofílicas, caracterizam o seu aspecto encharcado, além do acúmulo de celulose na parece celular, o que restringiu a colonização do fungo nessa região. Em *V. labrusca* foi observado maior número de urédias por pústula, o que pode caracterizar o maior crescimento da lesão devido ao surgimento de urédias satélites oriundas da primeira infecção. Outros mecanismos de defesa do hospedeiro também foram observados no início do

processo de infecção, como a produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio nos sítios de infecção. Em ambas as espécies foram observadas presença de ROS logo no primeiro dia após a inoculação.

Nas espécies de videiras, a doença interferiu na fotossíntese causando danos no processo fotoquímico, devido à redução da eficiência do fotossistema II e consequentemente do transporte aparente de elétrons. Verificou-se também o efeito da lesão virtual afetando a condutância estomática e o processo fotoquímico.

Informações sobre a *Phakopsora euvitis* em *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca* obtidas no presente trabalho são importante para compreensão do desenvolvimento da doença. O conhecimento das condições climáticas favoráveis a formação dos sintomas e a epidemiologia da doença são importantes no entendimento do progresso da doença e, posteriormente, na definição do melhor manejo da doença no campo.

3. CONCLUSÕES

O período de molhamento foliar e a temperatura no processo de infecção, assim como a concentração de inóculo de *Phakopsora euvitis* influenciam na eficiência de doença e consequentemente na severidade de ferrugem em *Vitis labrusca.*

Ao longo do período infeccioso, a *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada apresenta maior severidade de ferrugem da videira que *V. vinifera* cv. Moscato Giallo.

O período de latência e período infeccioso da ferrugem da videira são similares em *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada e *V. vinifera* cv. Moscato Giallo.

Folhas mais velhas (com 60 dias após a brotação) são mais suscetíveis à ferrugem da videira que folhas mais jovens (34 e 24 dias após a brotação). As folhas mais velhas tem maior capacidade de esporulação.

Em folhas de *V. vinifera* cv. Moscato Giallo há a presença de um halo encharcado ao redor da lesão. Nessa região há acúmulo de substâncias pécticas e celulose que funcionam como mecanismos de defesa do hospedeiro para a ferrugem da videira.

Em folhas de *V. labrusca* cv. Niágara Rosada são observadas urédias satélites oriundas da primeira infecção que caracterizam o crescimento da pústula.

A ferrugem da videira causa danos no processo fotoquímico, pela redução do transporte aparente de elétrons.

Em folhas de *V. vinifera* cv. Moscato Giallo assim como de *V. labrusca* cv. Niágara Rosada a ferrugem da videira reduz a fotossíntese tanto na região da lesão quanto na região assintomática ao redor da pústula.

Em folhas de *V. vinifera* cv. Moscato Giallo assim como de *V. labrusca* cv. Niágara Rosada há a presença de espécies reativas de oxigênio (ROS), verificadas horas após a infecção por *Phakopsora euvitis.*

REFERÊNCIAS

ALVES, R. F. Ferrugem da videira: preservação de urediniósporos de *Phakopsora euvitis* e fatores relacionados à infecção do hospedeiro. **Dissertação de mestrado.** Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba,2015.58p.

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Fenologia, Patometria e Quantificação de Danos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos v.1**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 517–542.

AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. Ciclo de Relações Patógeno-Hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos v.1**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 59–99.

AMORIM, L.; SPÓSITO, M. B.; KUNIYUKI, H. Doenças da videira. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas.** 5. ed. Ouro Fino- MG: Agronômica Ceres, 2016. p. 745–758.

ANGELOTTI, F. **Epidemiologia da ferrugem (*Phakopsora euvitis*) da videira (*Vitis* spp.)**. Maringá-PR. Universidade Estadual de Maringá, 2006. 66p.

ANGELOTTI, F. SCAPIN, C.R.; TESSMANN, D.J.; VIDA, J.B.; VIEIRA, R.A.; SOUTO, E.R. Resistência de genótipos de videira à ferrugem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1129–1134, 2008.

ANGELOTTI, F. SCAPIN, C.R.; TESSMANN, D.J.; Vida, J.B.; CANTERI, M.G. The effect of temperature, leaf wetness and light on development of grapevine rust. **Australasian Plant Pathology**, v. 43, n. 1, p. 9–13, 2014.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; BRON, I.U.; MACHADO, S.R. Lanosidade em cultivares de pêssego (*Prunus persica* (L.) Batsch): estudos anatômicos e ultra-estruturais. **Revista Brasileira de Botânica**, v.27, n.1, p.55-61, jan.-mar. 2004.

BAGGIO, J. S.; GONÇALVES, F.P.; LOURENÇO, S.A.; TANAKA; F.A.O.; PASCHOLATI, S.F.; AMORIM, L. Direct penetration of *Rhizopus stolonifer* into stone fruits causing rhizopus rot. **Plant Pathology**, v. 65, n. 4, p. 633–642, 2016.

BALBI-PEÑA, M. I.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Differential occurrence of the oxidative burst and the activity of defence-related enzymes in compatible and incompatible tomato-*Oidium neolycopersici* interactions. **Australasian Plant Pathology**, v. 41, n. 5, p. 573–586, 2012.

BALDO, M.; STAGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Detecção in situ de espécies reativas de oxigênio em feijoeiro tratado com exttatos de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 4, 2011.

BASSANEZI, R. B.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B. Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of Phaseolus bean at different temperatures. **Plant Pathology**, v. 47, n. 3, p. 289–298, 1998.

BASSANEZI, R. B.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B. Accounting for photosynthetic efficiency of bean leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. **Plant Pathology**. V. 50, p. 443-452, 2001.

BASSANEZI, R. B.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; BERGER, R.D. Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. **Journal of Phytopathology**, v. 150, n. 1, p. 37–47, 2002.

BASSO, M.F.; FAJARDO, M.F.; SANTOS, H.P.; GUERRA,C.C.; AYUB, R.A.; NICKEL, O. Fisiologia foliar e qualidade enológica da uva em videiras infectadas por vírus. Tropical Plant Pathology, v. 35,n. 6, p. 351-359. 2010.

BASTIAANS, L. Ratio Between Virtual and Visual Lesion Size as a Mensure to Describe Reduction in leaf Photosynthesis of Rce Due to Leaf Rice, **Phytopathology,** v.81, n.6, p.611-615, 1991.

BELLINCAMPI, D.; CERVONE, F.; LIONETTI, V. Plant cell wall dynamics and wall-related susceptibility in plant-pathogen interactions. **Frontiers in Plant Science** v. 5, article 228, p. 1-8, 21

BELTRAME, A. Efeito de cianobactérias e algas eucarióticas na resistência de plantas de fumo contra o *Tobacco mosaic virus* (TMV). **Dissertação de mestrado.** Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba,2005. 88p.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiomicalogia e Controle Econômico**. Editora Agronômica São Paulo: 289p., 1996.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; LARANJEIRA, F.F.; BERGER, R.D.; HAU, B. Análise Temporal do Amarelecimento Fatal do Dendezeiro como Ferramenta para Elucidar sua Etiologia. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p. 391–296, 1998.

BERGER, R. D.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Lesion expansion as an epidemic component. **Phytopathology**, v. 87, n. 10, p. 1005–1013, 1997.

BERGHAUS, R.; REISENER, J. changes in photosynthesis of wheat plants infected with Wheat Stem Rust (*Puccinia graminis* f . sp . *tritici*). **Phythopathologische Zeitschrift**, v. 172, p. 165–172, 1985.

BONDE, M. R.; NESTER, S.E.; AUSTIN, C.N.; STONE, C.L.; FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G. L.; MILES, M.R. Evaluation of virulence of *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomiae* isolates. **Plant Disease**, v. 90, n. 6, p. 708–716, 2006.

BOSO, S.; ALONSO-VILLAVERDE, V.; SANTIAGO, J:L:; GADO, P; DÜRRENBERGER, M.; DÜGGELINM.; KASSEMEYER,H.H.; MARTINEZ, M.C. Macro- and microscopic leaf characteristics of six grapevine genotypes (*Vitis* spp.) with different susceptibilities to grapevine downy mildew. **Vitis - Journal of Grapevine Research**, v. 49, n. 1, p. 43–50, 2010.

CABI, Crop Protection Compendium. http://www.cabi.org/cpc/datasheet/40016. Acesso em 26/06/2015.

CALONNEC, A.; BURIE, J-B.; LANGLAIS, M.; GUYADER, S.; SAINT-JEAN, S.; SACHE, I.; TIVOLI, B. Impacts of plant growth and architecture on pathogen processes and their consequences for epidemic behaviour. **European Journal of Plant Pathology**, v. 135, n. 3, p. 479–497, 2013.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. New York. Wiley,1990.

CAPPELLO, F. P. Análise comparativa do custo de produção e rentabilidade da uva “ Niágara Rosada ” cultivada em diferentes regiões do Estado de São Paulo, **Dissertação de mestrado.** Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP, 2014. 105p.

CARRETERO, R.; BANCAL, M.O.; MIRALLES; D.J. Effect of leaf rust (*Puccinia triticina*) on photosynthesis and related processes of leaves in wheat crops grown at two contrasting sites and with different nitrogen levels. **European Journal of Agronomy**, v. 35, p.237-246, 2011.

CARISSE, O.; BOUCHARD, J. Age-related susceptibility of strawberry leaves and berries to infection by *Podosphaera aphanis*. **Crop Protection**, v. 29, n. 9, p. 969–978, 2010.

CHAKRAVORTY, A.K.; SCOTT, K.J. Biochemistry of Host Rust Interactions. In: SCOTT, K.J.; CHAKRAVORTY, A.K. (Eds.) **The Rust Fungi**. Academic Press London. 1982. 288p.

COSTA, T.V.; TARSITANO, M.A.A.; CONCEIÇÃO, M.A.F. Caracterização social e tecnológica da produção de uvas para mesa em pequenas propriedades rurais da região de Jales-SP. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 2, p. 766-773, Junho 2012.

DALY, A.M., HENNESSY, C.R., SCHULTZ, G. C. New host for the grapevine leaf rust fungus, *Phakopsora euvitis*. **Australasian Plant Pathology**: 34, p.415-416, 2005.

DORAN, W. M. Effect of external and internal factors on the germination of fungous spores. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 49, n. 11, p. 313–340, 1922.

EMBRAPA. **Embrapa Circular técnica. Principais doencas fúngicas da videira no Sul do Brasil.** Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/circular/cir056.pdf>. Acesso em: 8 jul. 2015.

EMGE, R. G; KINGSOLVER, C.H.; JOHNSON, D.R. Growth of sporulating zone of *Puccinia striiformis* and its relationship to Rust Stripe Rust epiphytology, **Phytopathology**, v.65, p. 679–681, 1975.

FAO. **FAOSTAT**, 2015. Disponível em: <http://faostat3.fao.org>, acesso em 6 de novembro de 2015.

FICKE, A.; GADOURY, D. M.; SEEM, R. C. Ontogenic resistance and plant disease management: a case study of grape powdery mildew. **Phytopathology**, v. 92, n. 6, p. 671–675, 2002.

FRACARO, ANTONIO AUGUSTO, PEREIRA, F. M. Efeito do ethephon sobre a brotação e vigor dos ramos da videira “niagara rosada” (*Vitis labrusca* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. Jaboticabal-SP, v. 26, n. 3, p. 399– 402, Dezembro, 2004.

GADOURY, D. M. .; SEEM, R.C.; FOCKER, A.; WILCOX, W. F. The epidemiology of powdery mildew on concord grapes. **Phytopathology**, v. 91, n. 10, p. 948–955, 2001.

GESSLER, C.; PERTOT, I.; PERAZZOLLI, M. *Plasmopara viticola*: a review of knowlodge on downy mildew of grapevine and effective disease management. **Phytopathologia Mediterranea**, v.50, p.3-44, 2011.

GEE, C. T.; GADOURY, D. M.; CADLE-DAVIDSON, L. Ontogenic resistance to *Uncinula necator* varies by genotype and tissue type in a diverse collection of *Vitis* spp. **Plant Disease**, v. 92, n. 7, p. 1067–1073, 2008.

GINDRO, K.; PEZET, R.; VIRET, O. Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 41, n. 9, p. 846–853, 2003.

GOVRIN, E.M.; LEVINE, A. The hypersensitive response facilitates plant infection by the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea.* **Current Biology**, v. 10, n.13, p. 751-757, 2000.

HAU, B. Epidemiologische Simulatoren als Instrumente der Systemanalyse mit besonderer Berücksichtigung eines Modells des Gesternmehltaus. **Acta phytomedica:9**, v. Berlin-Ham, 1985.

HENNESSY, C. R.; DALY, A. M.; HEARNDEN, M. N. Assessment of grapevine cultivars for resistance to *Phakopsora euvitis*. **Australasian Plant Pathology**, v. 36, n. 4, p. 313–317, 2007.

IBGE. **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA** - 2015. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Pesquisa Mensal de Previsão e Acompanhamento das Safras Agrícolas no Ano Civil. Janeiro 2015.

IMHOFF, M. W.; MAIN, C. E.; LEONARD, K. J. Effect of Temperature, Dew Period, and Age of Leaves, Spores, and Suource Pustules on Germination of Bean Rust Urediniospores. **Phytopathology**, v. 71, p. 577–583, 1981.

KARNOVSKY, M. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of righ osmolality for use in electron microscopy. **Journal Cell Biology**, v. 27, n. 15, p. 137, 1965.

KELLER, M. **The Science of Grapevines - Anatomy and Physiology**. Washington, USA: Elsevier, 2010.

KENNELLY, M. M. et al. Seasonal development of ontogenic resistance to downy mildew in grape berries and rachises. **Phytopathology**, v. 95, n. 12, p. 1445–52, 2005.

KEOGH, R. C.; DEVERALL, B. J.; MCLEOD, S. Comparison of histological and physiological responses to *Phakopsora pachyrhizi* in resistant and susceptible soybean. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 74, n. 2, p. 329–333, 1980.

KORTEKAMP, A.; ZYPRIAN, E. Leaf hairs as a basic protective barrier against downy mildew of grape. **Journal of Phytopathology**, v. 147, n. 7–8, p. 453–459, 1999.

KORTEKAMP, A.; ZYPRIAN, E. Characterization of *Plasmopara*-Resistance in grapevine using *in vitro* plants. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p. 1393-1400, 2003.

KORTEKAMP, A. Expression analysis of defence-related genes in grapevine leaves after inoculation with a host and a non-host pathogen. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.44, p. 58-67, 2006.

KRANZ, J. **Epidemiologie der Pflanzenkrankheiten: Eine Einführung**. Stuttgart (Hohenheim): Ulmer, 1996.

KRANZ, J. **Comparative Epidemiology of plant Disease**. 211p., 2003.

KRIEDEMANN, P. E.; KLIEWER, W. M.; HARRIS, J. M. Leaf age and photosynthesis in *Vitis vinifera* L. ***Vitis* - Journal of Grapevine Research**, v. 9, p. 97–104, 1970.

KUMUDINI, S.; PRIOR, E.; OMIELAN, J.; TOLLENAAR, M. Impact of *Phakopsora pachyrhizi* infection on soybean leaf photosythesis and radiation aborption. **Crop Science**, v. 48, p. 2343- 2350, 2008.

LALANCETTE, N.; ELLIS, M. A.; MADDEN, L. V. Estimating infection efficiency of *Plasmopara viticola* on grape. **Plant Disease**, v. 71, n. 11, p. 981–983, 1987.

LALANCETTE, N.; MADDEN, L. V.; ELLIS, M. A. A quantitative model for describing the sporulation of *Plasmopara Viticola* on grape leaves. **Phytopathology**, v. 78, n. n. 10, p. 1316–1321, 1988a.

LALANCETTE, N.; ELLIS, M. A.; MADDEN, L. V. Development of an infection efficiency model for *Plasmopara viticola* on american grape based on temperature and duration of leaf wetness. **Phytopathology**, v. Vol.78 N.6, p. 794–800, 1988b.

LEITE, R.M.V.B.C.; AMORIM, L. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha de Alternaria em girassol. **Fitopatologia Brasileira** v.27, p.193-200, 2002.

LEU, L.S. 1988. Rust. In: PERSON, R.C.; GOHENN, A.C. eds. **Compendium of Grape Diseases**. St Paul, MN, USA: APS, 28–3

LONG, D.E.; FUNG, A.K.; McGEE, E.M.M.; COOKE, R.C.; LEWIS, D.H. The activity of invertase and its relevance to the accumulation of storage polysaccharides in leaves infected by biotrophic fungi. **New Phythologist**, v.74, p. 173-182. 1975.

MARCHETTI, M.A.; UECKER, F.A.; BROMFIELD, K.R. Uredial development of *Phakopsora pachyrhizi* in Soybeans. **Phytopathology,** v. 65, p. 822-823. 1975.

MARQUES, J. P. R.; KITAJIMA, E.W.; FREITAS-ASTÚA, J.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA,B. Comparative morpho-anatomical studies of the lesions caused by citrus leprosis virus on sweet orange. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 82, n. 2, p. 501–511, 2010.

MARQUES, J. P. R.;AMORIM. L.; SILVA-JUNIOR, G. J.; SPÓSITO M.,B.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B. Structural and biochemical characteristics of citrus flowers associated with defence against a fungal pathogen. **AoB PLANTS**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2014.

MAY DE MIO, L.L.; NOVAES, Q.S.; ALVES, E. Metodologias de preparação de amostras de ferrugem para estudos morfológicos de urediniósporos por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 3, p. 267–273, 2006.

MCLEAN, R. J. Histological studies of resistance to Soybean Rust, *Phakopsora pachyrhizi* Syd. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 30, n. 1, p. 77–84, 1979.

MEHAN, V.K.; REDDY, P.M.; VIDYASAGAR RAO, K.; MCDONALD, D. Components of rust resistance in peanut genotypes. **Phytopathology**, v. 84, p. 1421–1426, 1994.

MEHTA, Y. R.; ZADOKS, J. C. Uredospore production and sporulation period of *Puccinia recondita* f. sp. triticina on primary leaves of wheat. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 76, n. 5, p. 267–276, 1970.

MELCHING, J. S.; BROMFIELD, K. R.; KINGSOLVER, C. H. Infection, colonization and uredospore production on wayne soybean by four cultures of *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of Soybean Rust. **Phytopathology**, v. 69, p. 1262–1265, 1979.

MELCHING, J. S.; DOWLER, W.M.; KLOOGLE, D.L.; ROYER, M.H. Effect of plant and leaf age on susceptibility of soybean to soybean rust. **Canadian Journal of Plant Pathology**, n. 10, p. 30–35, 1988.

MENDES, B. M. J.; BERGAMIN FILHO, A. Influence of temperature, wetness duration, and leaf type on the quantification of monocyclic parameters of Bean Rust. **Phytopathologische Zeitschrift**, v. 126, n. 2, p. 183–189, 1989.

MILES, M.R., FREDERICK, R.D.; HARTMAN, G.L. Soybean Rust: Is the U.S. Soybean Crop At Risk? **APSnet Features**. 2003.

MORIONDO, M.; ORLANDINI, S.; GIUNTOLI, A.; BINDI, M. The Effect of Downy and Powdery Mildew on Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Leaf Gas Exchange. **Journal of Phytopathology** v.153, p 350-357, 2005.

MONTEIRO, A.; TEIXEIRA, G.; LOPES, C. M. Comparative leaf micromorphoanatomy of *Vitis vinifera* spp. vinifera (vitaceae) red cultivars. **Ciencia e Tecnica Vitivinicola**, v. 28, n. 1, p. 19–28, 2013.

NEERVOORT, W. J.; PARLEVLIET, J. E. Partial resistance of barley to leaf rust *Puccinia hordei*. Analysis of the components of partial resistance in eight barley cultivars. **Euphytica**, v. 27, p. 33–39, 1978.

NAIL, W.R.; HOWELL, G.S. Effects of Powdery Mildew of Grape on Carbon Assimilation Mechanisms of Potted ‘Chardonnay’ Grapes. **HortScience**, v.39, n.7, p. 1670-1673, 2004.

NOGUEIRA JÚNIOR, A.; Quantificação e modelagem dos mecanismos de danos causados por *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara viticola* em videira *Vitis labrusca*. **Tese de Doutorado**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba,2015.154p.

ONO, A. Y. Taxonomy of the Phakopsora ampelopsidis species complex on vitaceous hosts in Asia including a new species, *P. euvitis*. **Mycologia**, v. 92 (1), n. 1, p. 154–173., 2000.

PARLEVLIET, J. E. Components of Resistance that Reduce the Rate of Epidemic Development. **Annual Review of Phytopathology**, v. 17, n. 1, p. 203–222, 1979.

PASCHOLATI, S. Fisiologia do Parasitismo: Como as plantas se defendem dos Patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos v.1**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 593 a 636.

PFENDER, W. F. Monocyclic and Polycyclic Root Diseases: Distinguishing Between the Nature of the Disease Cycle and the Shape of the Disease Progress Curve. **Phytopathology**, v. Vol.72, n. N.1, p. 31–32, 1992.

PRIMIANO, I.V.; LOEHRER M.; AMORIM, A.; SCHAFFRATH, U. Asian grapevine leaf rust caused *Phakopsora euvitis*: an important disease in Brazil. **Plant Pathology**, doi: 10.1111/ppa.12662. 2016.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. Photosynthesis. In. **Biology of Plants**. 5. Ed. Worth Publishers, New York, 1992. 728p.

SACHE, I. Effect of density and age of lesions on sporulation capacity and infection efficiency in wheat leaf rust (*Puccicnia recondita* f.sp. tritici). **Plant Pathology**, v. 46, p. 581–589, 1997.

SAKAI. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using Toluidine Blue O. **Stain Technology**, v. 48, n. 5, p. 1966–1968, 1973.

SAMBORSKI, D. J.; FORSYTH, F. R. inhibition of rust development on detached wheat leaves by metabolites, antimetabolites, and enzyme poisons. **Canadian Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 467–476, 1960.

SCHEIN, R.D., ROTEM, J. Temperature and humidity effects on uredospores viability. **Mycologia** , v. 57, n. 3, p. 397–403, 1965.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis **Nature methods** v.9(7),p. 671-675, 2012.

SCHOLES, J. D.; FARRAR, J. F. Increased rates of photosynthesis in localized regions of a barley leaf infected with Brown Rust. **New Phytologist**, v. 104, n. 4, p. 601–612, 1986.

SCHUCK, C. Infection strategies of plant parasitic fungi. In: COOKE, B. M.; GARETH-JONES, D.; KAYE, B. (Eds.). **The Epidemiology of Plant Disease**. 2. ed., p. 117–138, 2006.

SCHULTZ, H.R.; KIEFER, W.; GRUPPE, W. Photosynthetic duration, carboxylation efficiency and stomatal limitation of sun and shade leaves of different ages in field –grown grapevine (*Vitis vinifera* L.) **Vitis**, v. 35, n.4, p. 169- 176. 1996

SHANER, G. response of susceptible and slow leaf-rusting wheats to infection by *Puccinia recondita*. **Phytopathology**, v. 68, n. 3, p. 471, 1978.

SHTEINBERG, D. Effect of foliar diseases on gas exchange processes: A comparative study**. Phytopathology**, v.82, n.7, p.760–765, 1992.

SPÓSITO, M. B.; BASSANEZI, R. B.; AMORIM, L. Resistência à Mancha Preta dos citros avaliada por curvas de progresso da doença. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 532–537, 2004.

SIMÃO, S. **Tratado de Fruticultura**. p. 709- 757. FEALQ, Piracicaba, 1998.

SOUZA, J.S.I. de, **Uvas para o Brasil.** 791 p. Piracicaba, FEALQ, 1996.

TECCHIO, M.A.; TERRA, M.M.; MOURA, M.F.; PAIOLI-PIRIS, E.J. Fenologia e acúmulo de graus-dia da videira 'Niagara Rosada' cultivada ao noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, p. 248-254, 2011.

TENG, P.S., CLOSE, R. C. Effect of temperature and uredium density on urediniospore production, latent period, and infectious period of *Puccinia hordei* Otth. **New Zealand Journal of Agricultural Research:** 21, p. 287–296, 1978.

TENG, P. S.; BLACKIE, M. J.; CLOSE, R. C. A simulation analysis of crop yield loss due to rust disease. **Agricultural Systems**, v. 2, n. 3, p. 189–198, 1977.

TENG, P. S. A comparison of simulation approches to epidemic modeling. **Annual Review Phytopathology**, v. 23, p. 351–79, 1985.

TESSMANN, D. J. et al. Grape rust caused by *Phakopsora euvitis*, a new disease for Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 338–338, 2004.

VANDERPLANK, J. E. **Disease Resistence in Plants**. 2 ed., 194p., 1984.

VALE, F.X.R., FERNANDES FILHO, E.I.F., LIBERATO, J. R. QUANT – a software for plant disease severity assessment. **In: Proceedings of the 8th International Congress of Plant Pathology. Christchurch, NZ.**, p. Pg. 105., 2003.

WALTERS, D. R.; MCROBERTS, N.; FITT, B. D. L. Are green islands red herrings? Significance of green islands in plant interactions with pathogens and pests. **Biological Reviews**, v. 83, n. 1, p. 79–102, 2008.

WEBB, D.H., NUTTER JR., F. W. Effects of leaf wetness duration and temperatura on infection efficiency, latent period, and rate of pustule appearence of rust in alfalfa. **Phytopathology**, v. 87, n. 9, p. 946–950, 1997.

YANG, S. et al. Wheat resistance to Fusarium head blight is associated with changes in photosynthetic parameters. **Plant Disease**, v. 100, n. 4, p. 847–852, abr. 2016.

YEH, C. C.; SINCLAIR, J. B.; TSCHANZ, A. T. Uredospore production and factors affecting teliospore formation on soybeans. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 33, n. 1, p. 25–31, 1982

ZADOKS, J.C. The role of epidemiology in modern phytopathology. **Phytopathology**, v. 64, p. 918–923, 1974.

ZADOKS, J.C.; SCHEIN, R.D. Monocyclic process in epidemiology. In: **Epidemiology and Plant Disease Management**. p. 427, 1979.

ANEXOS

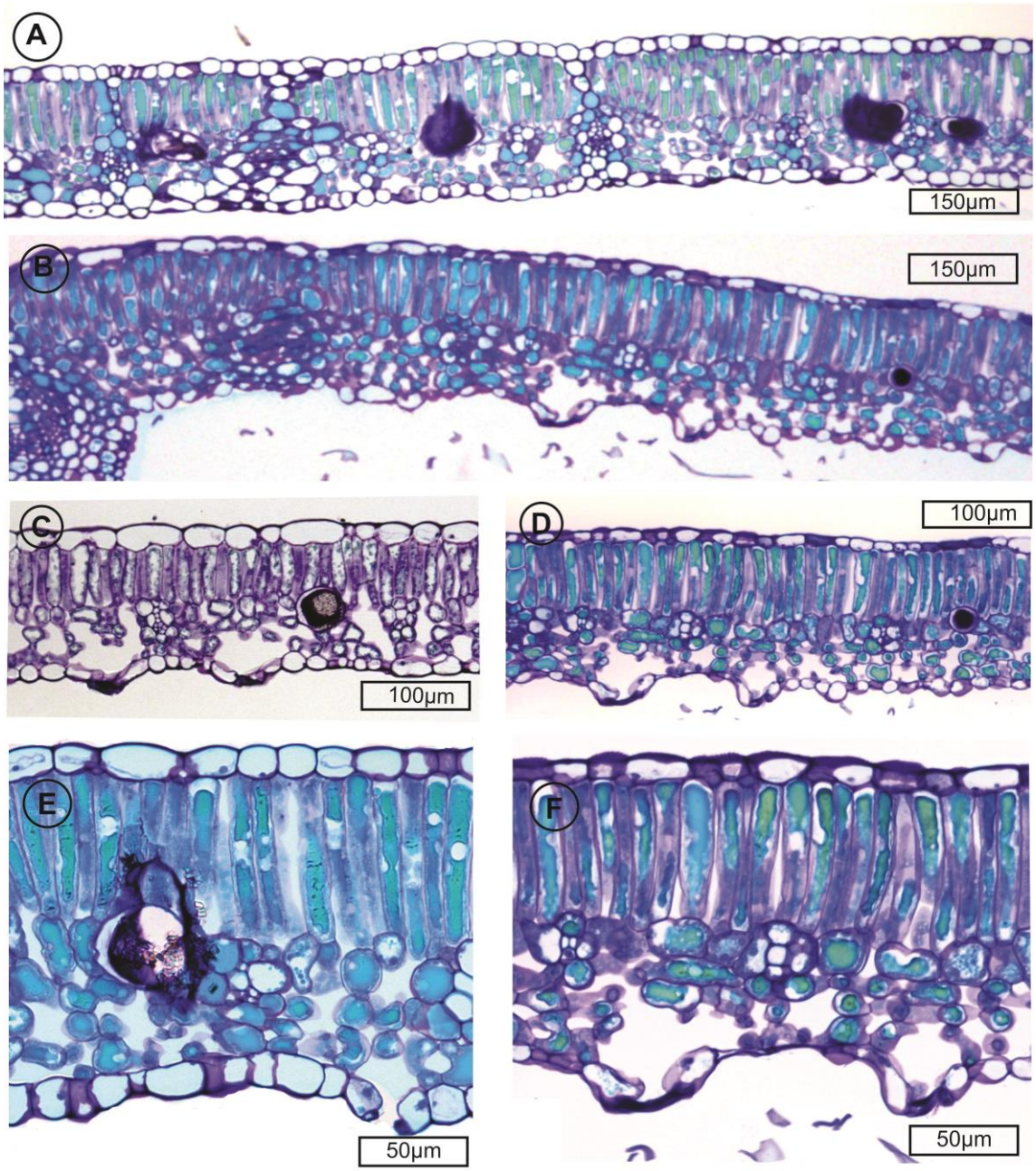

Figura 18. Cortes transversais de folhas sadias de *Vitis vinifera* (A,C,E) e *Vitis labrusca* (B,D,F).

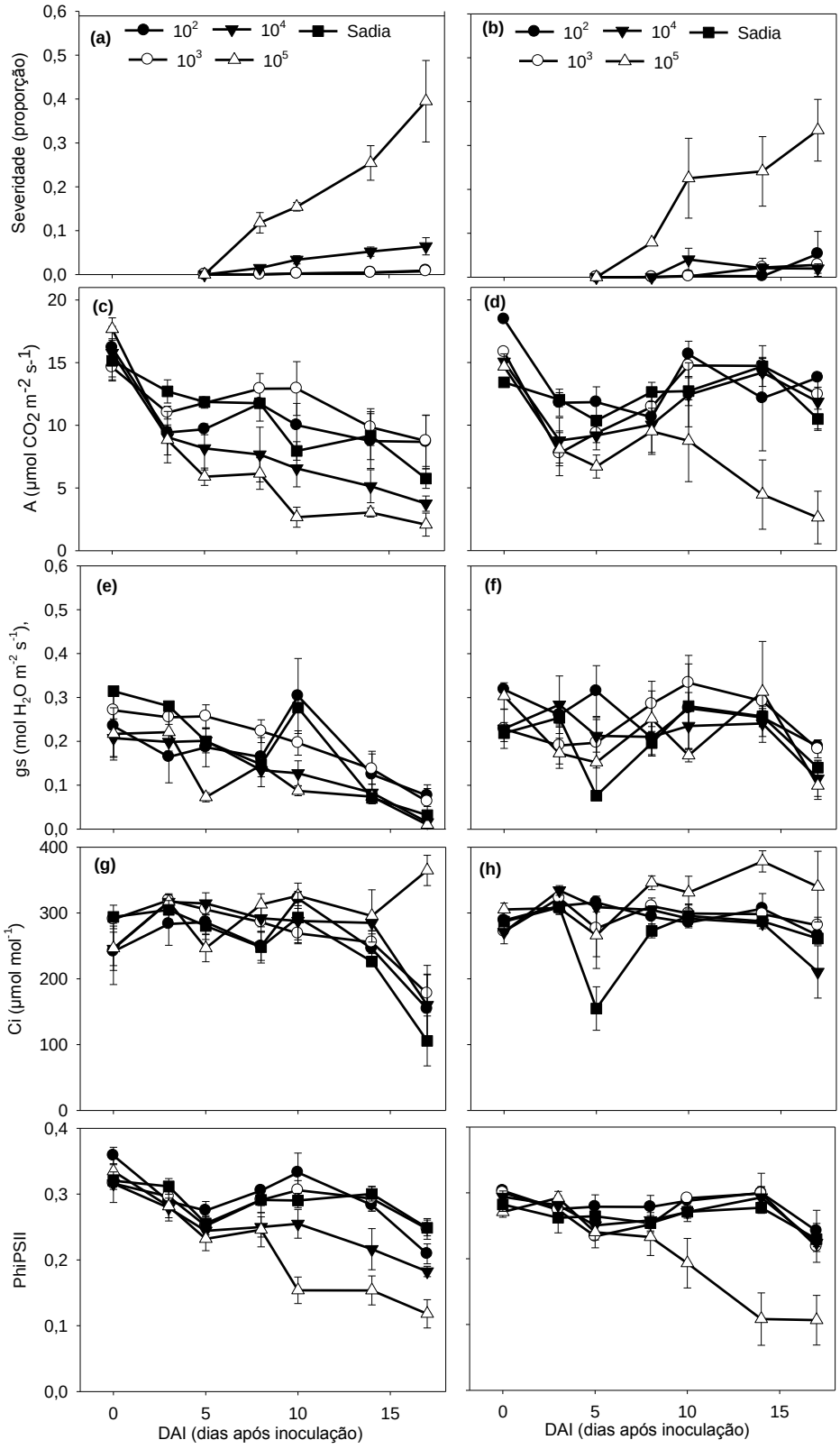

Figura 19. Símbolos representam os valores médios para folhas sadias e inoculadas a concentração de 10^2, 10^3, 10^4 e 10^5 urediniósporos ml^{-1} do experimento 1 sobre trocas gasosas para: severidade da doença (em proporção) (a,b), taxa de assimilação de CO_2 (A) (c,d), condutância estomática (gs) (e,f), concentração interna de CO_2 (Ci) (g,h) e Eficiência do fotossintema II (PhiPSII) (i,j) para *Vitis vinifera* cv. Moscato (a,c,e,g,i) e *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada (b,d,f,h,j). A inoculação foi realizada no dia 22/08/2016.

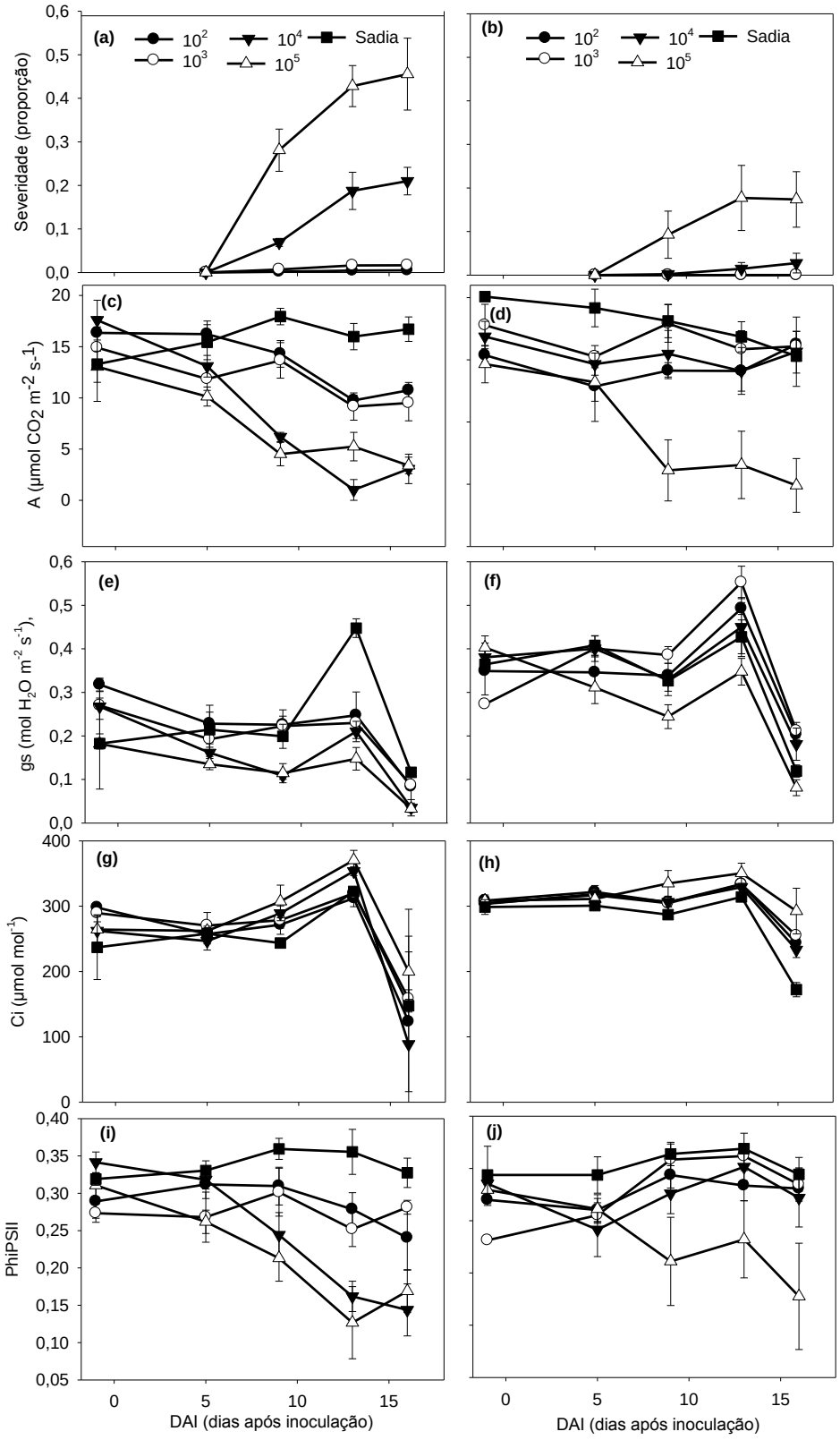

Figura 20. Símbolos representam os valores médios para folhas sadias e inoculadas a concentração de 10^2, 10^3, 10^4 e 10^5 urediniósporos ml^{-1} do experimento 2 sobre trocas gasosas para: severidade da doença (em proporção) (a,b), taxa de assimilação de CO_2 (A) (c,d), condutância estomática (gs) (e,f), concentração interna de CO_2 (Ci) (g,h) e Eficiência do fotossintema II (PhiPSII) (i,j) para *Vitis vinifera* cv. Moscato (a,c,e,g,i) e *Vitis labrusca* cv. Niágara Rosada (b,d,f,h,j). (Nesse experimento a primeira medição foi realizada no dia anterior a inoculação). A inoculação foi realizada no dia 05/10/2016.