

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Quantificação e modelagem de mecanismos de danos causados por
Phakopsora euvitis e *Plasmopara viticola* em videira *Vitis labrusca***

Antonio Fernandes Nogueira Júnior

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba
2016**

Antonio Fernandes Nogueira Júnior
Engenheiro Agrônomo

**Quantificação e modelagem de mecanismos de danos causados por *Phakopsora euvitis* e
Plasmopara viticola em videira *Vitis labrusca***

Orientador:
Profa. Dra. **LILIAN AMORIM**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2016

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

Nogueira Júnior, Antonio Fernandes

Quantificação e modelagem de mecanismos de danos causados por *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara viticola* em videira *Vitis labrusca* / Antonio Fernandes Nogueira Júnior - - Piracicaba, 2016.

136 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Ferrugem 2. Míldio 3. cv. Niagara Rosada 4. Fotossíntese 5. Carboidratos 6. Modelos de simulação . I. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por estar sempre ao meu lado;

À minha família, em especial a Antonio Fernandes Nogueira, Maria José R. Soares Nogueira, Fernando Nogueira, Carlos Antônio Nogueira pelo apoio e incentivo;

À Profa. Dra. Lilian Amorim, pela exemplar orientação, por todos ensinamentos, confiança, pelos conselhos e paciência ao longo do mestrado e doutorado.

Ao Prof. Dr. Marcel Bellato Sposito, pelo apoio e disponibilidade em todas as etapas do trabalho e por todos os momentos descontraídos;

Ao Prof. Dr. Rafael Vasconcelos Ribeiro por me receber tanto no IAC como na Unicamp e por toda colaboração e ensinamentos durante o doutorado;

À Dra. Laetitia Willocquet (*INRA-Toulouse*) que me recebeu durante meu intercâmbio na França e auxiliou no meu treinamento e na discussão e análises dos dados;

Aos professores do Departamento de Fitopatologia e Nematologia, pelos valiosos ensinamentos e o estímulo ao amadurecimento profissional;

À Profa. Dra Beatriz Appezzato-da-Glória pela colaboração nos trabalhos de histopatologia;

À Fernanda Castro pelo auxílio nos experimentos no IAC e na Unicamp;

A todos do laboratório de Epidemiologia da Esalq/USP: estagiários, IC's, Mestrandos, Doutorandos e Pós-doutorandos, que convivemos juntos durante 6 anos, compartilhando dificuldades, alegrias e diversos churrascos.

À Barbara L. Navarro, pela amizade, apoio, ajuda em todos os experimentos e passeios com o Belcs. Obrigado por me presentear com a alegria do seu sorriso!

Ao meu irmão Guilherme Fernando Frare, pela amizade, pelos momentos de descontração, pela força nos momentos difíceis e por todo apoio;

À Silvia Lourenço e Ortiz, pela ajuda nos experimentos de laboratório e no campo, amizade e os bons passeios;

A todos os funcionários do Departamento de Fitopatologia, pelo excelente convívio e momentos de descontração;

À Fabiana Wolak, pela ajuda, motivação, conselhos e paciência;

A todos os companheiros de república em Piracicaba, em especial Leandro Oliveira, Ranieri de Paula, Julianne Oliveira, Fabio Ricardo, Valdinei dos Santos, Rogério Lavanholi, Bruno Bordron por compartilharem conversas, brincadeiras e discussões calorosas.

A todos os amigos de Florestal e de Viçosa, em especial Lucas Faria, Diogo Faria, Arthur Araújo, Pedro Nery, Danival Ricardo, Henrique Duarte e André Rosado por todos nossos momentos inesquecíveis;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro no primeiro ano de curso de doutorado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro durante os três últimos anos do doutorado;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro para realização dos experimentos.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho;

Muito Obrigado.

Ninguém pode construir em teu lugar as pontes que precisarás passar, para atravessar o rio da vida - ninguém, exceto tu, só tu.

Existem, por certo, atalhos sem números, e pontes, e semideuses que se oferecerão para levar-te além do rio; mas isso te custaria a tua própria pessoa; tu te hipotecarias e te perderias.

Existe no mundo um único caminho por onde só tu podes passar.

Onde leva? Não perguntes, segue-o!

Friedrich Nietzsche

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais volta ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
1.1. A cultura da videira no Brasil	11
1.2. Doenças da videira	13
1.2.1. Míldio da videira	14
1.2.3. Ferrugem da videira	18
1.3. Efeito de patógenos na fisiologia de plantas	20
1.3.1. Efeito de patógenos nas trocas gasosas de plantas	21
1.3.2. Efeito de patógenos nas limitações da fotossíntese	25
1.3.3. Efeito de patógenos na translocação de fotoassimilados e acúmulo de reservas	27
1.4. Modelos de simulação e mecanismos de dano	29
1.5. Objetivos	30
REFERÊNCIAS	32
2. MECANISMOS DE DANOS DE PHAKOPSORA EUVITIS NA VIDEIRA VITIS LABRUSCA	43
RESUMO	43
2.1. Introdução	44
2.2. Material e Métodos	48
2.2.1. Material vegetal	48
2.2.2. Inóculo de <i>Phakopsora euvitis</i> e procedimento de inoculação	48
2.2.3. Relações entre a severidade da doença e trocas gasosas	48
2.2.4. Estimativas de lesão virtual (β) usando o modelo de Bastiaans	49
2.2.5. Limitações na fotossíntese de plantas infectadas por <i>Phakopsora euvitis</i>	50
2.2.6. Análises histopatológicas	51
2.2.7. Análises estatísticas	53
2.3. Resultados	53
2.3.1. Relações entre a severidade da doença e trocas gasosas	53
2.3.2. Estimativas de lesão virtual (β) usando o modelo de Bastiaans	56
2.3.3. Limitações na fotossíntese de plantas infectadas por <i>Phakopsora euvitis</i>	57
2.3.4. Análises histopatológicas	58
2.3.5. Acúmulo de massa seca e carboidratos em plantas infectadas com ferrugem	60
2.4. Discussão	63
2.5. Conclusões	66
REFERÊNCIAS	68
3. MECANISMOS DE DANOS DE <i>PLAMOSPORA VITICOLA</i> EM <i>VITIS LABRUSCA</i>	75
Resumo	75
3.1. Introdução	76
3.2. Material e Métodos	78
3.2.1. Material vegetal	78
3.2.2. Inóculo e inoculação de <i>Plasmopara viticola</i>	79

3.2.3. Relações entre a severidade do míldio da videira e trocas gasosas e estimativa da lesão virtual.....	79
3.2.4. Limitações fotossintéticas em folhas infectadas por <i>Plasmopara viticola</i>	81
3.2.5. Acúmulo de carboidratos e biomassa em plantas com míldio em casa de vegetação ...	82
3.2.6. Acúmulo de carboidratos e avaliação do dano causado pelo míldio da videira na cv. Niagara Rosada no campo	83
3.2.7. Análise estatística	84
3.3. Resultados.....	84
3.3.1. Relações entre a severidade do míldio da videira e trocas gasosas e estimativa da lesão virtual.....	84
3.3.2. Limitações fotossintéticas em folhas infectadas por <i>Plasmopara viticola</i>	87
3.3.3. Acúmulo de carboidratos e biomassa em plantas com míldio em casa de vegetação ...	88
3.3.4. Acúmulo de carboidratos e avaliação do dano causado pelo míldio da videira na cv. Niagara Rosada no campo	92
3.4. Discussão	93
3.5. Conclusões.....	95
REFERÊNCIAS	96
4. GENECROP-P: MODELO PARA SIMULAÇÃO DO CRESCIMENTO DA VIDEIRA <i>VITIS LABRUSCA</i> E DE MECANISMOS DE DANOS CAUSADOS POR PATÓGENOS .	100
Resumo	100
4.1.Introdução.....	101
4.2.Material e Métodos.....	103
4.2.1. Estrutura geral do modelo e hipóteses.....	103
4.2.2.Parametrização do modelo.....	109
4.2.3.Avaliação do modelo.....	112
4.2.4.Inclusão dos mecanismos de danos de <i>Phakopsora euvitidis</i> e <i>Plasmopara viticola</i> no modelo Genecrop-P	113
4.3. Resultados.....	115
4.3.1 Comparação de dinâmicas simuladas e observadas	115
4.3.2 Dinâmica ao longo dos anos sucessivos	116
4.3.3 Inclusão dos mecanismos de danos de <i>Phakopsora euvitidis</i> e <i>Plasmopara viticola</i> no modelo Genecrop-P	120
4.4. Discussão.....	122
4.5.Conclusões.....	125
4.6.REFERÊNCIAS	126
5.CONSIDERAÇÕES FINAIS	133
APÊNDICE	134

RESUMO

Quantificação e modelagem dos mecanismos de dano causados por *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara viticola* em videira *Vitis labrusca*

A viticultura no Brasil e no Estado de São Paulo encontra-se em expansão nos últimos 10 anos e a cv. Niagara Rosada (*Vitis labrusca*) se destaca como principal cultivar para produção de uvas para mesa. Essa cultivar é suscetível à várias doenças foliares, como a ferrugem (*Phakopsora euvitis*) e o míldio (*Plasmopara viticola*). Não existem estimativas quantitativas dos danos causados por essas doenças na cv. Niagara Rosada. Diante do exposto os objetivos desse trabalho foram quantificar os efeitos da ferrugem e do míldio nas trocas gasosas, nas limitações da fotossíntese, no acúmulo de biomassa, no acúmulo de carboidratos, e na produção da cv. Niagara Rosada e desenvolver um modelo de simulação para *V. labrusca* acoplado com os mecanismos de danos da ferrugem e míldio. Experimentos foram conduzidos, separadamente para cada doença, em condições controladas, em mudas inoculadas com diferentes concentrações de *P. euvitis* e *P. viticola* e em campo experimental. Medidas de trocas gasosas e curvas de resposta da taxa líquida de assimilação de CO₂ ao aumento da concentração intercelular de CO₂ (C_i) foram realizadas em mudas sadias e infectadas com *P. euvitis* e *P. viticola*. Teores de açúcares solúveis totais, sacarose e amido foram determinados em plantas sadias e inoculadas com os patógenos. *P. euvitis* e *P. viticola* reduziram a taxa fotossintética em plantas infectadas tanto na área da lesão como no tecido verde adjacente a lesão (lesão virtual). Valores do parâmetro β , indicativo da lesão virtual, foram de 5,7 e 2,9, respectivamente para *P. euvitis* e *P. viticola*. *P. euvitis* reduziu em 48%, 36% e 67% a atividade da Rubisco (V_{cmax}), a taxa máxima de transporte de elétrons usados para a regeneração da RuBP (J_{max}) e a condutância do mesófilo (g_m), respectivamente, em folhas infectadas. A área foliar e biomassa de raízes em mudas inoculadas com *P. euvitis* foram reduzidas. Através de análises histopatológicas e da quantificação de amido nas folhas sadias e doentes foi possível observar o acúmulo de amido em regiões adjacentes às pústulas de *P. euvitis*. Mesmo em baixas severidades da ferrugem já se observam reduções no acúmulo de carboidratos em raízes. *P. viticola* reduziu V_{cmax} em 23,5 % em folhas infectadas comparadas às folhas sadias. *P. viticola* reduziu a biomassa de raízes e quantidade de carboidratos nas raízes de mudas doentes e de plantas no campo em ano de alta severidade da doença. Plantas no campo com sintomas míldio produziram em média 0,5 kg a menos do que plantas sadias e a principal causa da redução na produção foi a queda de bagas causada pela infecção de *P. viticola* nos cachos. Um modelo de simulação para *Vitis labrusca* foi desenvolvido, utilizando o software Stella ®. A produção, partição e dinâmica da biomassa da videira foi simulada ao longo de 20 anos e os efeitos de *P. euvitis* e *P. viticola* na redução do tecido verde sadio da planta, na redução da eficiência fotossintética, no desvio de assimilados, na aceleração da senescência foliar e na queda de frutos foram inseridos no modelo.

Palavras-chave: Ferrugem; Míldio; Niagara Rosada; Fotossíntese; Carboidratos; Modelos de Simulação.

ABSTRACT

Quantification and modelling of damage mechanisms caused by *Phakopsora euvitis* and *Plasmopara viticola* in *Vitis labrusca*

Viticulture in Brazil and in the state of São Paulo has increased in the last 10 years and cv. Niagara Rosada (*Vitis labrusca*) is the main cultivar for the production of table grapes. This cultivar is susceptible to several foliar diseases, such as rust (*Phakopsora euvitis*) and downy mildew (*Plasmopara viticola*). There are no quantitative estimates of the damage caused by these pathogens in cv. Niagara Rosada. The objectives of this work were to quantify the effects of rust and downy mildew on gas exchange, photosynthesis limitations, biomass accumulation, carbohydrate accumulation and production of cv. Niagara Rosada and to develop a simulation model for *V. labrusca* coupled with damage mechanisms caused by rust and mildew. Experiments were conducted, independently for each disease, under controlled conditions in potted plants inoculated with different concentrations of *P. euvitis* and *P. viticola* and in experimental field, with natural occurrence of diseases. Measurements of gas exchange and response curves of photosynthetic rate to the increase of the intercellular CO₂ concentration (C_i) were carried out in healthy plants and infected plants with *P. euvitis* and *P. viticola*. Total soluble sugars, sucrose and starch contents were determined in healthy plants and inoculated plants with the pathogens and kept under controlled conditions. *P. euvitis* and *P. viticola* reduced the photosynthetic rate in infected plants both in the area of the lesion and in the green tissue adjacent to the lesion (virtual lesion). Values of parameter β , indicative of the virtual lesion, were 5.8 and 2.9, respectively for *P. euvitis* and *P. viticola*. *P. euvitis* reduced the activity of Rubisco (V_{cm_{max}}), rate of electrons transport contributing for the RuBP-regeneration (J_{max}) and the conductance of mesophyll (g_m), respectively, on infected leaves by 48%, 36% and 67%. The severity of *P. euvitis* reduced leaf area and biomass of plant roots. The histopathological analysis and starch quantification in the leaves allowed to observe starch accumulation in regions adjacent to the pustules of *P. euvitis*. Even in low disease severities, reductions in carbohydrates accumulation of in roots are already observed. *P. viticola* reduced V_{cm_{max}} by 23.5% in infected leaves compared to healthy leaves. *P. viticola* reduced the root biomass and carbohydrate amounts in the roots of potted plants and plants in the field in the year of high disease severity. Field plants with mildew symptoms produced on average 0.5 kg less than healthy plants and the main cause of reduction in production was the drop of berries caused by infection of *P. viticola* in the clusters. A simulation model for *Vitis labrusca* was developed using Stella ® software. The production, partitioning and dynamics of grapevine biomass was simulated over 20 years and the effects of *P. euvitis* and *P. viticola* on the reduction of healthy green plant tissue and photosynthetic efficiency, the assimilative sapper, leaf senescence acceleration and fruit drop were coupled in the model.

Keywords: Rust; Downy mildew; cv. Niagara Rosada; Photosynthesis; Carbohydrates; Simulation modeling;

1. INTRODUÇÃO

1.1. A cultura da videira no Brasil

O início do cultivo da videira no Brasil ocorreu 35 anos após a chegada dos colonizadores portugueses. Existem relatos do plantio de videiras por Brás Cubas na capitania de São Vicente (Souza, 1996). Cultivares de *Vitis vinifera* procedentes de Espanha e Portugal eram utilizados para a produção de vinhos nessa época. Entretanto, com o início dos ciclos do ouro, da cana-de-açúcar e do café, a atividade vitícola paulista foi reduzida durante o século XVIII. A consolidação da viticultura paulista e da brasileira só ocorreu mais de 300 anos após a sua introdução (Souza, 1996). A grande imigração de italianos e a introdução da cultivar Isabel, originada da videira americana (*Vitis labrusca*), foram os principais motivos do início do ciclo de expansão da cultura. Nas primeiras décadas do século XIX também iniciaram-se os processos de tecnificação da cultura e a preocupação com o controle de doenças. No início do século XX o Estado do Rio Grande do Sul se estabelece como produtor de uvas principalmente para a fabricação de vinhos. Em meados do século XX a cultivar de uva Niagara Rosada (*Vitis labrusca*) começa a ser cultivada em São Paulo e conduz radical transformação na estrutura vitícola paulista (Silva et al., 2006; Souza, 1969). Em 1980, o Vale do São Francisco surge como mais um pólo de produção de uvas. Essa região se firma como uma nova fronteira para expansão da viticultura no Brasil, com a produção de uvas para mesa e vinhos, em condições irrigadas no trópico semiárido.

O rendimento médio por hectare de uvas no Brasil passou de 16.682 kg/ha em 2006 para 19.242 kg/ha de uva em 2015. A produção total de uvas nesse mesmo período foi de 1.257.064 toneladas em 2005 e 1.507.419 toneladas em 2015. O Estado do Rio Grande do Sul é o maior produtor brasileiro (60% da produção), seguido pela região Nordeste (21%) e pelo Estado de São Paulo (9,5%). Outros estados como Santa Catarina, Paraná e Minas Gerais também apresentam relevante produção de uvas (IBGE/Cepagro, 2016). Os dados de produção de uvas confirmam a predominância das três regiões produtoras do Brasil. Porém,

por essas regiões apresentarem características climáticas diferentes, a finalidade da uva produzida, cultivares utilizados e manejo são bem diferentes. O Estado de São Paulo se destaca principalmente pela produção de uvas para mesa, onde a cultivar Niagara Rosada representa 89% das plantas e 49% da produção do Estado (Oliveira et al., 2008).

A cultivar Niagara Rosada originou-se de uma mutação somática da cv. Niagara Branca que ocorreu em 1933, no município de Louveira em SP. O custo de produção dessa cultivar de origem americana, é menor do que aquele de uvas para vinificação, de origem europeia (Tecchio et al., 2011), devido ao menor número de pulverizações com fungicidas e à ausência de alguns tratos culturais como o raleio dos cachos. As plantas têm vigor médio e produzem cachos cônicos e compactos, pesando de 200-300g (Sousa, 1996). O plantio da cv. Niagara Rosada no Estado de São Paulo concentra-se nas regiões dos Escritórios de Desenvolvimento Rural (EDR) de Campinas, Itapetininga, Sorocaba e vem apresentando expressivo aumento na região noroeste, no EDR de Jales (Silva et al., 2008). A produção de uvas em todas as regiões de São Paulo é bem tecnificada, com diferentes formas de manejo. A condução das videiras é feita basicamente em três sistemas: latada, espaldeira e Y (Costa et al., 2012; Tecchio et al., 2011). A latada, também conhecida como pérgola ou parreira, é mais utilizada para a produção de uvas europeias para mesa. Nesse sistema o dossel vegetativo da videira é conduzido de forma horizontal em uma estrutura de arames situada a 1,90 m do solo. A espaldeira, onde os ramos da videira são conduzidos verticalmente em três ou quatro fios de arame, é o sistema mais tradicional no mundo, que permite a mecanização de pulverizações e fornece boas condições ergonômicas. O sistema de condução em Y, também denominado manjedoura, vem se destacando pela alta produtividade e o uso concomitante com a plasticultura, o que auxilia no manejo de doenças (Pedro Jr. et al., 2011). Nesse sistema o dossel da videira é conduzido em dois planos com ângulo de inclinação de 120-130° entre eles. Os ramos do ano são amarrados aos arames dos braços do Y, alternadamente, para cada

um dos lados. Em todos os sistemas de condução da videira é necessário elevado número de horas de mão de obra. Práticas como podas, aplicações de cianamida hidrogenada para brotação, desbrotas e despontes, além de outras são feitas basicamente sem mecanização. Outro importante fator na produção de uvas, não só em São Paulo como na maioria das regiões produtoras do Brasil é o controle de doenças. Na região Sul do País e em São Paulo mais de 60 aplicações com fungicidas são realizadas por ciclo da cultura (Cappello, 2014; Chavarria et al., 2009).

1.2. Doenças da videira

Diversos agentes patogênicos causam doenças na videira. Mais de 18 doenças de etiologia viral são relatadas em videiras no mundo. Dentre elas, o enrolamento da folha (*Grapevine leafroll-associated virus* – GLRaVs) ocorre em praticamente todas as regiões produtoras de uva no Brasil, sendo mais severo em variedades de uvas europeias. Outra doença virótica comum no Brasil é o complexo do lenho rugoso, associado aos gêneros *Vitivirus* e *Foveavirus*. Dentre as bacterioses destacam-se o cancro bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola*) e o mal de Pierce, causado por *Xylella fastidiosa*, ainda não constatado no Brasil. Dentre os grupos de agentes causais de doenças, os fungos são o de maior importância na videira. Mais de 10 doenças fúngicas são relatadas na videira no Brasil e algumas dessas são consideradas os maiores problemas da viticultura. O míldio (*Plasmopara viticola*), o oídio (*Erysiphe necator*), a ferrugem (*Phakopsora euvitis*) a antracnose (*Elsinoë ampelina*) são as principais doenças fúngicas da videira no Brasil. Além dessas, outras de menor importância são o mofo cinzento (*Botrytis cinerea*), podridão seca (*Lasiodiplodia theobromae*) e o declínio (*Eutypa lapa*) (Amorim et al., 2016).

Diversas formas de controle são empregadas no manejo das doenças da videira como o uso de material propagativo sadio (no caso das viroses) e medidas de exclusão como a

utilizada para o cancro da videira. Essa bacteriose é uma praga quarentenária A2, sendo restrita aos Estados do Nordeste e Norte do Brasil (Amorim et al., 2016). Para o manejo das doenças fúngicas o controle químico, com fungicidas de diversos grupos é principal estratégia utilizada pelos produtores.

1.2.1. Míldio da videira

O míldio da videira, causado por *Plasmopara viticola* é a principal doença da videira e uma das doenças de plantas mais estudadas no mundo. O míldio da videira também é uma doença de caráter histórico dentro da fitopatologia, pois foi em estudos feitos com esse patossistema que Millardet (1883) deu início ao uso do controle químico de doenças de plantas. Anton de Bary, outro pesquisador considerado um dos fundadores da ciência da fitopatologia, também trabalhou com esse patossistema, descrevendo o ciclo sexual e assexual de *Plasmopara viticola*, na época ainda denominada de *Peronospora viticola* (De Bary, 1863). Mesmo com mais de um século e meio de estudos sobre esse patossistema o míldio da videira ainda é um sério problema e é responsável por severos danos na cultura da videira em regiões favoráveis ao desenvolvimento da doença.

Plasmopara viticola é um oomiceto, pertencente à família Peronosporaceae e originário da América do Norte. Entretanto, na busca para o controle do pulgão radicular *Daktulosphaira vitifoliae* os produtores europeus importaram estacas de cultivares de uvas americanas infectadas com *Plasmopara viticola*, introduzindo o míldio da videira em território europeu. Na Europa o patógeno além de encontrar condições ótimas para seu desenvolvimento, deparou-se também com cultivares de *Vitis vinifera* altamente suscetíveis a *P. viticola*. Isso tudo acarretou uma rápida disseminação do patógeno em todo território europeu (Gessler et al., 2011). Possivelmente o míldio da videira foi introduzido no Brasil de forma semelhante à introdução na Europa, via material vegetal oriundo dos Estados Unidos.

No final do século XIX, pioneiros do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), que já haviam relatado esse patógeno, desenvolviam os primeiros trabalhos com controle químico e buscavam incorporar fontes de resistência ao míldio nos programas de melhoramento da videira (Ribeiro, 2003).

O míldio pode atacar qualquer parte verde da videira. Nas folhas, os sintomas iniciam-se 5 a 7 dias após a infecção, em condições de temperatura amena e alta umidade. As lesões iniciais são caracterizadas por um aspecto de encharcamento e por uma coloração amarelada. Devido a essas características as lesões são denominadas de mancha óleo. Em algumas cultivares de uva, como a Ruby Red, ou em estádios mais avançados as manchas óleo adquirem coloração avermelhada. Essas lesões coalescem com o passar do tempo, chegando a cobrir toda a superfície da folha. Em condições de alta umidade é possível observar do lado abaxial da folha, sob a mancha óleo, uma massa cotonosa, formada por esporangióforos e esporângios de *Plasmopara viticola* (mancha branca ou mancha mofo). Em estádios mais avançados da colonização, toda a área da lesão necrosa, o que pode acarretar a queda da folha. Os cachos e todos os seus componentes (pedúnculo, pedicelos e bagas) são atacados. Se pedúnculo for infectado na floração, as flores secam e caem. Quando a doença ocorre em frutos no estágio chumbinho, as bagas ficam cobertas por um pó acinzentado, formado pelos esporangióforos do fungo. Esse sintoma é denominado de podridão cinzenta. Quando as bagas já passaram da metade de seu desenvolvimento, a infecção ocorre pelo pedúnculo e o patógeno se desenvolve no interior dos frutos que se tornam manchados e caem com facilidade. Nos ramos a doença é mais rara e se manifesta nos estádios iniciais de crescimento. Os ramos afetados apresentam lesões marrom-escuras, com aspecto escaldado (Amorim et al., 2016; Ash, 2000; Ribeiro, 2003).

O ciclo completo dessa doença envolve uma fase sexuada, relacionada com a sobrevivência do patógeno, e uma fase assexuada, que ocorre em condições favoráveis e é

responsável por epidemias explosivas da doença. No ciclo completo de *Plasmopara viticola* inicialmente o patógeno sobrevive em folhas e/ou outros tecidos em decomposição sobre o solo na forma de oósporo. O oósporo pode ser produzido em qualquer temperatura, porém sua ocorrência é observada em condições de baixa umidade ou quando folhas infectadas estão em processo de senescência. Para que o oósporo amadureça, germine e a infecção primária ocorra é necessária uma combinação de chuva (maior que 10 mm), temperatura (maior que 10 °C) e brotos com mais de 10 cm de tamanho (Kennelly et al., 2007; Park et al., 1997). Satisfeitas as condições para a germinação do oósporo, este dá origem a um esporangióforo contendo um esporângio. Esse esporângio inicial é também denominado por alguns autores como macroesporângio (Kennelly et al., 2007). Os esporângios são disseminados pelo vento ou por gotas de chuva e depositados sobre os tecidos da videira. Essas estruturas passam por um processo de “germinação” que envolve a liberação do zoósporo. Os zoósporos iniciam o processo de infecção após passarem por um encistamento e penetração através dos estômatos (Gessler et al., 2011; Kennelly et al., 2007).

As infecções secundárias são oriundas de esporângios e zoósporos produzidos em esporangióforos que emergem dos estômatos na face inferior da folha. Cada esporângio produz em média sete zoósporos e a temperatura não influencia nesse número (Lalancette et al., 1987). O ciclo secundário se repete por várias vezes e para que ocorra a esporulação são necessárias condições de 98% de umidade relativa, ao menos 4 horas de escuro e temperaturas próximas a 20 °C. Nas condições ótimas para esporulação, a eficiência de infecção (número de lesões/zoósporos de *P. viticola*) é de 0.08 em cultivares de *Vitis labrusca* (Lalancette et al., 1988). A produtividade da lesão (esporângios/lesão) decresce significativamente com o número de ciclos consecutivos de esporulação (Kennelly et al., 2007) e lesões podem permanecer esporulantes e viáveis por 2 a 3 meses (Hill, 1989). O processo de esporulação é inibido com radiação de luz branca (Rumbolz et al., 2002). O ciclo

secundário continua até o final do ciclo da cultura, onde em condições adversas novamente irá ocorrer a formação do oósporo de *Plasmopara viticola*. Esse ciclo é o que normalmente ocorre em condições temperadas. Nas condições tropicais e subtropicais o patógeno sobrevive no tecido verde presente em todo o ano devido ao escalonamento da produção de uvas (Angelotti et al., 2012; Mendes, 2002).

As cultivares europeias (*Vitis vinifera*) são altamente suscetíveis ao míldio, enquanto as cultivares americanas (*Vitis labrusca*) apresentam diferentes níveis de resistência (Brown et al., 1999). Normalmente esse nível de resistência está relacionado com a menor capacidade de *Plasmopara viticola* em colonizar os tecidos (produção de haustórios) e menor esporulação nessas variedades. Brotações iniciais de *Vitis vinifera* são as mais suscetíveis a *Plasmopara viticola* (Kennely et al., 2007). As folhas mais velhas são mais resistentes à infecção e apresentam respostas mais rápidas de defesa. Já os cachos são afetados por esse patógeno em praticamente todos os estádios de desenvolvimento, desde a floração até o início da maturação (Amorim et al., 2016; Reuveni, 1998; Steimetz et al., 2012).

Devido à alta suscetibilidade da videira ao míldio e à ocorrência de condições favoráveis para o desenvolvimento da doença na grande maioria das regiões produtoras de uva, a principal forma de controle é por meio da aplicação de fungicidas. No Brasil, em algumas regiões como no Paraná, produtores utilizam o método de pulverizações por calendário chegam a realizar 60 aplicações de fungicidas por ciclo da cultura para o controle do míldio (Chavarria et al., 2009) em *Vitis vinifera*. Estima-se que no Estado do Rio Grande do Sul o custo com aplicação de fungicidas corresponda a 30% do custo total de produção, sendo realizadas em média 14 aplicações por ciclo, das quais normalmente 10 são para controle do míldio (Freire et al., 1992).

Quando nenhuma medida de controle é tomada, e na presença de condições favoráveis, o míldio pode acarretar perdas de até 100% na cultura da videira. Entretanto,

existem poucos estudos, mundialmente e principalmente no Brasil, de correlação da severidade do míldio e redução da produtividade de uva. As infecções que ocorrem nos cachos reduzem quantitativamente a produção, enquanto que o dano na folha atinge indiretamente a produção, reduzindo a quantidade de carboidratos produzidos e influenciando negativamente a qualidade dos frutos (Jermini et al., 2010).

1.2.3. Ferrugem da videira

O agente causal da ferrugem da videira, *Phakopsora euvitidis*, é uma das espécies do complexo *Phakopsora ampelopsidis*. *P. euvitidis* é uma ferrugem heteroécia e macrocíclica, que produz as fases uredinial-telial em espécies do gênero *Vitis* e as fases espermogonial-aecial na espécie *Meliosma myriantha*, nativa da Ásia. Os urediniósporos são ovoides ou elípticos medindo de 17-28 x 12-18 μm . Os teliósporos são de coloração marrom e variam de oblongos a cilíndricos medindo 14-30 x 8-12 μm (Ono, 2000).

O fungo *Phakopsora euvitidis* é encontrado na Ásia, na América do Sul e em um único país da América Central (Costa Rica). No território asiático a doença ocorre em Bangladesh, na China, na Indonésia, na Índia, no Japão, na Coreia do Sul e na Coreia do Norte, nas Filipinas, na Tailândia, no Sri Lanka e em Taiwan. Na América do Sul a ferrugem da videira é encontrada no Paraguai e no Brasil. *P. euvitidis* foi relatada pela primeira vez no território brasileiro no ano de 2001, no Estado do Paraná (Tessmann et al., 2003) e logo em seguida foi constatada em São Paulo (Tessmann et al., 2004). A forma da introdução de *P. euvitidis* no território brasileiro é desconhecida, porém a principal hipótese é o trânsito de pessoas, levando mudas de videira, entre a região Norte do Paraná e o Japão (Vida & Tessmann, 2005). Em pouco menos de 10 anos o fungo foi relatado em todos os estados das Regiões Sul e Sudeste, além de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pernambuco, Paraíba e Roraima (Primiano et al., 2016). A ferrugem da videira é considerada endêmica no Sudeste e no Sul do

País. Na mesma época da introdução de *P. euvitis* no Brasil a ferrugem da videira foi também relatada na Austrália (Weinert et al., 2003).

Os sintomas da ferrugem da videira caracterizam-se por pequenas pústulas amareladas na face abaxial das folhas. Essas pústulas podem coalescer e cobrir a maior parte do limbo foliar. Na face adaxial são observadas áreas amareladas que necrosam a medida que as pústulas coalescem na face inferior. Em estádios de desenvolvimento avançados da doença é possível observar os teliósporos de coloração marrom escura. Em altas severidades da ferrugem da videira ocorre desfolha precoce, a qual pode prejudicar a maturação das bagas. No Estado do Paraná, nas safras de janeiro-junho, a ferrugem pode atingir 100% de severidade, resultando na seca e queda das folhas o que leva a exposição dos cachos ao sol e consequente “queima”. A maturação dos frutos é retardada, o índice “brix” é reduzido e os frutos perdem valor comercial, levando à perda total da comercialização (Vida & Tessmann, 2005).

O hospedeiro secundário (*Meliosma myriantha*) não ocorre no Brasil e a ocorrência de outro hospedeiro além de *Vitis* spp. é desconhecida no País. Nessas condições o fungo *P. euvitis* sobrevive basicamente em folhas verdes de uma safra para outra. Os urediniósporos são o inóculo primário e secundário da ferrugem da videira. A disseminação do patógeno atinge longas distâncias por correntes de vento e *P. euvitis* infecta as folhas em ampla faixa de temperatura (Leu, 1988; Navarro et al., 2015). A germinação dos urediniósporos é favorecida pelo escuro, embora não seja completamente inibida em baixas intensidades luminosas (Angelotti et al., 2011; Leu & Wu, 1983; Naruzawa et al., 2006). O intervalo de temperatura em que a germinação ocorre é amplo (5 – 40 °C), porém taxas superiores a 20% de germinação são observadas apenas entre 10 e 25 °C (Angelotti et al., 2011; Naruzawa et al., 2006).

Mais de 400 genótipos, entre porta-enxertos e seleções de mais de 14 espécies de gênero *Vitis*, já foram avaliados quanto à resistência ao patógeno *Phakopsora euvitis*. A maioria dos acessos foi classificada como suscetível ou altamente suscetível (Hennessy et al., 2007). Apenas alguns genótipos de porta-enxertos apresentam-se resistentes a *P. euvitis* como 41B, Seibel 128 (Hennessy et al., 2007), IAC313, IAC572 e IAC766 (Angelotti et al., 2008). Entretanto não são observados genótipos assintomáticos. Cultivares de *Vitis labrusca*, como a cv. Niagara Rosada, são altamente suscetíveis a *P. euvitis* (Angelotti et al., 2008).

A principal forma de controle da ferrugem da videira é a aplicação de fungicidas. Estudos mostram que os fungicidas dos grupos dos triazóis e estrobirulinas são eficientes no controle da ferrugem da videira e que os fungicidas cúpricos são poucos eficientes (Naruzawa et al., 2006). Quatro produtos sistêmicos estão registrados para o controle da ferrugem da videira no Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento (MAPA, 2016), três com o ingrediente ativo tebuconazol e uma mistura de ditiocarbamato com piraclostrobina.

1.3. Efeito de patógenos na fisiologia de plantas

Os patógenos afetam os processos fisiológicos das plantas por diferentes maneiras. Patógenos podem causar a degradação enzimática da parede celular, levando à morte das células do hospedeiro e criando lesões necróticas que reduzem a interceptação de luz pelas plantas. A redução da área verde por lesões necróticas leva a uma redução na assimilação de CO₂ via fotossíntese e conseqüente redução na produção de biomassa das plantas. O processo fotossintético pode ser alterado por diferentes formas em folhas colonizadas por patógenos. Plantas doentes podem apresentar desbalanço nas relações hídricas e alterações no metabolismo e translocação de carbono. Doenças podem também alterar o metabolismo de nitrogênio nas plantas, devido ao desvio de compostos de nitrogênio para uso do próprio

patógeno. O balanço de reguladores de crescimento pode ser alterado por patógenos, que podem induzir o aumento ou suprimir a produção de auxinas (Russell, 1981).

As relações de trofismo dos patógenos estão diretamente ligadas com a interferência desses parasitas nos processos fisiológicos das plantas. Patógenos biotróficos utilizam tecidos vivos da planta como fontes de nutrientes. Biotróficos produzem hifas intercelulares e estruturas especializadas como haustórios e vesículas que têm como função retirar nutrientes da célula infectada. Outra característica marcante em patógenos biotróficos é a capacidade de induzir a translocação de substâncias produzidas pelas plantas para as regiões infectadas (Thrower, 1965). Esses patógenos causam impacto reduzido no tecido vegetal em relação aos patógenos necrotróficos. Os patógenos necrotróficos utilizam tecidos mortos da planta para sua nutrição. Esses patógenos produzem enzimas líticas e toxinas que causam severa degradação de paredes celulares e morte celular, causando severo impacto no tecido hospedeiro. Um maior detalhamento do efeito de patógenos nos processos de fotossíntese, translocação de fotoassimilados e acúmulo de biomassa será apresentado nos tópicos a seguir.

1.3.1. Efeito de patógenos nas trocas gasosas de plantas

A fotossíntese é um processo físico-químico, realizado por organismos eucariotos autotróficos, que utiliza energia solar para oxidar a água e reduzir o CO₂, formando compostos de carbono e liberando oxigênio para a atmosfera. O mesofilo das folhas é o tecido fotossintético mais ativo das plantas verdes, contendo muitos cloroplastos e pigmentos fotossintéticos, sendo as clorofilas a e b encontradas em maior quantidade. A troca de gases (CO₂, O₂ e vapor de água) ocorre em aberturas das folhas chamadas estômatos. A transpiração é o processo de liberação de vapor de água, principalmente pelos estômatos, e tem como funções manter o fluxo de nutrientes e regular a temperatura das plantas.

O processo de fotossíntese inicia-se com a absorção de luz, o que leva a clorofila para um estado de maior energia (excitada) tornando-a instável. A liberação da energia pela molécula de clorofila excitada é rápida e inicia uma série de reações fotoquímicas. Os pigmentos fotossintéticos servem como complexos antena transferindo energia para os dois complexos dos centros de reação ou fotossistemas (1 e 2). Os fotossistemas operam em série e carregam a energia inicial da fotossíntese, oxidando a água e reduzindo o NADP^+ a NADPH. A última etapa do transporte de elétrons é a geração de ATP no complexo ATP síntase que utiliza do gradiente de potencial eletroquímico gerado com os prótons oriundos da oxidação da água para a produção de ATP (Taiz & Zeiger, 2013).

O ATP e NADPH são usados no estroma do cloroplasto, durante a fase bioquímica da fotossíntese, onde o CO_2 da atmosfera é fixado e ocorre a produção de compostos de carbono necessários para o crescimento da planta. Nas plantas C3, durante o ciclo de Calvin, a enzima Rubisco catalisa a carboxilação da ribulose-1,5-bifosfato (molécula aceptora de 5 carbonos) gerando duas moléculas de 3-fosfoglicerato. O 3-fosfoglicerato é então reduzido, utilizando o ATP e o NADPH produzidos fotoquimicamente formando trioses-fosfato. A maioria das trioses-fosfato formará moléculas de carbono que serão utilizadas para o crescimento da planta. O último passo do ciclo de Calvin é a regeneração da molécula aceptora de CO_2 , realizada por várias reações enzimáticas e utilizando também o ATP gerado na fase fotoquímica (Taiz & Zeiger, 2013).

Patógenos de diferentes grupos (fungos, bactérias, vírus) e com diferentes relações tróficas, podem reduzir, aumentar ou não causar alterações na taxa de fixação de CO_2 de plantas infectadas (Buchanan et al., 1981; Erickson et al., 2003; Shtienberg, 1992).

As infecções virais podem reduzir a taxa fotossintética de plantas por alterações nos cloroplastos. A infecção de *Cucumber mosaic virus* (CMV) no tomateiro leva à completa destruição de cloroplastos, desarranjo dos grana, e redução dos conteúdos de clorofila dos tecidos

das plantas (Montasser & Al-Almy, 2015). O *Turnip yellow mosaic virus* afeta estruturalmente e bioquimicamente os cloroplastos da couve chinesa (*Brassica pekinensis*). Esse vírus bloqueia a cadeia de transporte de elétrons e a síntese de ATP causando acentuado decréscimo na taxa fotossintética (Goffeau & Bovë, 1965).

Infecções bacterianas em folhas de plantas também reduzem a taxa de assimilação de CO₂ de plantas doentes. A necrose de tecidos e a degradação de cloroplastos nas áreas dos halos de lesões bacterianas são umas das causas dessas reduções (Silveira et al., 2015). A produção de toxinas por bactérias durante o processo de colonização é um fator que acentua a redução da fotossíntese em plantas doentes (Mitchell, 1978). Bactérias que colonizam o xilema de plantas, como *Xylella fastidiosa* em citros, causam o fechamento estomático nas folhas, diminuição da transpiração e reduzem reações bioquímicas da fotossíntese. A bactéria *Xylella fastidiosa* aumenta o dreno alternativo de elétrons e aumenta a atividade de oxigenase da Rubisco reduzindo a atividade fotossintética (Ribeiro et al., 2003).

Os patógenos fúngicos, devido ao seu grande número e diversidade, alteram a taxa de assimilação de CO₂ das plantas por diversas causas. Uma generalização frequentemente relatada relaciona o padrão de interferência na fotossíntese por fungos às relações tróficas desses patógenos em plantas (Shtienberg, 1992). Fungos biotróficos apresentam mecanismos de penetração e colonização mais especializados e causam danos menores nos tecidos foliares, o que acarreta em menor redução nas taxas fotossintéticas dos hospedeiros (Bassanezi et al., 2001; Shtienberg, 1992). Fungos necrotróficos, por sua vez, são mais agressivos e causam maior destruição de tecidos foliares o que geralmente causa drástica redução na fotossíntese. Esses fungos também colonizam raízes e sistemas vasculares de plantas, causando reduções na condutância estomática e transpiração de plantas.

Na literatura são encontrados numerosos estudos sobre a interferência de infecções fúngicas nas trocas gasosas dos hospedeiros, tanto para fungos biotróficos quanto para fungos

necrotróficos. Toxinas produzidas por patógenos necrotróficos como *Alternaria* e *Bipolaris* podem causar a destruição de organelas como os cloroplastos e reduzir a produção de clorofila, além de inibir o transporte de elétrons na fotofosforilação acíclica (Tarabrin, 1995; Tarabin & Bystrykh, 1990). O efeito de patógenos necrotróficos normalmente não se resume à inativação da fotossíntese na área da lesão necrótica. Em folhas de amendoim infectadas com *Cercospora arachidicola*, por exemplo, folhas com severidade da doença de 15% mostram redução de 65% na taxa fotossintética (Bourgeois & Boote, 1992). Esse mesmo padrão de redução da fotossíntese por patógenos necrotróficos em áreas aparentemente sadias de plantas infectadas é observado em diversos patossistemas como: *Pestalotiopsis mangiferae*-mangueira, *Septoria tritici*-trigo (Shtienberg, 1992), *Alternaria solani*-batata (Shah et al., 1998), *Colletotrichum lindemuthianum*-feijoeiro (Bassanezi et al., 1997, 2001; Lopes, 1999), *Ascochyta pinodes*-ervilha (Garry et al., 1998).

Patógenos biotróficos, como os que causam ferrugens, usualmente reduzem a fotossíntese apenas na área das pústulas. A redução da fotossíntese, nesses casos, é diretamente proporcional ao aumento da severidade. Alterações no tamanho, número, função dos cloroplastos e a perda de clorofila são relatadas em plantas infectadas com patógenos causadores de ferrugens (McGrath & Pennypacker, 1990; Scholes & Farrar, 1987). Os patógenos biotróficos do grupo dos oídios também causam baixa redução nas taxas fotossintéticas de plantas. Plantas de carvalho infectadas com *Erysiphe alphitoides* apresentam redução na taxa fotossintética proporcionalmente menor do que a fração da folha doente (Hajji et al., 2009).

Os mecanismos de regulação dos estômatos podem ou não ser interferidos por patógenos. Uma revisão sobre efeitos de patógenos na regulação estomática em 30 patossistemas mostra que os patógenos biotróficos, hemibiotróficos e necrotróficos reduzem a condutância estomática das plantas (Grimmer et al., 2012). Por outro lado, plantas de videira (*Vitis vinifera*) infectadas com *Plasmopara viticola* apresentam aumento na condutância

estomática durante a noite nos tecidos lesionados (Allègre et al., 2007). Esse efeito de abertura estomática é uma característica comum na patogenicidade de oomicetos e se dá pela produção de efetores pelo patógeno que atuam nas células guarda dos estômatos (Grimmer et al., 2012). A penetração e esporulação de *P. viticola* ocorrem via estômatos e esse efeito regulatório da abertura estomática revela uma relação funcional entre esse oomiceto e células guarda do hospedeiro (Allègre et al., 2007).

Patógenos foliares podem aumentar, diminuir ou não alterar a transpiração de plantas doentes. Reduções da transpiração proporcionais à redução da área foliar foram observadas para os patógenos necrotróficos *Alternaria alternata*, *Septoria tritici*, *Pestalotiopsis mangifera* (Shtienberg, 1992) e *Phaeosphaeria maydis* (Godoy et al., 1999). Drástica redução na transpiração é observada em folhas de feijoeiro infectadas com *Colletotrichum lindemuthianum*. A ruptura e o colapso dos vasos condutores causada pela colonização de *C. lindemuthianum* afeta a transpiração em regiões das folhas ainda não colonizadas pelo patógeno (Bassanezi et al., 2001). Alguns oídios como *Leveillula taurica*, *Sphaerotheca pannosa* e *Uncinula necator* causam redução na transpiração proporcionalmente maior do que a área da folha lesionada. O oposto pode ser observado para algumas ferrugens, como *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* e *Puccinia sorghi*. A ruptura da epiderme devido à emergência de pústulas desses patógenos causa aumento na transpiração das plantas mesmo com baixas severidades de ferrugens (Shtienberg, 1992).

1.3.2. Efeito de patógenos nas limitações da fotossíntese

A atividade da Rubisco e de outras enzimas do ciclo de Calvin pode ser alterada em plantas doentes. Patógenos causadores de murchas como *Verticilium albo-atrum* (Pennypacker et al., 1990), além de alterarem a condutância estomática de plantas e causar estresse hídrico, também reduzem a atividade da Rubisco. Plantas de alho-poró infectadas com *Puccinia alli* e

feijoeiro com *Uromyces appendiculatus* também apresentaram redução na atividade da Rubisco na área das pústulas (Roberts & Walters, 1988). O fungo necrotrófico *Pyricularia oryzae*, além de interferir na cadeia de transporte de elétrons, também reduz a atividade da Rubisco em plantas de arroz (Debona et al., 2013).

A avaliação de variáveis das fases fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese é obtida através da medição de trocas gasosas e emissão de fluorescência de clorofila em plantas. Equipamentos como os analisadores portáteis de gases no infravermelho (*IRGA's*) acoplados com câmaras de emissão de fluorescência auxiliam nesse tipo de análise. A determinação das variáveis das limitações difusivas do CO₂ (limitações do mesofilo) e das limitações fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese é realizada através de vários modelos (Farquhar et al., 1980; Sharkey et al., 2007; Flexas et al., 2008). A resposta da taxa fotossintética à variação da concentração intercelular de CO₂ (Curvas A/Ci) depende somente de processos que ocorrem no mesofilo, eliminando o efeito da camada limítrofe de ar da folha e do estômato. As curvas A/Ci são utilizadas para determinação da atividade da Rubisco, da regeneração da RuBP e da utilização da triose-fosfato (Sharkey et al. 2007). Curvas A/Ci tem um formato monomolecular, com uma resposta linear no início da curva que atinge um platô ao final. A forma inicial linear da curva representa a atividade aparente da Rubisco, enquanto que o platô representa a taxa máxima de transporte de elétrons usados para a regeneração da RuBP. Quando a utilização da triose-fosfato é interferida observa-se um decréscimo na taxa fotossintética nos pontos ao final do platô das curvas A/Ci. Com a utilização combinada de medidas de trocas gasosas e medidas de fluorescência de clorofila é possível determinar variáveis intrínsecas da difusão de CO₂, como a condutância do mesofilo (g_m) e a concentração de CO₂ no sítio de carboxilação (C_c). A determinação das variáveis das limitações fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese utilizando curvas A/Cc é mais precisa e elimina os efeitos das limitações no mesofilo.

Essa abordagem vem sendo utilizada para estudar o efeito de patógenos em diferentes patossistemas. Videiras infectadas com *Grapevine leafroll-associated virus 3* (GLRaV-3) e em condição de estresse hídrico apresentam redução na condutância do mesófilo, na atividade da Rubisco e na regeneração da RuBP (Aou-Ouad et al., 2016). Nesse trabalho os parâmetros foram obtidos de curvas A/Cc. Trabalhos com *Pyricularia oryzae* (Debona et al., 2013) e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raça 1 (Nogués et al., 2002) também determinaram as limitações da fotossíntese por esses patógenos, apenas com a análises de curvas A/Ci. Nesses casos, plantas doentes também apresentaram reduções na atividade da Rubisco e na regeneração da RuBP.

1.3.3.Efeito de patógenos na translocação de fotoassimilados e acúmulo de reservas

Plantas produzem carboidratos via fotossíntese nas folhas e exportam esses açúcares para os órgãos drenos, como frutos, troncos e raízes. Durante o dia as plantas produzem e acumulam amido nos cloroplastos. O amido acumulado nos cloroplastos é quebrado a noite em sacarose para manter o metabolismo das folhas e para a exportação de sacarose para órgãos dreno. Os mecanismos de quebra de amido nos cloroplastos ainda não são completamente entendidos (Gamm et al., 2011), porém em plantas C3 existem duas rotas de quebra, a hidrolítica e fosforolítica. É proposto que o carbono liberado a partir da degradação hidrolítica do amido em folhas é exportado do cloroplasto e convertido em sacarose e o carbono produzido da quebra fosforolítica é usado em metabolismos internos do cloroplasto (Weise et al., 2011). A sacarose é a principal açúcar transportado nas plantas C3 e enzimas invertases são responsáveis pela repartição do carbono nas plantas, pois auxiliam na irreversível quebra da sacarose em glicose e frutose no local de acúmulo.

Patógenos biotróficos como *Erysiphe cichoracearum* (Fotopoulos et al., 2003) e *Blumeria graminis* (Sutton et al., 2007) são capazes de aumentar a atividade das invertases nas plantas.

Estudos com o patossistema *Uromyces fabae* - *Vicia faba* (Voegelé et al., 2006) mostram que o patógeno não altera os padrões de translocação somente nos tecidos infectados, pois são observadas mudanças em órgãos distantes dos locais das infecções como em raízes, em um efeito sistêmico da infecção do fungo. Nesse trabalho foi também identificada, pela primeira vez uma invertase produzida por um fungo biotrófico. Dessa forma é suportada a hipótese de que a infecção do patógeno estabelece um novo dreno que compete com os drenos fisiológicos da planta. O oídio e o míldio da videira alteram a atividade de invertases e podem causar acúmulo de amido nas folhas, funcionando como drenos alternativos das plantas (Breem et al., 1996; Gamm et al., 2011).

A repartição de carbono em videiras segue um padrão bem definido. O início do ciclo da videira é dependente das reservas acumuladas em raízes ao final do ciclo anterior. Até o início do florescimento, as folhas ainda não são capazes de serem órgãos fonte e as reservas em raízes chegam ao seu mínimo valor. Após o florescimento, as folhas são responsáveis pela produção de fotoassimilados que são repartidos entre todas as partes da planta, principalmente para os frutos e topos de ramos. Após a maturação dos frutos e até o final da senescência foliar, as folhas exportam seus fotoassimilados para raízes, reconstituindo as reservas que irão suportar o início do ciclo seguinte (Keller, 2010). A ferrugem da videira pode acelerar a senescência foliar e diminuir o período de acúmulo de reservas (Vida & Tessmann, 2005). Entretanto, o efeito quantitativo de *Phakopsora euvitidis* nos carboidratos de raízes é desconhecido. Para o míldio existem trabalhos em *Vitis vinifera*, mostrando o desbalanço das relações fonte-dreno em folhas, porém estudos que envolvem raízes ou o efeito desse patógeno na dinâmica do carbono em *Vitis labrusca* também são inexistentes na literatura.

1.4. Modelos de simulação e mecanismos de dano

Patógenos afetam negativamente a fisiologia das plantas ocasionando danos. Danos são definidos como qualquer redução na quantidade e/ou qualidade da produção de uma espécie vegetal (Zadoks 1985). O dano final na produção de culturas, causado por patógenos, é uma soma de vários subprocessos de interferências negativas na fisiologia das plantas. Esses subprocessos são chamados de mecanismos de dano. Boote et al., (1983) propõem uma classificação de patógenos e seus mecanismos de danos em 7 categorias: redutores da interceptação luminosa, redutores da eficiência fotossintética, desviadores de assimilados, consumidores de tecido da planta, aceleradores da senescência foliar, redutores de estande e redutores de turgor.

A estimativa quantitativa de danos pode ser feita por duas maneiras. A primeira é de forma empírica, em que experimentos no campo são realizados e se obtém a relação de severidade e redução na produção. Essa é a forma mais simples e direta de determinação de danos, embora muito trabalhosa. Provavelmente, por essa razão, esses dados normalmente são escassos na literatura (Savary & Willocquet, 2014). Nessa abordagem se determina uma função de dano em relação à severidade do patógeno e não é possível o estudo de interferências em níveis inferiores à severidade ou incidência visível. A segunda forma é por meio de modelos mecanísticos de simulação, em que se utilizam modelos agrofisiológicos de crescimento de hospedeiros sadio em conjunto com modelos relacionados aos mecanismos de dano de patógenos (Savary et al., 2006). Com o uso de modelos de simulação de danos é possível estudar o efeito de várias doenças e mecanismos de danos diferentes ocorrendo simultaneamente em culturas. Dados dos subprocessos de interferências de patógenos em hospedeiros são abundantes na literatura e com o uso de modelos de simulação é possível utilizar essa informação em diferentes níveis e acoplá-las em um modelo de crescimento de hospedeiro. Modelos de simulação de danos com múltiplas doenças também permitem ter

uma visão da importância de cada doença, pois é possível estudar o efeito de cada uma, isolada ou em conjunto. Esses modelos também auxiliam no melhor entendimento dos mecanismos de danos dos patógenos e na determinação de tomadas de decisão, tendo como objetivo final a melhora no manejo de doenças de plantas (Savary & Willocquet 2014; Savary et al., 2006).

Vários exemplos de modelos de simulação de danos de patógenos em culturas anuais são encontrados na literatura. “Wheatpest” e “Ricepest” são dois modelos que simulam os danos causados por várias doenças na cultura do trigo e arroz respectivamente (Willocquet et al., 2000; 2008). Um modelo de simulação de danos para duas doenças (*Alternaria solani* e *Verticilium dahliae*) e uma praga (*Empoasca fabae*) foi desenvolvido para a cultura da batateira. Nesse trabalho foi comprovado que o efeito das duas doenças e da praga ocorrendo concomitantemente na cultura é menor que a soma dos três efeitos isoladamente (Johnson, 1992). Modelos de simulação de danos por patógenos em culturas perenes são escassos. Um dos motivos é a complexidade da fisiologia dos hospedeiros perenes, o que dificulta a elaboração de modelos de simulação do crescimento do hospedeiro sadio. Outra dificuldade é a validação desses modelos que pode exigir de vários anos de avaliação.

1.5. Objetivos

Diante do exposto os objetivos gerais desse trabalho foram caracterizar e quantificar os mecanismos de danos causados por *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara viticola* na videira cv. Niagara Rosada (*Vitis labrusca*) e desenvolver um modelo de simulação para o crescimento de cv. Niagara rosada acoplado com os mecanismos de danos causados por *P. euvitis* e *P. viticola*.

Para isso, foram realizados experimentos em condições controladas e condições de campo, com os objetivos específicos: determinar as relações entre as severidades das doenças

e as trocas gasosas de folhas e estimar o efeito das duas doenças na área verde adjacente às lesões; determinar as variáveis das limitações difusivas, fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese; avaliar a produção de biomassa e acúmulo de carboidratos em cv. Niagara Rosada infectada com *P. euvitis* e *P. viticola*. O objetivo final foi desenvolver um modelo simples e robusto, para simular o crescimento da videira americana *Vitis labrusca*, analisar a dinâmica de desenvolvimento e produção de biomassa da videira ao longo dos anos através de simulações e incorporar os mecanismos de danos de *Plasmopara viticola* e *Phakopsora euvitis* no modelo de crescimento de *V. labrusca*.

Referências

- Allègre M, Daire X, Héloir MC, Trouvelot S, Mercier L, Adrian M, Pugin A. 2007. Stomatal deregulation in *Plasmopara viticola* – infected grape leaves. *New Phytologist* 173: 832-840.
- Amorim L, Spósito MB, Kuniyuki H. 2016. Doenças da Videira. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (eds). Manual de Fitopatologia volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas. Editora Ceres.
- Angelotti F, Gava CHT, Batista DC, Fernandes, JMC, Pavan W. 2012. *Sistema de Alerta e Previsão para Doenças da Videira*. Embrapa Semiárido- Documentos: 251.
- Angelotti F, Scapin CR, Tessmann DJ, Vida JB, Vieira RA, Souto ER de. 2008. Resistência de genótipos de videira à ferrugem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43: 1129–34
- Angelotti F, Tessmann DJ, Scapin CR, Vida JB. 2011. Efeito da temperatura e da luz na germinação de urediniosporos de *Phakopsora euvitidis*. *Summa Phytopathologica*: 37: 59–61
- Aou-Ouad EH, Montero R, Medrano H, Bota J. 2016. Interactive effects of grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) and water stress on the physiology of *Vitis vinifera* L. cv. Malvasia de Banyalbufar and Giros-Ros. *Journal of Plant Physiology* 196: 106-115.
- Ash, G. 2000. Downy mildew of grape. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1112-01, 2000 Updated 2005. Disponível em: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Oomycetes/Pages/DownyMildewGrape.aspx>. Acesso: 30 de Agosto de 2013.
- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamin Filho A, Hau B, Berger RD. 2001. Accounting for photosynthetic efficiency of bean leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. *Plant Pathology* 50: 443-452.
- Bassanezi RB, Martins MC, Godoy CV, Amorim L, Bergamin Filho, A. 1997. Efeito da antracnose na eficiência fotossintética do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 22: 520-524.

- Boote KJ, Jones JW, Mishoe JW, Berger RD. 1983. Coupling pests to crop growth simulator to predict yield reductions. *Phytopathology* 73: 1581-1587.
- Bourgeois G, Boote KJ. 1992. Leaflet and canopy photosynthesis of peanut affected by late leaf spot. *Agronomy Journal* 84: 359-366.
- Brem S, Rast DM, Ruffner HP. 1986. Partitioning of photosynthate in leaves *Vitis vinifera* infected with *Uncinula necator* or *Plasmopara viticola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 29: 185-191.
- Brown MV, Moore JN, Fenn P, McNew RW. 1999. Evaluation of grape germplasm for downy mildew resistance. *Fruit Varieties Journal* 53: 22-29.
- Buchanan BB, Hutcheson SW, Magyarosy AC, Montalbini P. 1981. Photosynthesis in healthy and diseased plants. In: Ayres PG. *Effects of disease on physiology of the growing plant*. New York: Cambridge University Press.
- Cappello FP. 2014. Análise comparativa do custo de produção e rentabilidade da uva ‘Niágara Rosada’ cultivada em diferentes regiões do Estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- Chavarria G, Santos HP, Fin E, Sônego OR, Garrido LR, Marodin, GAB. 2009. Dispersão anemófila de esporangiósporos de *Plasmopara viticola* em cultivos protegido e convencional de videira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 31: 710-717.
- Costa TV, Tarsitano MAA, Conceição MAF. 2012. Caracterização social e tecnológica da produção de uvas para mesa em pequenas propriedades rurais da região de Jales-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura* 34: 766-773.
- De Bary A. 1863. Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. *Annales Sciences Naturelles* 20: 5-148.

- Debona D, Rodrigues FA, Rios JA, Martins SCV, Pereira LF, DaMatta FA. 2013. Limitations to photosynthesis in leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 104: 34-39.
- Erickson JE, Stanosz GR, Kruger EL. 2003. Photosynthetic consequences of Marssonina leaf spot differ between two poplar hybrids. *New Phytologist* 161: 577-583.
- Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA. 1980. A biochemical model of the photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149: 78-90.
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Dias-Espejo A, Galmés J, Medrano H. 2008. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment* 31: 602-621.
- Fotopoulos V, Gilbert MJ, Pittman JK, Marvier AC, Buchanan AJ, Sauer N, Hall JL, Williams LE. 2003. The monosaccharide transporter gene, AtSTP4, and cell-wall invertase, ATβfruct1, are induced in Arabidopsis during infection with fungal biotroph *Erysiphe cichoracearum*. *Plant Physiology* 132: 821-829.
- Freire LMM, Freire JM, Caldart VZ. 1992. *Transformação na estrutura produtiva dos viticultores da Serra Gaúcha: 1985-1991*. EMBRAPA-CNPV: Documento 7.
- Garry G, Jeuffroy MH, Ney B, Tivoli B. 1998. Effects of Aschochyta blight (*Mycosphaerella pinodes* Berk. and Blox.) on the decrease in photosynthesizing leaf area and the photosynthetic efficiency by green leaf area of dried-pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Pathology* 45:769-777.
- Gessler C, Pertot I, Perazzolli M. 2011. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea* 50: 3-44.
- Godoy CV, Canteri MG, Amorim L, Bergamin Filho A. 1999. Inibição da fotossíntese de folhas de milho infectadas por *Phaeosphaeria maydis*. *Fitopatologia Brasileira* 24: 287.

- Goffeau RN, Bové JM. 1965. Virus infection and photosynthesis. *Virology* 27: 11-15.
- Gamm M, Héloir MC, Bligly R, Vaillant-Gaveau N, Trouvelot S, Alcaraz G, Frettinger P., Clément C, Pugin A, Wendehenne D, Adrian M. 2011. Changes in Carbohydrate Metabolism in *Plasmopara viticola*- infected Grapevine leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24: 1061-1073.
- Grimmer MK, Foulkes MJ, Paveley N. 2012. Foliar pathogenesis and plant water relations: a review. *Journal of Experimental Botany* 63: 4321- 4331.
- Hajji M, Dreyer E, Benoit M. 2009. Impact of *Erysiphe alphitoides* on transpiration and photosynthesis in *Quercus* leaves. *European Journal of Plant Pathology* 125:63-72.
- Hennessy CR, Daly AM, Hearnden MN. 2007. Assessment of grapevine cultivars for resistance to *Phakopsora euvtis*. *Australasian Plant Pathology* 36, 313–317.
- Hill GK. 1989. Effect of temperature on sporulation efficiency of oilspots caused by *Plasmopara viticola* (Berck & Curt. ex de Bary) Berl. & de Toni in vineyards. *Vitic. Enol. Sci.* 44: 86-90.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. 2016. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – Pesquisa mensal de previsão de safras agrícolas no ano civil.
- Jermini M, Blaise P, Gessler C. 2010. Quantitative effect of leaf damage caused by downy mildew (*Plasmopara viticola*) on growth and yield quality of grapevine ‘Merlot’ (*Vitis vinifera*). *Vitis* 49: 77–85.
- Johnson KB. 1992. Evaluation of a mechanistic model that describes potato crop losses caused by multiple pests. *Phytopathology* 28: 363-369.
- Keller M. 2010. The Science of Grapevine. Anatomy and Physiology. Elsevier, San Diego.
- Kennelly MM, Gadoury DM, Wilcox WF, Magarey PA, Seem RC. 2007. Primary infection, lesion productivity, and survival of sporangia in the grapevine downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. *Phytopathology* 97: 512-522.

- Lalancette N, Ellis MA, Madden, LV. 1987. Estimating infection efficiency of *Plasmopara viticola* on grape. *Plant Disease* 71: 981-983.
- Lalancette N, Madden LV, Ellis MA. 1988. A quantitative model for describing the sporulation of *Plasmopara viticola* on grapes leaves. *Phytopathology* 78: 1316-1321.
- Leu LS, Wu HG. 1983. Uredospore germination, infection and colonization of grape rust fungus, *Phakopsora ampelopsidis*. *Plant Protection Bulletin* 25: 167–175.
- Leu LS. 1988. Rust. In: Pearson RC, Goheen AC. eds. *Compendium of grape diseases*. Minnesota: APS, 28–30.
- Lopes DB. 1999. *Photosynthetic competence of bean leaves with rust and anthracnose*. Gainesville, Thesis (Ph.D.) – University of Florida.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. Agrofit: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit> Acesso em 10/10/2016.
- McGrath MT, Pennypacker SP. 1990. Alteration of physiological processes in wheat flag leaves caused by stem rust and leaf rust. *Phytopathology* 80: 677-686.
- Mendes CS. 2002. Flutuação de inóculo no ar, desenvolvimento e validação de um sistema de previsão do míldio da videira. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.
- Millardet A. 1883. Adress to the Society on oospore infection work. *Societée Sciences Bordeaux Bul* 2: 24-27.
- Mitchell DT. 1978. Halo blight of beans: toxin production by several *pseudomonas phaseolicola* isolates *Physiological Plant Pathology* 13: 37-49.
- Montasser M, Al-Aimy A. 2015. Histopathology for the influence of CMW infection on tomato cellular structures. *The FASEB Journal* 29: 887 (Supplement)

- Naruzawa ES, Celoto MIB, Papa MFS, Tomquelski GV, Boliari AC. 2006. Estudos epidemiológicos e controle químico de *Phakopsora euvitidis*. *Fitopatologia Brasileira* 31: 41–45
- Navarro B, Spósito MB, Nogueira Jr. AF, Amorim L. 2015. Infection efficiency of *Phakopsora euvitidis* in *Vitis labrusca*. *Revista Mexicana de Fitopatologia* 33: S101 (Summary).
- Nogués S, Cotcarrera L, Alegre L, Trillas MI. 2002. Limitations to photosynthesis in tomato leaves induced by *Fusarium* wilt. *New Phytologist*: 154: 461-470
- Oliveira DMD, Silva PR, Amaro AA, Tecchio MA. 2008. Viabilidade econômica em tratamento antidegrana em uva “Niagara Rosada” no Estado de São Paulo. *Informações Econômicas* 38: 59-67
- Ono Y. 2000. Taxonomy of the *Phakopsora ampelopsidis* species complex on vitaceous hosts in Asia including a new species, *P. euvitidis*. *Mycologia* 92: 154-173.
- Park EW, Seem RC, Gadoury DM, Pearson RC 1997. DMCast: a prediction model for grape downy mildew development. *Vitic. Enol. Sci.* 52: 182-189.
- Pedro Jr MJ, Hernandez JL, Rolim G de S. 2011. Sistema de condução em Y com e sem cobertura plástica: microclima, produção, qualidade do cacho e ocorrência de doenças fúngicas na videira ‘Niagara Rosada’. *Bragantia* 70: 228–233.
- Pennypacker BW, Knievel DP, Leath KT, Pell EJ, Hill Jr. RR. 1990. Analysis of photosynthesis in resistant and susceptible alfalfa clones infected with *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* 80: 1300-1306.
- Primiano IV, Loehrer M, Amorim L, Schaffrath U. 2016. Asian grapevine rust caused by *Phakopsora euvitidis*: an important disease in Brazil. *Plant Pathology* doi:10.1111/ppa.12662.

- Reuveni M. 1998. Relationships between leaf age, peroxydase and beta-1,3-glucanase activity, and resistance to downy mildew. *Journal of Phytopathology* 146: 525-530.
- Ribeiro IJA. 2003. Doenças e pragas. In: Pommer CV. (ed). *Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado*. Porto Alegre: Cinco Continentes.
- Ribeiro RV, Machado EC, Oliveira RF. 2003. Early photosynthetic response of sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 62: 167-173.
- Roberts AM, Waters DR. 1988. Photosynthesis in discrete regions of leek leaves infected with rust, *Puccinia allii* Rud. *New Phytologist* 110: 371-376.
- Rumbolz JS, Wirtz S, Kassemeyer HH, Guggenheim R, Schafer E, Buche C. 2002. Sporulation of *Plasmopara viticola*: differentiation and light regulation. *Plant Biology* 4: 413-422
- Russell GE. 1981. Disease and crop yield: the problems and prospects for agriculture. In: Ayres PG. *Effects of disease on physiology of the growing plant*. New York: Cambridge University Press.
- Savary S, Teng PS, Willocquet L, Nutter Jr, FW. 2006. Quantification and modeling of crop losses: A review of purposes. *Annual Review of Phytopathology* 44: 89-112. (doi: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143342)
- Savary S, Willocquet, L. 2014. *Simulation Modeling in Botanical Epidemiology and Crop Loss Analysis. The Plant Health Instructor*. <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/botanicaledemiology/Pages/default.aspx>. (acesso em 16/08/2015) (doi: 10.1094/PHI-A-2014-0314-01)
- Scholes JD, Farrar JF. 1987. Development of symptoms of brown rust of barley in relation to the distribution of fungal mycelium, starch accumulation and localized changes in the concentration of chlorophyll. *New Phytologist* 107: 103-117.

- Shah SF, Gaunt RE, McKenzie BA, Frampton CM. 1998. Reduction in radiation interception (RI) and radiation use efficiency (RUE) in potatoes infected by *Alternaria solani*. In: International Congress of Plant Pathology, 7.v.2 *Offered Papers Abstracts*.
- Sharkey TD, Bernacchi CJ, Farquhar GD, Singsaas EL. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment* 30: 1035-1040
- Shtienberg D. 1992. Effects of foliar diseases on gas exchange processes: A comparative study. *Phytopathology* 82: 760-765.
- Silva PR, Maia ML, Amaro AA, Oliveira MDM, Terra MM. 2008. Produção e comercialização de uvas Niágara nas regiões de Campinas e Jales, Estado de São Paulo. *Informações Econômicas* 38: 61-72.
- Silva PR, Verdi AR, Santos VLF, Baptistella CDSL. 2006. Tradição do cultivo da uva Niágara no estado de São Paulo. *Informações econômicas* 36: 33-42.
- Silveira PR, Nascimento KJT, Andrade CCL, Bispo WMS, Oliveira JR, Rodrigues FA. 2015. Physiological changes in tomato leaves arising from *Xanthomonas gardneri* infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 92: 130-138.
- Souza JRI. 1969. *Uvas para o Brasil*. São Paulo: Melhoramentos.
- Souza JSI. 1996. *Uvas do Brasil*. Piracicaba: FEALQ.
- Steimetz E, Trouvelot S, Gindro K, Bordier A, Poinssot B, Adrian M, Daire X. 2012. Influence of leaf age on induced resistance in grapevine against *Plasmopara viticola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 79: 89-96.
- Sutton PN, Gilbert MJ, Williams LE, Hall JL. 2007. Powdery mildew infection of wheat leaves changes host solute transport and invertase activity. *Physiologia Plantarum* 129: 787-795.
- Taiz L, Zeiger E. 2013. *Fisiologia vegetal*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed.

- Tarabrin GA, Bystrykh EE. 1990. Activity of primary photosynthetic reactions as a test in breeding wheat for resistance to *Helminthosporium* root rot. *Sel'skokhozyaisvennaya-Biologiya* 5: 59-69.
- Tarabrin GA. 1995. Energy efficiency of wheat photosynthesis with helminthosporiosis infection. *Russian Agricultural Sciences* 9: 22-25.
- Tecchio MA, Bettiolo Neto JE, Barbosa W, Tucci MLS. 2011. Evolution and Perspective of the Temperate Fruit crops in São Paulo State, Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura* Volume especial: 150-157.
- Tessmann DJ, Dianese JC, Genta W, Vida JB, May-de Mio LL. 2004. Grape rust caused by *Phakopsora euvitidis*, a new disease for Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 29: 338.
- Tessmann DJ, Dianese JC, Genta W, Vida JB, May-de-Mio LL. 2003. Grape rust (*Phakopsora euvitidis*): first record for Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 28: 232.
- Thrower LB. 1965. Host physiology and obligate fungal parasites. *Phytopathologische Zeitschrift* 52:319-334.
- Vida JB, Tessmann DJ. 2005. Perdas causadas pela ferrugem (*Phakopsora euvitidis*) na cultura da videira. *Fitopatologia Brasileira* 30: 508 Suplemento
- Voegelé RT, Wirsig S, Möll U, Lechner M, Mendgen K. 2006. Cloning and characterization of a novel invertase from obligate biotroph *Uromyces fabae* and analysis of expression patterns of host and pathogen invertases in the course of infection. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19: 625-634.
- Weinert MP, Shivas RG, Pitkethley RN, Daly AM. 2003. First record of grapevine leaf rust in the Northern Territory, Australia. *Australasian Plant Pathology* 32: 117-8.
- Weise SE, van Wijk KJ, Sharkey TD. 2011. The role of transitory starch in C₃, CAM and C₄ metabolism and opportunities for engineering leaf starch accumulation. *Journal of Experimental Botany* 62: 3109-3118.

- Willocquet L, Auberto, JN, Lebard S, Robert C, Lannou C, Savary S. 2008. Simulating multiple pest damage in varying winter wheat productions situations. *Field Crops Research* 107: 12-28.
- Willocquet L, Savary S, Fernandez L, Elagui F, Teng P. 2000. Development and evaluation of a multiple-pest, production situation specific model to simulate yield losses of rice in tropical Asia. *Ecological Modelling* 131: 133-159.
- Zadoks JC. 1985. On the conceptual basis of crop loss assessment: the threshold theory. *Annual Review of Phytopathology* 23: 455-473.

2. MECANISMOS DE DANOS DE *PHAKOPSORA EUVITIS* NA VIDEIRA *VITIS LABRUSCA*

Resumo

A ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis*) é uma doença endêmica no Sudeste e Sul do Brasil. Severas epidemias de *P. euvitis* causam a desfolha da planta, depreciam cachos devido à exposição ao sol e podem levar à redução de 100% da produção de uvas. Não existem informações sobre os mecanismos de danos de *P. euvitis* em videiras e os objetivos deste trabalho foram quantificar os efeitos desse patógeno na fotossíntese, no acúmulo de carboidratos e acúmulo de biomassa de *Vitis labrusca*. Mudanças de Niagara Rosada foram inoculadas e mantidas em condições controladas. Foram realizadas medidas de trocas gasosas e curvas de resposta da fotossíntese ao aumento da concentração intercelular de CO₂ (C_i) em mudas sadias e infectadas com *P. euvitis*. Análises histopatológicas e a quantificação de amido foram realizadas em folhas infectadas com *P. euvitis*. O acúmulo biomassa e carboidratos foi quantificado nos órgãos de plantas inoculadas com diferentes concentrações de urediniosporos. A ferrugem reduziu drasticamente a taxa fotossintética em plantas doentes. A condutância estomática, a concentração intercelular de CO₂ e a transpiração foram pouco afetadas em folhas de plantas doentes. O parâmetro β , indicativo do efeito do patógeno no tecido adjacente à lesão, foi estimado em 5,78. A condutância do mesófilo (g_m), a atividade da Rubisco (V_{cmax}) e a taxa máxima de elétrons utilizada na regeneração de ribulose-1,5-bisfosfato (J_{max}) foram reduzidas em plantas doentes. Através de análises histopatológicas de tecidos doentes foi possível observar a hipertrofia de células do mesófilo e acúmulo de amido em células próximas às lesões. O acúmulo de amido em folhas doentes foi confirmado através da quantificação por método enzimático. Mudanças doentes apresentaram desfolha e redução da biomassa de raízes. Os teores de açúcares solúveis totais, sacarose e amido foram menores em raízes de plantas doentes, mesmo em baixas severidades da ferrugem. *Phakopsora euvitis* causou severas alterações nos processos de assimilação de CO₂, na dinâmica de produção, translocação e acúmulo fotoassimilados e reduziu a área foliar e biomassa de raízes de plantas doentes.

Palavras-Chave: Ferrugem; Fotossíntese; Carboidratos; Niagara Rosada;

Abstract

Grapevine rust (*Phakopsora euvitis*) is an endemic disease in Southeastern and Southern Brazil. Severe epidemics of *P. euvitis* cause plant defoliation, fruit depreciation due to exposure to the sun, and may lead to 100% of yield loss. There is no information regarding damage mechanisms caused by *P. euvitis* in grapevines and, therefore, the objectives of this work were to quantify the effects of this pathogen on the photosynthesis, accumulation of carbohydrates, and biomass of cv. Niagara Rosada (*Vitis labrusca*). Potted plants were inoculated and kept under controlled conditions. Measurements of gas exchange and analysis of response curves of CO₂ assimilation to the increase of intercellular CO₂ concentration (C_i) were performed in healthy and *P. euvitis* infected plants. Histopathological analyses and quantification of starch were performed on leaves infected with *P. euvitis*. Biomass and carbohydrate accumulation were quantified in different organs of diseased and healthy plants. Rust reduced the photosynthetic rate in diseased plants. Stomatal conductance, intercellular CO₂ concentration, and transpiration rate were poorly affected in leaves of diseased plants. The parameter β , indicative of the effect of the pathogen on the green tissue adjacent to the lesion, was estimated at 5,78. The mesophyll conductance (g_m), Rubisco activity (V_{cmax}), maximum electron rate used in regeneration of ribulose-1,5-bisphosphate (J_{max}) were reduced

in diseased plants. Through histopathological analyzes of diseased tissues, it was possible to observe hypertrophy of mesophyll cells and starch accumulation in cells close to the lesions. The accumulation of starch on diseased leaves was confirmed through quantification via enzymatic method. Disease plants showed defoliation and reduction of root biomass. The contents of total soluble sugars, sucrose and starch were lower in roots of diseased plants, even at low rust severity. *P. euvitis* caused severe changes in CO₂ assimilation processes in the dynamics of photoassimilates production, translocation and accumulation, and reduced leaf area and biomass of plant roots.

Keywords: Grapevine rust; Photosynthesis; Carbohydrates; Niagara Rosada;

2.1. Introdução

As ferrugens são consideradas importantes ameaças às culturas, devido aos danos que causam em seus hospedeiros. Essas doenças são causadas por patógenos biotróficos que possuem estruturas de colonização altamente desenvolvidas, como haustórios, limitada atividade de enzimas líticas e mecanismos de supressão da resistência dos hospedeiros (Mendgen & Hahn, 2002). Apesar dos patógenos causadores de ferrugens serem parasitas altamente especializados, eles reduzem a produção de biomassa dos seus hospedeiros devido à utilização dos fotoassimilados produzidos pelas plantas e redução da área verde fotossintética (Helfer, 2014). Emergências e re-emergências de ferrugens têm sido observadas no início do século XX em culturas como trigo (Line, 2002; Hodson, 2011), soja (Murithi et al., 2016; Sikora et al., 2014; Yorinori et al., 2005;), café (Avelino et al., 2015), mirtáceas (Morin et al., 2012), cana-de-açúcar (Zhao et al., 2011) e videira (Vida & Tessmann, 2005). As mudanças climáticas, a adaptabilidade das ferrugens às diversas condições e o crescimento exponencial das viagens aéreas pelo homem e do comércio de vegetais são algumas das possíveis causas das novas epidemias de ferrugens (Hodson, 2011). Recentes epidemias causaram impactos sociais, econômicos e ambientais. A re-emergência da ferrugem do cafeeiro causou danos de 31% na cultura na Colômbia nos anos de 2008 a 2011 e teve importante impacto social, com redução na renda de mais de 500 mil famílias (Avelino et al., 2015). O custo com o controle da ferrugem asiática da soja no Brasil passou de US\$ 177 milhões em 2001, quando a ferrugem foi inicialmente detectada no país, para US\$ 1,94 bilhões em 2014-2015. Entretanto,

a área cultivada com soja no País passou de 18 para 32 milhões de hectares no mesmo período (Godoy et al., 2016). A ferrugem da videira (*Phakopsora euvitidis*) é uma doença ainda em expansão no Brasil e severas epidemias de *P. euvitidis* podem levar a uma redução de 100% da produção de uvas (Vida & Tessmann, 2005).

A ferrugem da videira é endêmica na Ásia, onde é descrita desde 1985 (Ono, 2000). Em 2001 a doença foi também relatada no Nordeste da Austrália, região que está mais de 3000 km de distância das áreas de cultivo comercial de uvas nesse país. Um programa de erradicação iniciou-se em 2001 através de vistorias e eliminação de plantas doentes e o programa bem sucedido erradicou *Phakopsora euvitidis* da Austrália em julho de 2007 (EPPO, 2007). A ferrugem foi detectada no Brasil pela primeira vez também em 2001. Entretanto, ao contrário da Austrália, o patógeno se disseminou em um raio de 1.000 km em um período de 5 anos e a doença já é considerada endêmica no território brasileiro. O cultivo da videira no Brasil teve impulso a partir de 1960, quando cultivares produzidas por programas de melhoramento nacionais, adaptadas ao clima tropical e subtropical, começaram a ser distribuídas aos produtores. A área de cultivo de uvas no Brasil é 77.544 ha (IBGE, 2016), dos quais 50% são ocupados por cultivares de uva destinadas ao consumo *in natura* e para a fabricação de suco. Os programas de melhoramento brasileiros são destinados à uva de mesa e à produção de suco e baseiam-se em cruzamentos interespecíficos, principalmente com o uso de *Vitis labrusca*, altamente suscetível à ferrugem (Camargo, 2004).

Os sintomas iniciais da ferrugem da videira são pústulas pequenas, circulares, amarelo-alaranjadas, espalhadas na superfície inferior da folha. As pústulas aumentam até 5 mm² e tornam-se irregulares e necróticas. No lado adaxial das folhas as lesões têm aspecto angular. Sob alta severidade da doença as lesões são densamente distribuídas e ocorre desfolha prematura (Edwards, 2015). A dispersão de urediniosporos ocorre principalmente pelo vento e a alta umidade e escuro favorecem a germinação de urediniosporos (Edwards,

2015). O período de latência varia de 6 a 13 dias na cultivar Niagara Rosada (*V. labrusca*), dependendo da temperatura (Angelotti et al., 2011).

Os patógenos causadores de ferrugens causam reduzido impacto na assimilação de CO₂ de folhas doentes em comparação com patógenos necrotróficos. Fungos biotróficos frequentemente reduzem a fotossíntese em regiões foliares invadidas pelo micélio. Entretanto, patógenos podem alterar a eficiência fotossintética nas áreas assintomáticas adjacentes às lesões de folhas infectadas. Esse fenômeno é chamado de lesão virtual, que corresponde à área foliar onde a fotossíntese é nula. A lesão virtual pode ser do mesmo tamanho ou maior que a lesão visual. A relação entre lesão visual e virtual pode ser determinada experimentalmente pelo parâmetro β do modelo $y = 1 - (1 - x)^\beta$, proposto por Bastiaans (1991), onde y corresponde a proporção da folha com lesão virtual e x a proporção da folha com lesão visual. A determinação dos valores de β é feita experimentalmente relacionando a fotossíntese de folhas com diferentes níveis de lesão visual (x) e a fotossíntese em folhas saudáveis. Valores estimados de β maiores do que 1 indicam a existência de lesão virtual (Bastiaans, 1991). Valores elevados de lesões virtuais foram encontrados para *Pyricularia oryzae*-arroz (Bastiaans, 1991), *Mycosphaerella pinodes*- ervilha seca (Garry et al., 1998) e *Colletotrichum lindemuthianum*- feijão (Bassanezi et al., 2001). No entanto, patógenos causadores de ferrugens geralmente não induzem ou induzem pequenas lesões virtuais (Bassanezi et al., 2001; Bastiaans, 1991).

A redução da taxa fotossintética devido à infecção pode ser resultado de limitações difusivas e metabólicas. Essas limitações podem ser experimentalmente determinadas com base em respostas da taxa de assimilação CO₂ ao aumento da concentração intercelular de CO₂ (Debona et al., 2013; Farquhar et al., 1980; Nogués et al., 2002).

Além de interferirem na taxa fotossintética de órgãos parasitados, patógenos biotróficos também manipulam o metabolismo dos carboidratos das plantas, consumindo os

açúcares produzidos pelas e atuando como drenos de fotoassimilados (Zadoks & Schein, 1979). Em algumas interações planta-patógeno biotrófico, a dinâmica do amido foliar é alterada, como em uva – *Plasmopora viticola*. Contrariamente ao que ocorre em folhas saudáveis, nesse caso, folhas infectadas apresentam acúmulo de amido no final do período de escuro nas regiões das lesões (Gamm et al., 2011). Alterações no acúmulo de carboidratos em órgãos de armazenamento são frequentemente observadas em plantas doentes (Boote et al., 1983).

O acúmulo de carboidratos nas raízes durante o inverno é essencial para o desenvolvimento de culturas perenes na estação seguinte. A redução nas reservas de carboidratos em raízes de videira foi associada com a redução de 50% nas inflorescências e flores no ano subsequente (Bennett, 2002). Epidemias de *Puccinia psidii* em *Rhodamnia rubescens*, ao longo de quatro anos, levam a severa desfolha e reduzem a área foliar da planta até a mortalidade das árvores (Carnegie et al., 2016).

As ferrugens do gênero *Phakopsora* parecem ser diferentes das outras ferrugens em vários aspectos: muitas espécies de *Phakopsora* são capazes de penetrar diretamente no hospedeiro (Adendorff e Rijkenberg, 2000; Bonde et al., 1976; Seier et al., 2009), a maioria delas causa desfolha intensiva e algumas, como *P. pachyrhizi* e *P. jatrophiicola* provocam extensa necrose de tecido (Melching et al., 1979; Seier et al., 2009) e impacto significativo na taxa fotossintética foliar (Kumudini et al., 2008). Mecanismos de danos de *Phakopsora euvitis* na videira são desconhecidos e os objetivos deste trabalho foram quantificar os efeitos da doença sobre a fotossíntese e a dinâmica de carboidratos da videira cv. Niagara Rosada. A abordagem utilizada incluiu a avaliação das relações entre a severidade da doença e fotossíntese para determinar a presença de lesão virtual (*sensu* Bastiaans), analisando as limitações induzidas por este patógeno na fotossíntese de videiras (Farquhar et al., 1980; Sharkey et al., 2007), além de avaliações de carboidratos em raízes de plantas saudáveis e doentes.

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Material vegetal

Em todos os experimentos foram utilizadas mudas de videira (*Vitis labrusca*) cv. Niagara Rosada enxertadas sobre o porta-enxerto IAC-766. As mudas foram cultivadas em vasos de 7 litros contendo substrato esterilizado (solo argiloso, esterco e areia na proporção de 1: 1: 1) e mantidas em casa de vegetação com temperatura média do ar de 25 °C. Após a brotação, as plantas foram conduzidas em haste única, e cada vaso recebeu 200 mL de água diariamente. As plantas foram fertilizadas mensalmente com 20g de 4N + 14P + 8K.

2.2.2. Inóculo de *Phakopsora euvitis* e procedimento de inoculação

Urediniósporos de *Phakopsora euvitis* foram originalmente coletados em pomares comerciais de cv. Niagara Rosada. Suspensões de urediniósporos foram calibradas com uma câmara de Neubauer e aspergidas no lado abaxial das folhas até o ponto de escorrimento. As plantas inoculadas foram mantidas durante 24 horas em uma sala de inoculação escura, com umidade relativa de 100% e temperatura de 25 °C. A manutenção do inóculo foi realizada através da reinoculação a cada mês de urediniósporos em mudas saudáveis. Essa metodologia de inoculação foi repetida em todos os experimentos. As plantas do tratamento testemunha foram aspergidas com água e mantidas nas mesmas condições. Em todos os experimentos, as inoculações foram realizadas em mudas com um mês após a brotação (7 folhas totalmente expandidas).

2.2.3. Relações entre a severidade da doença e trocas gasosas

Dois experimentos foram realizados em câmara de crescimento (Convicon, Winnipeg, Canadá) para determinar como a ferrugem afeta as trocas gasosas de folhas de videira. As

condições na câmara de crescimento eram temperatura de 25 °C (± 2 °C) e fotoperíodo de 12 horas (PAR 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Cinco tratamentos foram aplicados no primeiro experimento: inoculações com 0, 10^2 , 10^3 , 10^4 e 10^5 urediniósporos de *P. euvtis* mL^{-1} . No segundo experimento, foram utilizados três tratamentos: inoculações com 0, 10^3 e 10^5 urediniósporos mL^{-1} . A quarta folha a partir da base da planta (totalmente expandida) foi usada para avaliações de trocas gasosas em ambos os experimentos. Cinco e dez repetições foram utilizadas no primeiro e segundo experimentos, respectivamente. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os diferentes níveis de inóculo foram utilizados para obter diferentes níveis de severidade da doença. As avaliações foram realizadas duas vezes por semana numa área marcada da folha de 2 cm^2 . A assimilação líquida de CO_2 (A), a condutância estomática (g_s), a concentração intercelular de CO_2 (Ci) e a transpiração (E) foram estimadas em folhas doentes e sadias utilizando um analisador portátil de gases por infravermelho (Li-6400 XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). A pressão parcial de CO_2 no ar (Ca) durante as medidas foi de 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e as trocas gasosas foram avaliadas sob densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) de 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As áreas das folhas selecionadas para avaliações de trocas gasosas foram fotografadas e imagens digitais foram processadas com o software Quant (Vale et al., 2001) para estimar a severidade da doença em cada avaliação. Foi considerada como área doente, a área das urédias e o eventual halo amarelado ou marrom que circundava as urédias.

2.2.4. Estimativas de lesão virtual (β) usando o modelo de Bastiaans

As severidades da doença nas áreas onde foram realizadas as medidas de trocas gasosas foram relacionadas com a taxa relativa de assimilação de CO_2 de acordo com o modelo:

$$P_x / P_o = (1-x)^\beta \quad (\text{eq.1})$$

Onde P_x é a taxa fotossintética líquida de uma folha com severidade x e P_o é a média da taxa fotossintética líquida de folhas sadias. O valor β corresponde ao efeito da severidade da doença na área da folha verde adjacente à lesão. Os dados dos experimentos de trocas gasosas descritos no item anterior foram utilizados para estimar o valor de β .

2.2.5. Limitações na fotossíntese de plantas infectadas por *Phakopsora euvtis*

Dois experimentos foram realizados para determinar as limitações fotossintéticas. Três plantas foram inoculadas com *Phakopsora euvtis* utilizando a concentração de 10^4 urediniósporos mL^{-1} e três plantas foram aspergidas com água. Realizaram-se seis avaliações, duas por dia, a partir do décimo quinto dia após a inoculação. As avaliações foram realizadas com um LI-6400 XT equipado com um fluorômetro (6400-40, LI-COR Inc., Lincoln NE, USA). A partir de curvas de resposta da fotossíntese ao aumento da concentração intercelular de CO_2 (curvas A/C_i), algumas variáveis fotossintéticas foram estimadas. As medidas de fotossíntese foram iniciadas com C_a de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ que foi gradualmente reduzida (250, 150, 100) até $50 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e em seguida aumentada gradualmente (400, 600, 800, 1400) até $2000 \mu\text{mol mol}^{-1}$. A respiração na luz (R_d) foi obtida por regressões lineares com os pontos da inclinação das curvas A/C_i . A condutância do mesofilo (g_m) foi obtida a partir da equação:

$$g_m = A / (C_i - (\Gamma^* (J + 8(A + R_d))) / (J - 4(A + R_d))) \quad (\text{eq.2})$$

Onde Γ^* é o ponto de compensação fotossintética, isto é, a concentração de CO_2 na qual o efluxo fotorespiratório de CO_2 é igual à taxa de assimilação de CO_2 fotossintético; J é o transporte de elétrons obtido a partir de avaliações de fluorescência de clorofila. A concentração de CO_2 no sítio de carboxilação no cloroplasto (C_c) foi obtida com a seguinte equação:

$$C_c = C_i - A / g_m \quad (\text{eq.3})$$

Substituiu-se C_i por C_c e foram obtidas curvas A/C_c , a partir das quais foram calculados V_{cmax} e J_{max} (Farquhar et al., 1980; Flexas et al., 2008):

$$A = V_{cmax} * (C_c - \Gamma^*) / (C_c + K_c * (1 - (o/K_o))) \quad (\text{eq.4})$$

$$A = J_{max} * (C_c - \Gamma^*) / 4 * (C_c + 2 * \Gamma^*) \quad (\text{eq.5})$$

Onde K_c e K_o são as constantes Michaelis-Menten da Rubisco para carboxilação e oxigenação respectivamente, e o é a concentração interna de O_2 na folha, considerada igual à concentração externa de O_2 (Flexas et al., 2007).

Foi obtida a taxa aparente de transporte de elétrons na concentração máxima de C_i (J). O dreno alternativo de elétrons (AES) foi obtido pela relação entre a eficiência quântica do fotossistema 2 e a eficiência quântica de fixação do CO_2 (Ribeiro et al., 2003). A partir das curvas A/C_c também foram obtidos os parâmetros A_{max} e g_{smax} que correspondem ao valor máximo de assimilação de CO_2 e condutância estomática máxima, respectivamente, obtidos em cada curva. A limitação estomática (L_s) foi obtida pela relação dos valores de A na C_a de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e A em C_i de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$.

2.2.6. Análises histopatológicas

Dois experimentos foram realizados em casa de vegetação para o estudo histopatológico de *P. euvitis* em cv. Niagara Rosada. Sete plantas foram inoculadas com urediniósporos de *Phakopsora euvitis* na concentração de 10^4 urediniósporos mL^{-1} e sete plantas foram pulverizadas com água. Cinco plantas doentes e cinco sadias foram amostradas ao amanhecer aos 14 dias após a inoculação. As folhas inoculadas com *P. euvitis* e as amostras do material sadio foram fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965) modificado com tampão fosfato pH 7,2. Durante a fixação as amostras foram levadas a uma bomba de vácuo para a retirada do ar contido nos tecidos e então desidratadas em série etanólica (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100%) e infiltradas em hidróxi-etilmetacrilato

(Leica Historesin®), conforme recomenda o fabricante. Os blocos foram seccionados a 5 – 7 µm de espessura em micrótomo rotatório Leica RM 2045 com o auxílio de uma navalha de aço do tipo C. Em seguida, as lâminas foram depositadas sobre uma placa aquecedora a 40 °C para a secagem e fixação das secções na lâmina. Para a localização de grãos de amido foi empregado o cloreto de zinco iodado sobre as secções nas lâminas que foram montadas no próprio reagente. A documentação dos resultados foi realizada através da captura de imagens a partir das lâminas usando câmera de vídeo Leica ® DC 300F acoplada ao microscópio Leica ® (Leica Microsystems Heerbrugg GmbH, Heerbrugg, Switzerland). Uma área de 25 cm² foi retirada das mesmas folhas utilizadas para anatomia para determinação do teor de amido. As amostras foram secas com circulação forçada de ar (65 °C) até atingirem massa seca constante. Logo após, foi determinado o teor de amido nos fragmentos de folha, utilizando o método enzimático proposto por Amaral et al. (2007).

2.2.6. Acúmulo de massa seca e carboidratos em plantas com ferrugem em casa de vegetação

Dois experimentos foram realizados utilizando cinco tratamentos: inoculações com 0, 10², 10³, 10⁴ e 10⁵ urediniósporos mL⁻¹ de *P. euvtis*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições. As mudas foram mantidas em casa de vegetação por 45 dias após a inoculação. Ao final dos experimentos foram estimadas a severidade da ferrugem (Angelotti et al., 2008a) e área foliar (Li-2000 - LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA) em todas as folhas de cada planta. O caule, o ramo e as raízes de cada planta foram coletados e secos em estufa com circulação forçada de ar (65 °C) até atingirem massa seca constante. Foi determinado o teor de carboidratos em raízes e quantidade total de carboidratos nas raízes (teor de carboidratos x massa seca das raízes). A extração dos carboidratos foi realizada com solução de metanol:clorofórmio:água (MCW), segundo Bieleski & Turner (1966). Os teores

de sacarose, de amido e de açúcares solúveis totais foram determinados de acordo com van Handel (1968), Amaral et al. (2007), Dubois et al., (1956), respectivamente.

2.2.7. Análises estatísticas

A área abaixo das curvas das variáveis de trocas gasosas foi estimada para cada tratamento por integração trapezoidal. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o software STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores de lesão virtual (β) foram estimados por regressões não-lineares, de acordo com o modelo de Bastiaans (1991). Regressões não-lineares também foram utilizadas para determinar os valores de V_{cmax} e J_{max} . O software STATISTICA 6.0 foi utilizado em todas as análises de regressões não-lineares. Médias das variáveis de limitações da fotossíntese e dos teores de amido em folhas de plantas sadias e doentes foram comparados pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). As variáveis do acúmulo de biomassa e carboidratos foram submetidas a regressões lineares e não-lineares em função da severidade da doença.

2.3. Resultados

2.3.1. Relações entre a severidade da doença e trocas gasosas

O período de incubação de *Phakopsora euvitis* foi de sete dias em todos os experimentos. A severidade da ferrugem variou de 0-45% e 0-90% respectivamente nos experimentos 1 (Fig. 1a) e 2 (Fig. 1b). Os valores de A em plantas sadias variaram de 8-15 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com um valor médio de 12 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em ambos os experimentos. Os valores da taxa fotossintética foram significativamente menores em plantas doentes do que plantas sadias em todos os tratamentos e experimentos (Fig. 1c,d e Tabela 1).

Os valores calculados pela integração trapezoidal (AUC) da condutância estomática (Fig. 1e,f) e transpiração (Fig. 1i,j) foram menores nas plantas com altas severidades de ferrugem do que em plantas saudias (Tabela 1). Os valores de AUC para a C_i de plantas com elevada severidade da ferrugem foram significativamente maiores do que os valores de $AUCC_i$ em plantas saudias em ambos os experimentos (Tabela 1). No experimento 2, observou-se que plantas apresentando o nível intermediário de severidade de ferrugem também apresentaram valores maiores de C_i (Fig. 1g,h, Tabela 1).

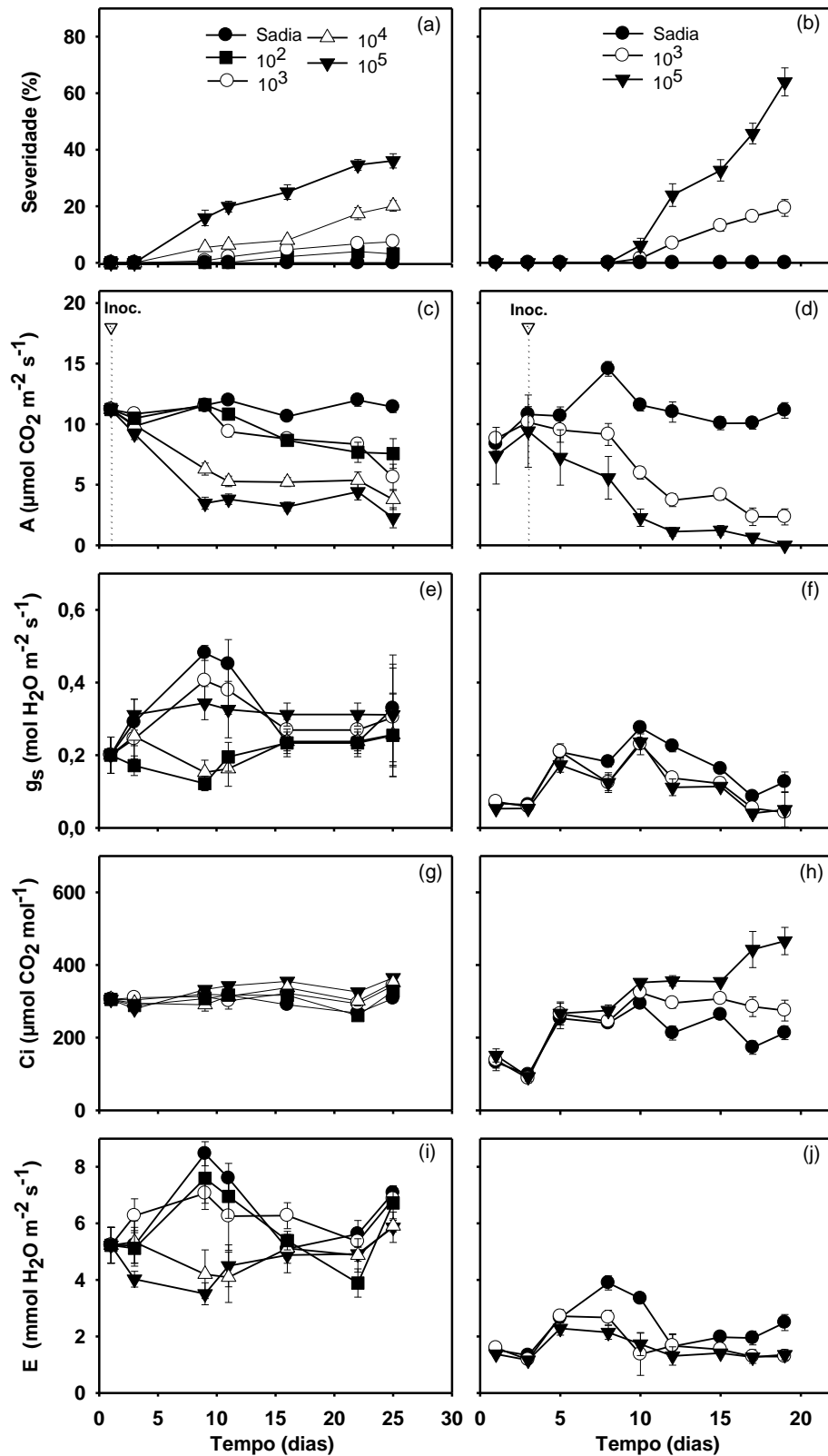


Figura 1 - Severidade de ferrugem (%), taxa fotossintética líquida (A), condutância estômática (g_s), concentração intercelular de CO_2 (C_i) e taxa de transpiração nos experimentos 1 (a, c, e, g, i) e 2 (b, d, f, h, j) em folhas de videira cv. Niagara Rosada inoculadas com diferentes concentrações de inóculo de *P. euvtitis*. As barras de erro correspondem ao erro padrão da média ($n=5$ e $n=10$ respectivamente nos experimentos 1 e 2). Inoc.= Datas das inoculações com *P. euvtitis*.

Tabela 1 - Valores da área abaixo das curvas da taxa líquida de assimilação de CO₂ (AUCA), da condutância estomática (AUCg_s), da concentração intercelular de CO₂ (AUCCI) e da taxa de transpiração (AUCE) em videiras cv Niagara Rosada sadias e inoculadas com 10², 10³, 10⁴ e 10⁵ uredinósporos mL⁻¹ de *Phakopsora euvitis* nos experimentos 1 e 2.

Tratamento	Experimento 1				Experimento 2			
	AUCA	AUCg _s	AUCCI	AUCE	AUCA	AUCg _s	AUCCI	AUCE
Sadias	245,5 a	7,05 a	6407	b 138 a	197,04 a	3,64 a	3894 c	42,67 a
10 ²	216,8 b	6,68 a	6617	ab 127 abc				
10 ³	214,8 b	6,39 ab	6821	ab 137 ab	113,41 b	2,28 b	4572 b	34,78 ab
10 ⁴	145,0 c	4,58 bc	6828	ab 106 bc				
10 ⁵	110,4 d	4,23 c	7214	a 98,1 c	72,04 c	2,06 b	5594 a	27,61 b

Valores seguidos pela mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P≤0,05).

2.3.2. Estimativas de lesão virtual (β) usando o modelo de Bastiaans

O valor do parâmetro β , estimado por regressões não-lineares utilizando o modelo de Bastiaans foi de 5,78 ($r^2=0,90$ e erro = 0,35). Valores nulos de fotossíntese relativa foram observados em severidades superiores a 40% no experimento 1 e superiores a 20% no experimento 2 (Fig. 2).

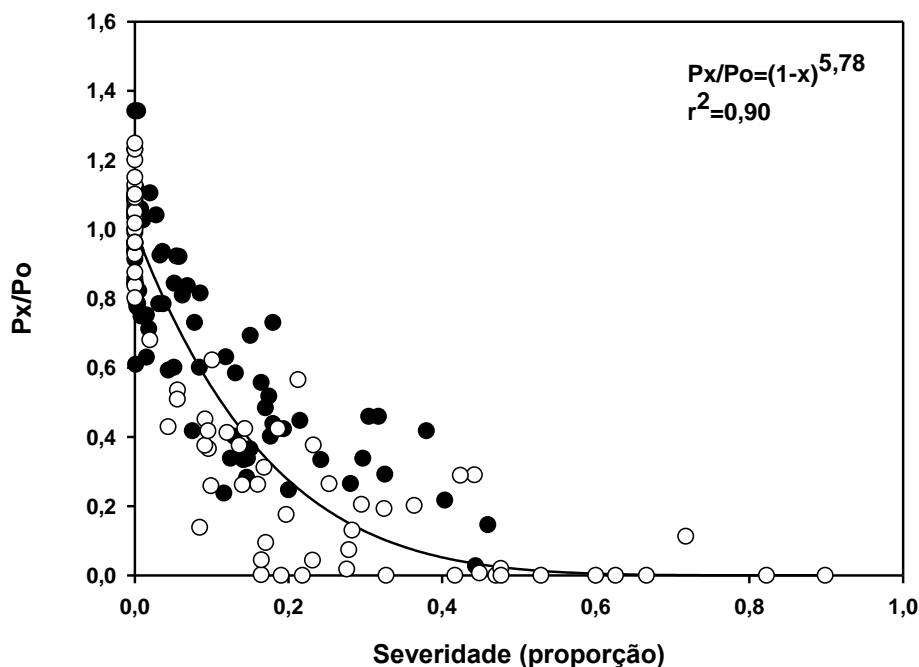


Figura 2 - Relações entre a taxa relativa de fotossíntese líquida (P_x / P_o) e a severidade da ferrugem (*Phakopsora euvitis*) na videira cv. Niagara Rosada. Os círculos pretos representam dados do primeiro experimento e os círculos brancos representam dados do segundo experimento (n total = 158). Linha representa o modelo $y = (1-x)^\beta$.

2.3.3. Limitações na fotossíntese de plantas infectadas por *Phakopsora euvitis*

Plantas infectadas com *Phakopsora euvitis* apresentaram menor capacidade fotossintética do que as plantas sadias (Fig. 3, Tabela 2). Plantas sadias apresentaram maiores valores de V_{cmax} , e J_{max} (Tabela 2). A condutância do mesofilo (g_m) foi o parâmetro mais afetado pela ferrugem, com uma redução de 67% em plantas doentes em relação a plantas sadias (Tabela 2). Maiores valores de g_{smax} são encontrados em plantas sadias

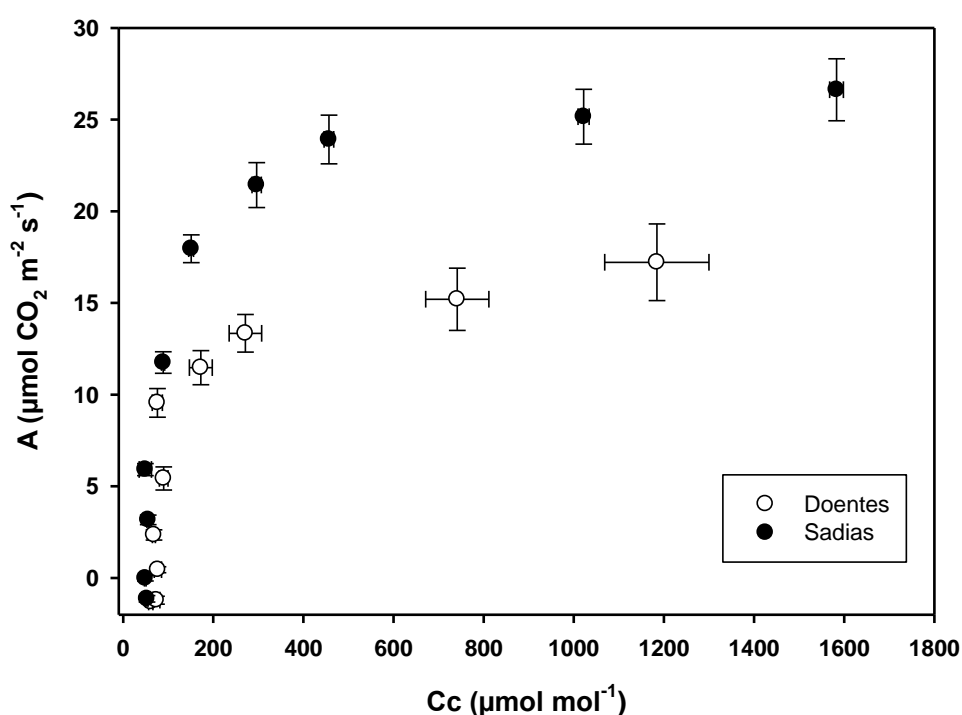


Figura 3 - Resposta da assimilação líquida de CO_2 (A) à concentração de CO_2 dentro do cloroplasto (curva A/C_c). Os círculos brancos representam dados de folhas da videira cv. Niagara Rosada infectadas por *Phakopsora euvitis*, e círculos pretos representam dados de folhas sadias. As barras de erro correspondem ao erro padrão médio de A e C_c .

A taxa aparente de transporte de elétrons na maior C_i (J) foi maior em plantas sadias e não houve diferença significativa no dreno alternativo de elétrons e na limitação difusiva estomática (Tabela 2).

Tabela 2 - Atividade da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (V_{cmax}), taxa máxima de transporte de elétrons contribuindo para a regeneração de ribulose-1,5-bisfosfato (J_{max}), condutância do mesofilo (g_m), condutância estomática máxima (g_{smax}), limitação difusiva estomática (L_s), taxa máxima de fotossíntese líquida (A_{max}), taxa aparente de transporte de elétrons (J) e dreno alternativo de elétrons (AES) estimados em videiras cv. Niagara Rosada sadias e com ferrugem (*Phakopsora euvitis*).

Variável (unidade)	Plantas Sadias	Plantas doentes ¹
V_{cmax} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	194,4 a	101,0 b
J_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	170,5 a	109,1 b
g_m ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0,15 a	0,05 b
g_{smax} ($\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	0,33 a	0,15 b
L_s (%)	14,6 a	20,9 a
A_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	28,0 a	16,9 b
J ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	155,9 a	102,5 b
AES	10,9 a	11,7 a

Valores seguidos pela mesma letra na linha não são significativamente diferentes pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). ¹ A severidade média (\pm desvio padrão) da ferrugem nas plantas doentes foi de 7,2 % ($\pm 4,2$).

2.3.4. Análises histopatológicas

Foi observada alta concentração de amido, ao final do período escuro, nos parênquimas clorofilianos em folhas de cv. Niagara Rosada, em regiões próximas às pústulas de *Phakopsora euvitis*, 14 dias após a inoculação. O mesmo padrão não foi observado no mesofilo de plantas sadias (Fig. 4).

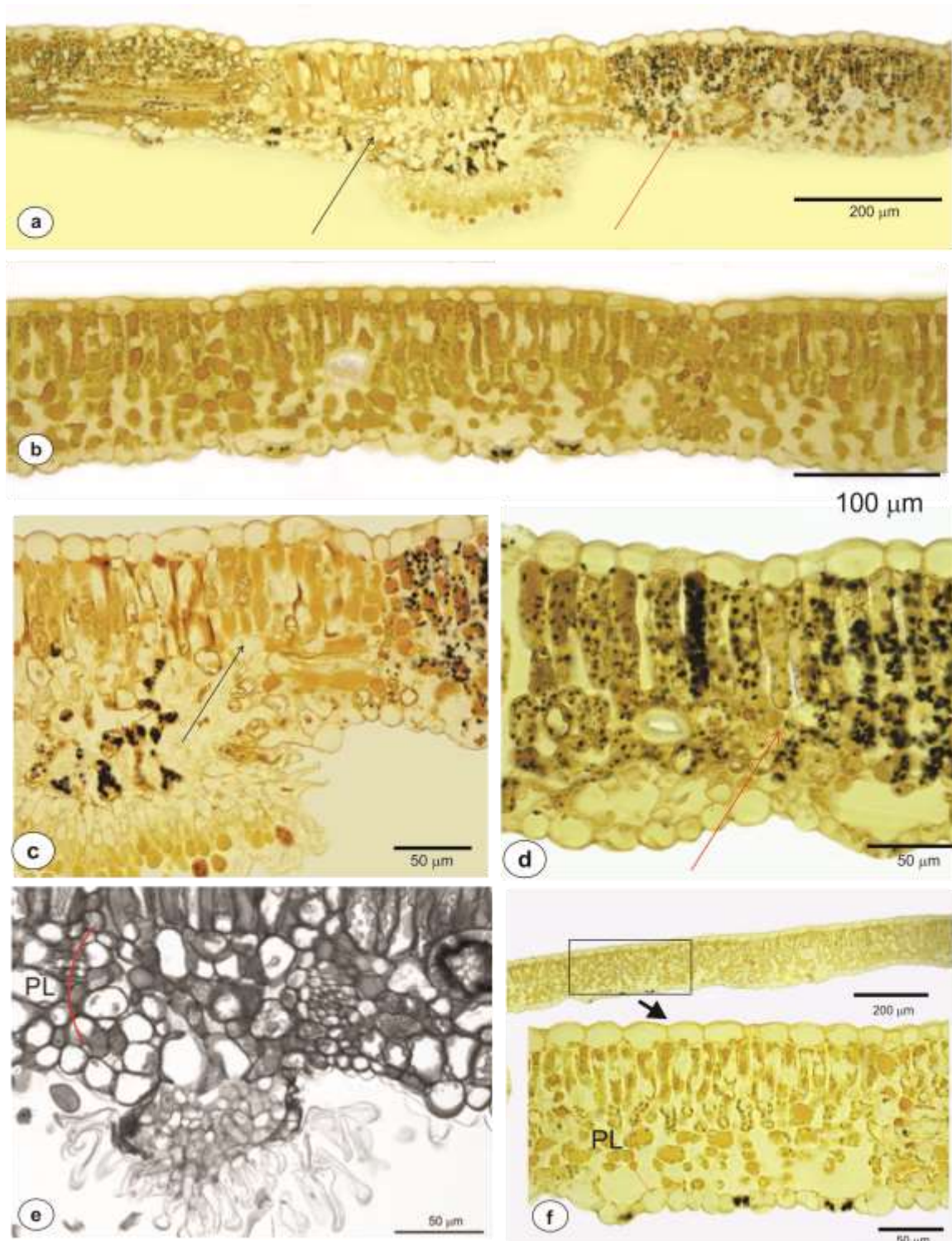


Figura 4 - Secções transversais de folhas de *Vitis labrusca* cv. Niagara Rosada saudáveis (b e f) e infectadas com *Phakopsora euvitis*, 14 dias após inoculação (a, c, d, e). Em (a) observar a ausência de amido no mesofilo subjacente à pústula de *P. euvitis* (seta preta) e o acúmulo de amido no mesofilo em regiões adjacentes às pústulas (seta vermelha). Observar os detalhes dos setores indicados pelas setas em (c) e (d), respectivamente. Células do parênquima lacunoso (PL) hipertrofiadas nas regiões próximas às pústulas (e) e parênquima lacunoso com espaços intercelulares no tecido sadio (f).

O teor de amido foi de 22,9 e 33,1 mg g⁻¹ de massa seca em folhas sadias e doentes (P<0,05), respectivamente. Essa diferença corresponde a um aumento de 44% no teor de amido em folhas com sintomas de ferrugem (Fig. 4a-d). O parênquima lacunoso de plantas doentes apresentou diminuição dos espaços intercelulares (Fig. 4e), quando comparado com o parênquima lacunoso de plantas sadias (Fig. 4f) devido à hipertrofia nas proximidades das pústulas (Fig. 4e).

2.3.5. Acúmulo de massa seca e carboidratos em plantas infectadas com ferrugem

Em ambos os experimentos foi observado a desfolha em plantas doentes. A área foliar decresceu linearmente em função da severidade de *Phakopsora euvitis*. Plantas com altas severidades de *P. euvitis* apresentaram uma redução da área foliar de 60% e 90%, 45 dias após a inoculação, respectivamente nos experimentos 1 e 2 (Fig. 1a). Houve também redução na massa seca de raízes com o aumento da severidade de ferrugem nos dois experimentos (Fig. 5b). Não houve correlação entre a severidade da doença e a massa seca de ramos ou troncos da videira (Fig. 5c,d).

A quantidade de açúcares solúveis totais, sacarose e amido nas raízes de mudas decresceu na forma da potência inversa com o aumento da severidade de ferrugem (Fig. 6). As reduções nos teores açúcares solúveis totais, sacarose e amido foram altas em plantas com baixos valores de severidade. Plantas com valores de severidades de ferrugem entre 20 e 80% apresentaram valores de carboidratos nas raízes similares, porém muito inferiores aos valores observados em plantas sadias.

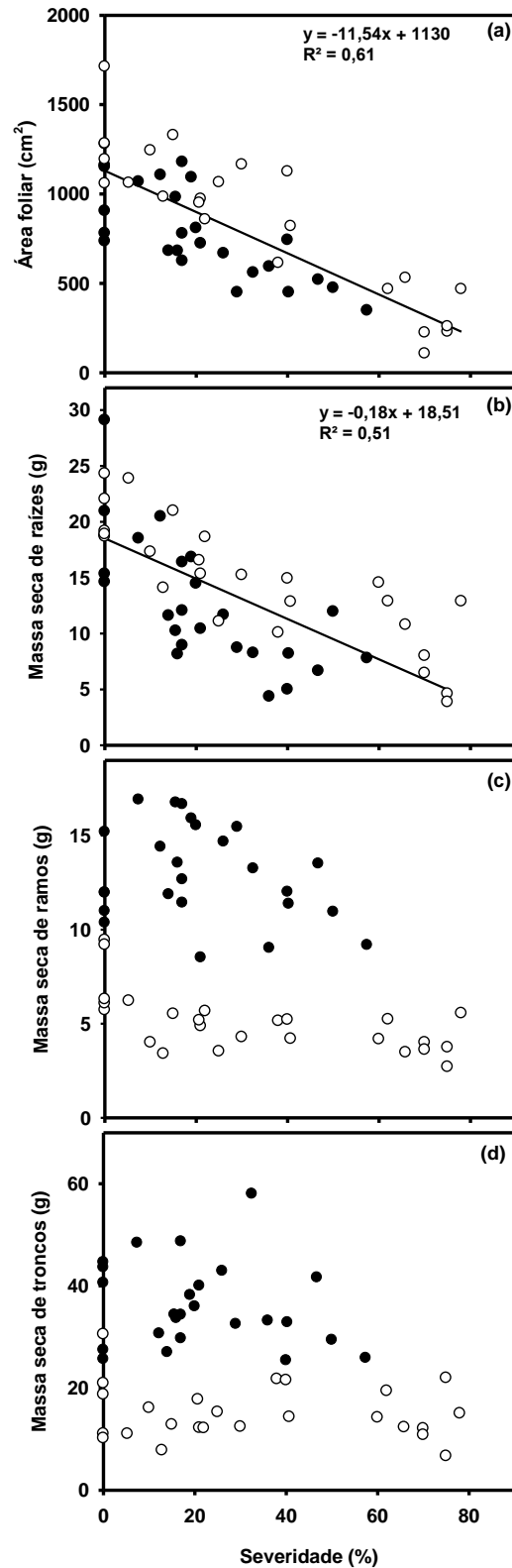


Figura 5 - Relações entre a área foliar (a), massa seca de raízes (b), massa seca de ramos (c) e massa seca de troncos (d) de mudas de videira cv. Niagara Rosada sobre porta enxerto IAC-766 e a severidade da ferrugem (*Phakopsora euvitidis*). Os círculos pretos representam dados do primeiro experimento e os círculos brancos representam dados do segundo experimento. Linhas representam a regressões lineares ($p < 0,05$).

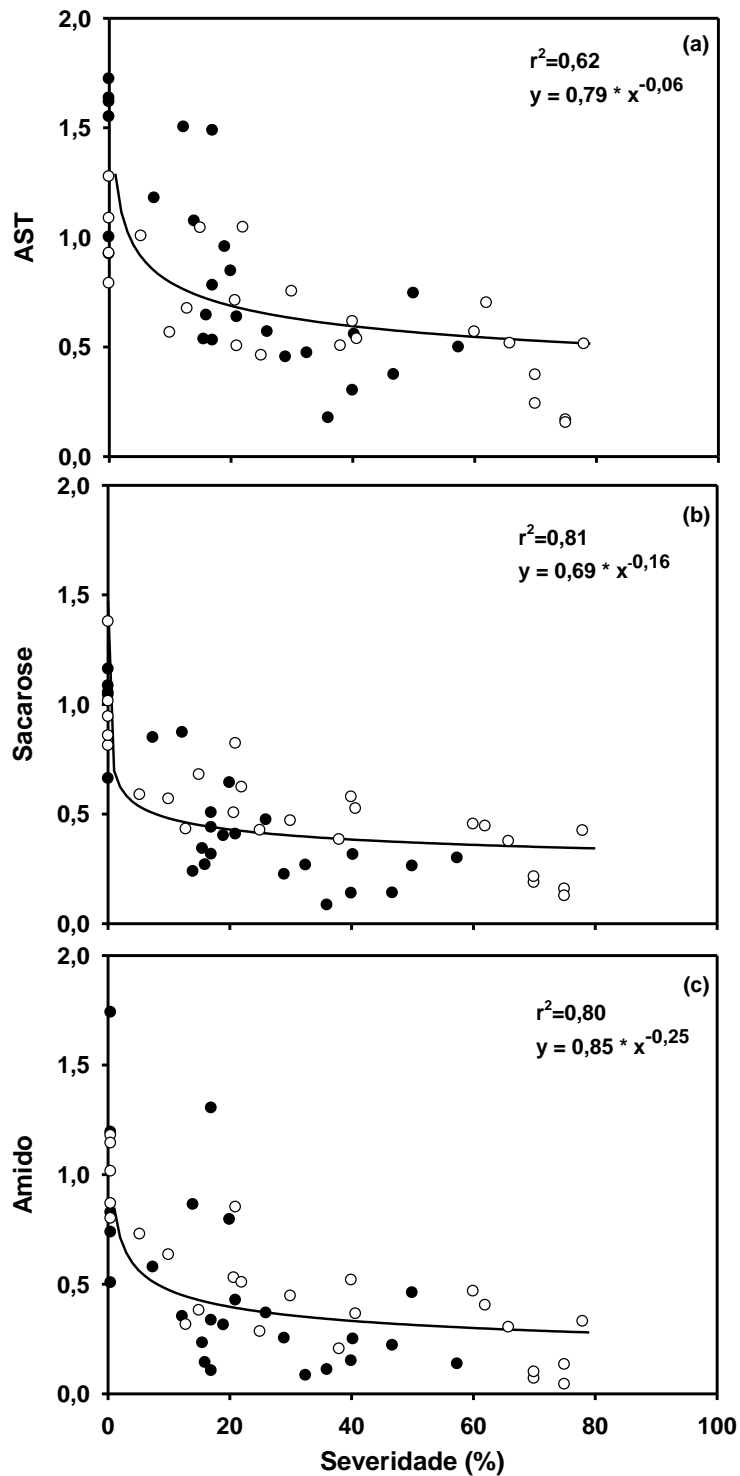


Figura 6.- Variação relativa dos açúcares solúveis totais (AST), sacarose e amido em raízes de videira cv. Niagara Rosada em função da severidade de *Phakopsora euvtis* 45 dias após a inoculação. Dados das variáveis dependentes foram relativizados com os dados médios das plantas controle. Círculos abertos correspondem aos dados do experimento 1 e círculos fechados aos dados do experimento 2. Linhas representam o modelo da potência inversa.

2.4. Discussão

A fotossíntese e o metabolismo de carboidratos *Vitis labrusca* foram significativamente afetados pela colonização de *Phakopsora euvitis*. Foi observada surpreendente redução na taxa fotossintética no tecido verde adjacente às lesões de *P. euvitis*, expressa pelo valor de $\beta = 5,78$. Valores de β reportados para ferrugens normalmente são baixos: 1,2 para *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* em trigo (Bastiaans, 1991; Spitters et al., 1990), 2,1 para *Uromyces appendiculatus* em feijoeiro (Bassanezi et al., 2001) e 1,0 para *Puccinia triticina* em trigo (Robert et al., 2005). De modo geral, reduções na fotossíntese diretamente proporcionais ao aumento da severidade são associadas a fungos com parasitismo especializado, como os patógenos biotróficos (Shtienberg, 1992). Evolutivamente, a manutenção do hospedeiro vivo é vantajosa e necessária para as sobrevivência dos patógenos. Entretanto a ferrugem asiática da videira não se enquadra nessa generalização, pois mesmo sendo causada por parasita obrigatório, causa danos na fotossíntese de plantas da mesma ordem de grandeza que alguns patógenos necrotróficos. A ferrugem asiática da soja, causada por *Phakopsora pachyrhizi*, também afeta o tecido verde sadio ao redor das pústulas (Kumudini et al., 2008), porém não foram realizadas estimativas de lesão virtual para esse patossistema.

Os mecanismos de abertura e fechamento estomático não foram afetados em plantas com sintomas de ferrugem. Plantas de feijoeiro com sintomas de ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) também não apresentaram interferência na abertura estomática pelo patógeno (Bassanezi et al., 2002). As ferrugens que ocorrem em monocotiledôneas produzem pústulas típicas, com o rompimento da epiderme sob o sítio de esporulação. O rompimento da epiderme aumenta a transpiração das plantas em baixas severidades da doença (Shtienberg, 1992). Não foi observado aumento na transpiração de plantas com sintomas de *P. euvitis* em nenhuma faixa de severidade, porém não existem estudos histopatológicos que descrevam os mecanismos de esporulação de *P. euvitis*. A Ci em plantas de videira com altos valores de

severidade da ferrugem foi maior do que em plantas saudias. Esse aumento na Ci foi também observado em plantas de feijoeiro infectadas com *Uromyces appendiculatus* (Bassanezi et al., 2001; Wagner & Boyle, 1995) e plantas de trigo infectadas com *Puccinia triticina* (Carretero et al., 2011). O aumento da Ci em plantas doentes é um indicativo que a redução da taxa fotossintética induzida por patógenos não é mediada por limitação estomática (Carretero et al., 2011), o que está de acordo com as estimativas de Ls (Tabela 2).

Eliminando a interferência de estômatos na fotossíntese, as limitações impostas por patógenos ou outros fatores podem ter origem na resistência do mesofilo ao transporte de CO₂ até os sítios de carboxilação, na atividade fotoquímica e/ou nas reações bioquímicas da fotossíntese. De fato, a condutância do mesofilo foi o parâmetro mais afetado pela ferrugem da videira. Plantas infectadas também apresentaram menor carboxilação da Rubisco e menor regeneração de RuBP dependente do transporte de elétrons (Tabela 2). A redução da atividade da Rubisco é comumente observada em patossistemas que envolvem patógenos biotróficos e ferrugens (Ayres, 1981; Bassanezi et al., 2002; Scholes et al., 1994). O transporte aparente de elétrons através do PSII foi reduzido pelo patógeno, o que pode estar ligado à destruição de cloroplastos nas regiões do mesofilo abaixo da pústula (Scholes & Rolfe, 1976).

Através das análises histopatológicas foi possível observar hipertrofia de células do parênquima lacunoso, diminuindo espaços intercelulares desse tecido. A hipertrofia de células do mesofilo é também observada em folhas de soja infectas com *Phakopsora pachyrhizi* (Bonde et al., 1976). A infecção por eciosporos e teliósporos de ferrugens microcíclicas normalmente ocasionam alterações histológicas e morfológicas nos hospedeiros, como hipertrofia celular e galhas. Essas alterações podem ser causadas pela produção de substâncias reguladoras de crescimento pelos patógenos e pelas plantas (Quilliam & Shattock, 2003). No caso de ferrugens macrocíclicas como as do gênero *Phakopsora* a causa dessas alterações histopatológicas em células próximas aos sítios de infecção é desconhecida.

O acúmulo de amido em folhas nas regiões adjacentes às pústulas foi claramente observado em análises hispatológicas e por quantificações de amido em tecidos doentes. Folhas de feijoeiro com ferrugem também apresentam acúmulo de amido em células próximas aos sítios de infecção até a fase de esporulação do fungo *Uromyces appendiculatus* (Sziráki et al., 1984; Wagner & Boyle, 1995). O fungo *Puccinia poarum* também ocasiona uma deposição de amido em células do hospedeiro próximas às pústulas do patógeno (Holligan et al., 1974). Uma explicação para esse acúmulo é o aumento da atividade da invertase ácida nos sítios de infecção de ferrugens (Long et al., 1975). O aumento da atividade das invertases nos sítios de infecção hidrolisa a sacarose em hexoses, impedindo a exportação da sacarose para órgãos dreno e levando ao acúmulo de amido nos cloroplastos. Como os cloroplastos na regiões das pústulas encontram-se destruídos, a síntese de amido ocorre nos primeiros cloroplastos disponíveis, que estão nas células ao redor das pústulas (Hay & Walker, 1989; Long et al., 1975).

A redução de biomassa e açúcares nas raízes é uma consequência da influência de *P. euvitis* nas folhas, principalmente pela redução de área foliar, da taxa fotossintética líquida e do desbalanço dos padrões de translocação de fotoassimilados. Mudanças na translocação são devidas principalmente ao estabelecimento de novo drenos nos sítios de infecção do patógeno. Tanto patógenos necrotróficos como biotróficos são capazes de causar distúrbios na translocação de assimilados, entretanto o aumento da importação e acúmulo de carboidratos para tecidos infectados é uma característica marcante de fungos biotróficos (Hay & Walker, 1989). Folhas de feijoeiro com ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) se comportam como drenos de assimilados e reduzem o envio de carbono para raízes e folhas novas. Folhas de cevada infectadas com *Puccinia hordei* exportam menos sacarose para outros órgãos da planta e plantas doentes apresentam reduções no crescimento de folhas e raízes (Owera et al., 1983).

A redução na quantidade de carboidratos armazenados, entre eles o amido, em plantas de *Vitis labrusca* foi acentuada mesmo em plantas apresentando baixos valores de severidade da ferrugem. A videira utiliza o amido armazenado em raízes para o seu crescimento em estádios iniciais de desenvolvimento, logo após a brotação até o início da floração (Keller 2010). De acordo com Vida e Tessmann (2005) plantas que apresentam sintomas de ferrugem podem ter a produção do ano seguinte reduzida. Essa redução na produção é devida ao comprometimento do acúmulo de reservas na planta causado por *P. euvitis*.

Phakopsora euvitis reduziu drasticamente a fotossíntese e alterou a dinâmica da produção e acúmulo de carboidratos em plantas de *Vitis labrusca* doentes. A atuação de *P. euvitis* como dreno alternativo de fotoassimilados e alterações nos padrões de translocação são características comuns dos patógenos biotróficos (Lewis, 1973). Entretanto, a redução na fotossíntese em tecidos assintomáticos adjacentes à lesão e elevados valores de lesão virtual não são pontos marcantes dos mecanismos de colonização de biotróficos. Além da generalização do trofismo de patógenos e efeitos na fisiologia da plantas, a própria dicotomia de biotrófico e necrotrófico é também uma simplificação, que pode ser excessiva, e podem existir características comuns nos modos nutricionais dos patógenos no *continuum* biotrófico-necrotrófico-saprofítico (Whippes & Lewis, 1981).

2.5. Conclusões

P. euvitis reduz a taxa fotossintética nas áreas lesionadas e nos tecidos verdes adjacentes às lesões, reduzindo a eficiência fotossintética de folhas. A dinâmica dos carboidratos da videira *Vitis labrusca* é alterada em plantas infectadas com *P. euvitis*, que causa o acúmulo de amido nas regiões das folhas próximas às lesões e reduz a quantidade açúcares nas raízes de plantas doentes mesmo em baixas severidades. A produção de

biomassa de raízes é comprometida em plantas com sintomas da ferrugem da videira e *P. euvitis* causa intensa desfolha em plantas doentes.

Referências

- Adendorff R, Rijkenberg FHJ. 2000. Scanning electron microscopy of direct host leaf penetration by urediospore-derived infection structures of *Phakopsora apoda*. *Mycological Research* 104: 317–324.
- Amaral LIV, Gaspar M, Costa PMF, Aidar MPM, Buckeridge MS. 2007. Novométodo enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34: 425–431.
- Angelotti F, Regina C, Buffara S, Vieira RA, Vida JB, 2014. Protective, curative and eradivative activities of fungicides against grapevine rust. *Ciência Rural* 44: 1367–70.
- Angelotti F, Scapin CR, Tessmann DJ, Vida JB, Oliveira RR, Canteri MG. 2008a. Diagrammatic scale for assessment of grapevine rust. *Tropical Plant Pathology* 33: 439–443.
- Angelotti F, Scapin CR, Tessmann DJ, Vida JB, Vieira RA, Souto ER de. 2008. Resistência de genótipos de videira à ferrugem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43: 1129–1134.
- Angelotti F, Tessmann DJ, Scapin CR, Vida JB. 2011. Efeito da temperatura e da luz na germinação de urediniósporos de *Phakopsora euvitidis*. *Summa Phytopathologica*: 37, 59–61.
- Avelino J, Cristancho M, Georgiou S, Imbach P, Aguilar L, Bornemann G, Läderach P, Anzueto F, Hruska AJ, Morales C. 2015. The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008-2013): impacts, plausible causes and proposed solutions. *Food Security* 7: 303-321.
- Ayres PG. 1981. *Effects of disease on the physiology of the growing plant*. Society for Experimental Biology, Seminar Series 11. Cambridge University Press.
- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamin Filho A, Berger RD. 2002. Gas exchange and emission 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* 150: 37–47.
- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamin Filho A, Hau B, Berger RD. 2001. Accounting for photosynthetic efficiency of bean leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. *Plant Pathology* 50: 443-452.
- Bastiaans L. 1991. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due leaf blast. *Phytopathology* 81: 611-615.
- Bennett, JS, 2002. *Relationships between carbohydrate supply and reserves and the reproductive growth of grapevines* (*Vitis vinifera L.*). Doctor of Philosophy-Thesis, Lincoln University, 222 p.
- Bielecki RL, Turner A. 1966. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. *Anal.Biochem*: 17, 278–293.
- Bonde MR, Melching JS, Bromfield KR. 1976. Histology of the suscept-pathogen relationship between glycine max and *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust. *Phytopathology* 66: 1290-1294.
- Boote KJ, Jones JW, Mishoe JW, Berger RD. 1983. Coupling pests to crop growth simulator to predict yield reductions. *Phytopathology* 73: 1581-1587.
- Camargo UA. 2004. Impacto das cultivares brasileiras de uva no mercado interno e potencial no mercado internacional. In: *Proceedings do XII Congresso Brasileiro de Viticultura e Enologia*. Recife, Brasil, 37–42.
- Carnegie AJ, Kathuria A, Pegg GS, Entwistle P, Nagel M, Giblin, FR. 2016. Impact of the invasive rust *Puccinia psidii* (myrtle rust) on native Myrtaceae in natural ecosystems in Australia. *Biological invasions* 18: 127-144.
- Carretero R, Bancal MO, Miralles DJ. 2011. 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* 5: 237– 246

Debona D, Rodrigues FA, Rios JA, Martins SCV, Pereira LF, DaMatta FA. 2013. Limitations to photosynthesis in leaves of wheat plants infected by *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 104: 34-39

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350–356.

Edwards J. 2015. Grapevine leaf rust. In: Wilcox WF, Gubler WD, Uyemoto JK, eds. *Compendium of grape diseases, Disorders and Pests*. Saint Paul, EUA: APS Press, 61–3.

European and Mediterranean Plant Protection Organization. 2007. EPPO database on quarantine pests.

Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA. 1980. A biochemical model of the photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149: 78-90.

Flexas J, Diaz-Espejo A, Galmés J, Kaldenhoff R, Medrano H, Ribas-Carbo M. 2007. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant, Cell & Environment* 30: 1284–1298.

Flexas J, Ribas-Carbó M, Dias-Espejo A, Galmés J, Medrano H. 2008. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment* 31: 602-621.

Gamm M, Héloir MC, Bligly R, Vaillant-Gaveau N, Trouvelot S, Alcaraz G, Frettinger P., Clément C, Pugin A, Wendehenne D, Adrian M. 2011. Changes in carbohydrate metabolism in *Plasmopara viticola* - infected grapevine leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24: 1061-1073.

Garry G, Jeuffroy MH, Ney B, Tivoli B. 1998. Effects of Aschochyta blight (*Mycosphaerella pinodes* Berk. and Blox.) on the decrease in photosynthesizing leaf area and the

- photosynthetic efficiency by green leaf area of dried-pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Pathology* 45:769-777.
- Godoy CV, Seixas CDS, Soares RM, Marcelino-Guimarães FC, Meyer MC, Costamilan LM. 2016. Asian soybean rust in Brazil: past presente future. *Pesquisa agropecuária brasileira* 51: 407-421.
- Handel E. 1968. Direct microdetermination of sucrose. *Analytical Biochemistry*. 22:280–283.
- Hay RKM, Walker AJ. 1989. *An introduction to the physiology of crop yield*. Longman Scientific & Technical.
- Helfer S. 2014. Rust fungi and global change. *New Phytologist* 201: 770-780.
- Hodson, DP. 2011. Shifting boundaries: challenges for rust monitoring. *Euphytica* 179: 93-104.
- Holligan PM, Chen C, McGee EMM, Lewis DH. 1974. Carbohydrate metabolism in healthy and rusted leaves of coltsfoot. *New Phytologist* 73: 881-888.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. 2016. *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola* – Pesquisa mensal de previsão de safras agrícolas no ano civil.
- Karnovsky M. 1965. A Formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal Cell Biology* 27: 137.
- Keller M. 2010. *The Science of Grapevine. Anatomy and Physiology*. Elsevier, San Diego.
- Kumudini S, Godoy CV, Board JE, Omielan J, Tollenaar M. 2008. Mechanisms involved in soybean rust-induced yield reduction. *CropScience* 48:2334-2342.
- Lewis DH. 1973. Concepts in fungal nutrition and the origin of biotrophy. *Biological Reviews* 48: 261-278.
- Line RF. 2002. Stripe rust of wheat and barley in North America: A retrospective historical review. *Annual Review of Phytopathology* 40:75-118.
- Long DE, Fung AK, McGee EEM, Cooke RC, Lewis DH. 1975. The activity of invertase and

its relevance to the accumulation of storage polysaccharides in leaves infected by biotrophic fungi. *New Phytologist* 74: 173-182.

Melching JS, Bromfield KR, Kingsolver CH, 1979. Infection, colonization, and uredospore production on Wayne soybean by four cultures of *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust. *Phytopathology* 69: 1262–5.

Mendgen K, Hahn M. 2002. Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. *Trends in Plant Science* 7: 352-356.

Morin L, Aveyard R, Lidbetter JR, Wilson PG. 2012. Investigating the host-range of the rust fungus *Puccinia psidii* sensu lato across tribes of the family Myrtaceae present in Australia. *PLoS ONE* 7: e35434.

Murithi HM, Beed F, Tukamuhabwa P, Thomma BPHJ, Joosten MHAJ. 2016. Soybean production in eastern and southern Africa and threat of yield loss due to soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi*. *Plant Pathology* 65: 176-188.

Nogués S, Cotcarrera L, Alegre L, Trillas MI. 2002. Limitations to photosynthesis in tomato leaves induced by *Fusarium* wilt. *New Phytologist*: 154: 461-470

Ono Y. 2000. Taxonomy of the *Phakopsora ampelopsidis* species complex on vitaceous hosts in Asia including a new species, *P. euvitis*. *Mycologia* 92: 154-173.

Owera SAP, Farrar JF, Whitbread R. 1983. Translocation from leaves of barley infected with brown rust. *New Phytologist* 94: 111-123

Quilliam RS, Shattock RC. 2003. Haustoria of microcyclic rust fungi *Uromyces ficariae* and *Puccinia tumida* and other gall-forming species, *U. dactylidis* (macrocyclic) and *P. smyrnii* (demicyclic). *Plant Pathology* 52: 104-113.

Ribeiro RV, Machado EC, Oliveira RF. 2003. Early photosynthetic response of sweet orange plants infected with *Xylella fastidiosa*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 62: 167-173.

- Robert C, Bancal M, Ney B, Lannou C. 2005. Wheat leaf photosynthesis loss due to leaf rust, with respect to lesion development and leaf nitrogen status. *New Phytologist* 165: 227–241.
- Scholes JD, Lee PJ, Horton P, Lewis DH. 1994. Invertase: understanding changes in the photosynthetic and carbohydrate metabolism of barley leaves infected with powdery mildew. *New Phytologist* 126: 213-222.
- Scholes JD, Rolfe SA. 1996. Photosynthesis in localized regions of oat leaves infected with crown rust (*Puccinia coronata*): quantitative imaging of chlorophyll fluorescence. *Planta* 199: 573-582.
- Seier MK, Cortat G, Evans HC, 2009. *Pathogenicity, life-cycle elucidation and preliminary host-range testing of Phakopsora jatrophiicola Cummins*. CABI Europe.
- Sharkey TD, Bernacchi CJ, Farquhar GD, Singaas EL. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment* 30: 1035-1040.
- Shtienberg D. 1992. Effects of foliar diseases on gas exchange processes: A comparative study. *Phytopathology* 82: 760-765.
- Sikora EJ, Allen TW, Wise KA, Bergstrom G, Bradley CA, Bond J, Brown-Rytlewski D, Chilvers M, Damicone J, DeWolf E, *et al.* 2014. A coordinated effort to manage soybean rust in North America: A success story in soybean disease monitoring. *Plant Disease* 98: 864-875.
- Spitters CJT, van Roermund HJW, van Nassau HGGM, Schepers J, Mesdag J. 1990. Genetic variation in partial resistance of leaf rust in winter wheat: disease progress, foliage senescence and yield reduction. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 96: 3-15.
- Sziráki I, Mustárdy LA, Faludi-Dániel A, Király Z. 1984. Alterations in chloroplast ultrastructure and chlorophyll content in rust-infected Pinto Beans at different stages of disease development. *Phytopathology* 74: 77-84.

- Vale FXR, Fernandes Filho EIF, Liberato JR. 2001. *QUANT – a software for plant disease severity assessment*. In: Proceedings of the 8th International Congress of Plant Pathology. Christchurch, NZ. Pg. 105.
- Vida JB, Tessmann DJ. 2005. Perdas causadas pela ferrugem (*Phakopsora euvitidis*) na cultura da videira. *Fitopatologia Brasileira* 30: 508 Suplemento
- Wagner S, Boyle C. 1995. Changes in carbohydrate, protein and chlorophyll content, and enzyme activity during switch from uredinio - to teliospore sporulation in bean-rust fungus *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Link. *Journal of Phytopathology* 143: 633-638.
- Whipps JM, Lewis DH. 1981. Patterns of translocation, storage and interconversion of carbohydrates. In Ayres PG (ed) *Effects of disease on the physiology of the growing plant*. Society for Experimental Biology, Seminar Series 11. Cambridge University Press.
- Yorinori JT, Paiva WM, Frederick RD, Costamilan LM, Bertagnolli PF, Hartman GE, Godoy CV, Nunes Jr. J. 2005. Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001-2003. *Plant Disease* 89: 675-677.
- Zadoks JC, Schein RD, 1979. *Epidemiology and plant disease management*. Oxford, UK: Oxford University Press Inc.
- Zhao D, Glynn NC, Glaz B, Comstock JC, Sood S. 2011. Orange rust effects on leaf photosynthesis and related characters of sugarcane. *Plant Disease* 95: 640-647.

3. MECANISMOS DE DANOS DE *PLAMOSPARA VITICOLA* EM VIDEIRA *VITIS LABRUSCA*

Resumo

As condições climáticas nas principais regiões produtoras de uvas no do Brasil são favoráveis à ocorrência de doenças foliares e são realizadas várias aplicações de fungicidas para o controle desses patógenos. O míldio da videira ocorre em todas as regiões de cultivo no Brasil e no mundo, causando danos na produção. Embora o míldio seja um dos maiores problemas na produção da cv. Niagara Rosada no Brasil, estudos que avaliem os quantitativamente os mecanismos de danos dessa doença são escassos. Dessa forma os objetivos desse trabalho foram quantificar os efeitos do míldio da videira nas trocas gasosas de folhas e nas limitações fotossintéticas e avaliar a produção de biomassa e o acúmulo de carboidratos em plantas mantidas em condições controladas e no campo. Experimentos foram realizados em mudas inoculadas com diferentes concentrações de inóculo de *P. viticola* para avaliar o efeito do patógeno nas trocas gasosas de folhas e na fotossíntese no tecido adjacente à lesão (determinação do β). Outros dois experimentos foram realizados em condições controladas para determinação do efeito de *P. viticola* nas variáveis das limitações fotossintéticas através da obtenção de curvas de resposta da taxa de assimilação de CO₂ ao aumento da concentração de CO₂ intercelular. O efeito de *P. viticola* na produção de biomassa e o acúmulo de carboidratos em mudas também foi avaliado, através de inoculações com diferentes concentrações de esporângios mL⁻¹ de *P. viticola*. A produção de uvas foi avaliada em 60 plantas de cv. Niagara Rosada doentes e 60 plantas sadias no campo. A quantificação de carboidratos em todos os órgãos das plantas foi realizadas em 5 plantas sadias e 5 plantas doentes durante dois anos. A taxa fotossintética foi a variável das trocas gasosas mais afetada pelo míldio da videira. O valor de β estimado para *Plasmopara viticola* em *V. labrusca* foi de 2,9, mostrando que o míldio da videira afeta a assimilação de CO₂ no tecido aparentemente sadio adjacente às lesões. A atividade da Rubisco foi reduzida em folhas infectadas. *P. viticola* causou a redução da biomassa e acúmulo de carboidratos em raízes. Plantas doentes, no campo, apresentaram produções menores do que plantas sadias. O míldio causou intensa queda de bagas e redução de amido em raízes das plantas no campo.

Palavras-chave: Míldio; Fotossíntese; Carboidratos; Produção; Niagara Rosada

Abstract

The weather conditions on the main grapevine growing regions in Brazil are favourable to the occurrence of foliar diseases and several applications of fungicides are carried out to control the pathogens. Downy mildew occurs in all grapevine growing regions in Brazil and worldwide as well causing yield losses. Although downy mildew is one of the major problems in the production of cv. Niagara Rosada in Brazil, studies that evaluate the damage mechanisms of this disease quantitatively are scarce. The objectives of this work were to quantify the effects of the downy mildew on gas exchange of leaves and in the photosynthesis limitations and to evaluate the biomass production and carbohydrates accumulation in plants under controlled conditions and plants in the field. Experiments were carried out on potted plants inoculated with different inoculum concentrations of *P. viticola* to evaluate the effect of the pathogen on leaf gas exchange and on photosynthesis in the tissue adjacent to the lesion (β). Two other experiments were carried out under controlled conditions to determine the effect of *P. viticola* on the variables of the photosynthesis limitations through the estimation of response curves of CO₂ assimilation rate to the increase of intercellular CO₂ concentration.

The effect of *P. viticola* on biomass production and carbohydrates accumulation in potted plants was also evaluated by inoculations with different concentrations of sporangia mL⁻¹ of *P. viticola*. Grapevine production was evaluated in 60 diseased plants and 60 healthy plants in the field. Carbohydrate quantification in all organs of the plants was performed in 5 healthy plants and 5 diseased plants during two years. The photosynthetic rate was the gas exchange variable that was most affected by the downy mildew. The estimated β value for *Plasmopara viticola* in *V. labrusca* was 2.9, showing that downy mildew affects CO₂ assimilation on the apparently healthy plant tissue adjacent to the lesions. Rubisco activity was reduced in infected leaves. *P. viticola* caused the reduction of biomass and carbohydrates accumulation in roots. Diseased plants in the field had lower yields than healthy plants. Downy mildew caused drop of berries and starch reduction in plant roots in the field.

Keywords: Downy mildew; Grapevine; Photosynthesis; Carbohydrates; Yield; Niagara Rosada;

3.1. Introdução

O oomiceto *Plasmopara viticola* é o agente causal do míldio da videira, doença que ocorre em todas as regiões produtoras de uva no mundo. *P. viticola* é originário da América no Norte e foi responsável por grandes prejuízos quando introduzido na Europa em 1875. Quando nenhuma medida de controle é tomada e as condições climáticas são favoráveis, o míldio pode causar até 75% de redução na produção de uvas, dependendo da cultivar (Edwards, 2015). O patógeno penetra pelos estômatos da planta e desenvolve micélio intercelular no mesófilo do hospedeiro. O micélio produz haustórios que são responsáveis pela nutrição do oomiceto. Nesse estágio é possível observar manchas na face adaxial das folhas, comumente chamadas de “mancha óleo”. Esporangióforos emergem pelos estômatos após períodos de alta umidade e baixa luminosidade, formando, em seguida, esporângios. Vento e respingos de chuva dispersam os esporângios, contendo zoósporos, que são responsáveis por novas infecções. Os oósporos são as estruturas sexuais e de resistência de *P. viticola* (Ash, 2000; Gessler et al., 2011). O míldio é a principal da doença da videira europeia (*Vitis vinifera*) e todas as cultivares originadas dessa espécie são suscetíveis a *P. viticola*. Dentre as cultivares de *Vitis labrusca*, os níveis de resistência variam de altamente suscetíveis a resistentes.

Condições de temperaturas amenas (20 °C) e alta umidade relativa favorecem o desenvolvimento do míldio da videira. Quando essas condições ocorrem no período noturno o patógeno necessita de apenas 4 horas para a esporulação (Lalancette et al., 1987; 1988). Devido à ausência de resistência nas cultivares de uva e das condições de favorabilidade ao patógeno ocorrerem nas principais regiões produtoras, o controle do míldio é realizado basicamente pela aplicação de fungicidas. Os fungicidas cúpricos, as estrobilurinas (azoxistrobina), os ditiocarbamatos (mancozebe) e as acilalaninas (metalaxil) são os principais grupos de fungicidas utilizados no controle do míldio (Wong & Wilcox, 2001). Na região Sul do Brasil o número de aplicações para o controle do míldio da videira chega a 60 por ciclo da cultura (Chavarria et al., 2009).

A fisiologia e o crescimento de culturas são afetados por fatores abióticos e bióticos, como déficit hídricos, excesso de chuvas, pragas e doenças. Essas interferências reduzem a qualidade e quantidade da produção final da cultura (Rabbinge & de Wit, 1989). Em *V. vinifera*, *P. viticola* reduz a atividade fotossintética das folhas. Nessa espécie, além da influência da área necrosada na redução da interceptação da radiação, o míldio também reduz a taxa fotossintética nos tecidos adjacentes à lesão (Moriondo et al., 2005). *P. viticola* também atua na regulação da abertura estomática de plantas doentes devido ao mecanismo de esporulação do oomiceto via estômato. Porém, esse efeito de indução da abertura estomática em *V. vinifera* é observado somente à noite (Allègre et al., 2007). O efeito do míldio nas folhas e videiras europeias é responsável por danos indiretos na produção, devido à redução da produção de carboidratos, que afeta a qualidade dos frutos (Jermimi et al., 2010). Além dos danos indiretos, o míldio da videira também afeta diretamente a produção, devido às infecções nos cachos. As infecções no cacho ocorrem desde a floração até o amadurecimento e causam paralisação do crescimento e queda das bagas. Quando a infecção ocorre em bagas

mais desenvolvidas, os frutos se tornam negros e apresentam lesões deprimidas, o que deprecia as uvas (Amorim et al., 2016).

O cultivo da videira no Estado de São Paulo vem crescendo de forma expressiva nos últimos anos e a cultivar predominante nessas áreas é a cv. Niagara Rosada (*V. labrusca*), suscetível ao míldio. O manejo dessa cultivar no Estado de São Paulo é feito em diferentes sistemas de condução e épocas de poda. Quando a poda é realizada em janeiro, visando a produção na entressafra, os custos com o controle do míldio aumentam significativamente (Cappello, 2014). Nessa época, a frequência de aplicações de fungicidas é elevada, pois a brotação (fase de alta suscetibilidade) coincide com períodos chuvosos.

Apesar de o míldio ser um dos maiores problemas na produção da cv. Niagara Rosada no Brasil, não existem estudos que avaliem os danos quantitativos dessa doença. Estudos sobre os mecanismos de dano de *P. euvitis* na fisiologia de videiras americanas também são escassos. Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram: (i) quantificar os efeitos do míldio da videira nas trocas gasosas de folhas de cv. Niagara Rosada; (ii) avaliar as limitações difusivas, fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese através de medições de trocas gasosas combinadas com medidas de fluorescência de clorofila (Farquhar et al., 1980; Sharkey et al., 2007); (iii) avaliar a produção de biomassa e o acúmulo de carboidratos em plantas mantidas em condições controladas e no campo.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Material vegetal

Mudas de cv. Niagara Rosada (*Vitis labrusca*) enxertadas sobre o porta enxerto IAC-766 foram utilizadas em todos os experimentos em condições controladas. As mudas foram cultivadas em vasos de 7 litros contendo substrato estéril (argila, esterco e areia na proporção 1:1:1), mantidas em casa de vegetação com temperatura média de 25 °C e conduzidas em

haste única. Cada muda foi mensalmente adubada com 20 g de 4N + 14P + 8K e irrigadas diariamente com 200 ml de água. As plantas foram conduzidas em haste única.

3.2.2. Inóculo e inoculação de *Plasmopara viticola*

Folhas com sintomas de míldio foram coletadas em campo comercial de cv. Niagara Rosada e levadas ao laboratório. As lesões foram lavadas e as folhas foram mantidas por 12 horas em escuro e câmara úmida para indução da esporulação de *P. viticola*. Logo após, as lesões esporulantes foram lavadas com água a 4 °C (Lalancette et al., 1987) e uma suspensão de esporângios na concentração de 10^4 esporângios mL⁻¹ foi obtida com o auxílio de câmara de Neubauer. Mudanças com um mês após a brotação foram inoculadas com essa suspensão e mantidas em câmara úmida, no escuro e com temperatura de 25 °C por 24 horas. Plantas utilizadas como testemunha foram pulverizadas com água e mantidas nas mesmas condições. A manutenção do inóculo foi realizada por sucessivas inoculações em novas mudas sadias a cada 2 meses.

3.2.3. Relações entre a severidade do míldio da videira e trocas gasosas e estimativa da lesão virtual

Dois experimentos foram conduzidos em câmara de crescimento (Convicon, Winnipeg, Canadá) para determinar o efeito do míldio nas trocas gasosas de folhas de videira. As condições na câmara de crescimento eram temperatura de 25 °C (± 2 °C) e fotoperíodo de 12 horas (PAR 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Três tratamentos foram utilizados nos dois experimentos, que corresponderam às inoculações com 0, 10^3 e 10^5 esporângios mL⁻¹ de *P. viticola*. A quinta folha a partir da base das plantas (totalmente expandidas) foram utilizadas nas avaliações de trocas gasosas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 10 repetições. As avaliações foram realizadas duas vezes por semana sempre na mesma

região marcada de cada folha. A taxa fotossintética líquida (A), a condutância estomática (g_s), a concentração intercelular de CO_2 (C_i) e a transpiração (E) foram estimadas em folhas doentes e saudáveis, utilizando um analisador portátil de gases por infravermelho (Li-6400 XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA). Previamente a cada avaliação, o fluxímetro do Li-6400 XT foi checado e o CO_2 e vapor d'água retirados do ar circulante no aparelho, com auxílio dos químicos soda calcária e drierite, para calibração e averiguação do funcionamento do sistema. A pressão parcial de CO_2 no ar (C_a) durante as medidas foi $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e as trocas gasosas foram avaliadas sob densidade de fluxo de fótons fotossintéticos (PPFD) de $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As áreas das folhas marcadas para as avaliações de trocas gasosas foram fotografadas e as imagens digitais foram processadas com o software Quant (Vale et al., 2001) para estimar a severidade do míldio em cada avaliação.

A avaliação das trocas gasosas foi realizada, adicionalmente, em 30 plantas saudáveis e 30 plantas doentes estabelecidas na ESALQ/USP (para descrição do experimento ver tópico acúmulo de carboidratos na cv. Niagara Rosada no campo e Apêndice). As medidas foram realizadas após a floração no ano de 2015 em dias ensolarados e entre 9 e 11 horas da manhã. As configurações utilizadas no Li 6400 XT foram as mesmas utilizadas nos experimentos em condições controladas.

As severidades da doença nas áreas de avaliação de trocas gasosas foram relacionadas com a taxa fotossintética líquida de acordo com o modelo:

$$P_x/P_0 = (1-x)^\beta \quad (\text{eq.1})$$

Onde P_x é taxa fotossintética líquida na folha com severidade x e P_0 é a média da fotossíntese líquida nas folhas saudáveis. O valor de β corresponde ao efeito da doença na área verde adjacente às lesões. Valores estimados de β maiores do que 1 indicam que a fotossíntese nos tecidos foliares próximos às lesões é nula. Esse efeito é denominado de lesão

virtual (Bastiaans, 1991). Os dados de trocas gasosas dos experimentos descritos no item anterior foram utilizados para a estimativa do β .

3.2.4. Limitações fotossintéticas em folhas infectadas por *Plasmopara viticola*

Três plantas foram inoculadas com *Plasmopara viticola* na concentração de 10^4 esporângios mL^{-1} e três plantas foram pulverizadas com água. Foram realizadas seis medidas para determinação das curvas A/Ci: 2 aos 14 dias, 2 aos 15 dias e 2 aos 16 dias após a inoculação em folhas doentes e sadias, utilizando um Li-6400 acoplado com um fluorômetro (6400-40, LI-COR, Inc., Lincoln NE, USA). O experimento foi repetido uma vez. A partir de curvas de resposta da fotossíntese ao aumento da concentração intercelular de CO_2 (C_i), algumas variáveis fotossintéticas foram estimadas. As medidas de fotossíntese foram iniciadas com Ca de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ que foi gradativamente reduzida até $50 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e então aumentada gradualmente até $2000 \mu\text{mol mol}^{-1}$. A respiração na luz (R_d) foi obtida por regressões lineares utilizando os pontos iniciais da inclinação da curva A/Ci e corresponde ao ponto de interceptação no eixo x das curvas.

A condutância do mesofilo (g_m) foi obtida pela seguinte equação:

$$g_m = A / (C_i - (\Gamma^* (J + 8(A + R_d))) / (J - 4(A + R_d))) \quad (\text{eq.2})$$

Onde Γ^* é o ponto de compensação fotossintética e J é o transporte de elétrons obtido via medidas de fluorescência de clorofila. A concentração de CO_2 no sítio de carboxilação (C_c) foi obtida pela seguinte equação:

$$C_c = C_i - A / g_m \quad (\text{eq.3})$$

As curvas A/Ci foram refeitas substituindo o C_i por C_c e foram calculados a taxa máxima de carboxilação ($V_{c_{\max}}$) e a taxa máxima de transporte de elétrons (J_{\max}) que contribuem para a regeneração da ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP) (Farquhar et al., 1980; Flexas et al., 2008). O transporte aparente de elétrons (J) na máxima concentração de C_i e o

dreno alternativo de elétrons (AES) foi calculado pela relação entre a eficiência quântica (Φ_{PS2}) do fotossistema 2 (PSII) e a eficiência quântica do PSII na fixação do CO_2 (Φ_{CO_2}).

A partir das curvas A/C_c também foram obtidos as variáveis A_{max} e g_{smax} que correspondem ao valor máximo de assimilação de CO_2 e condutância estomática máxima, respectivamente, obtidas em cada curva. A limitação estomática (L_s) foi obtida pela relação dos valores de A na C_a de $400 \mu mol mol^{-1}$ e A em C_i de $400 \mu mol mol^{-1}$.

3.2.5. Acúmulo de carboidratos e biomassa em plantas com míldio em casa de vegetação

Dois experimentos foram conduzidos para quantificar o efeito do míldio no acúmulo de biomassa e carboidratos na videira cv. Niagara Rosada. Foram utilizados 5 tratamentos, que corresponderam a 5 níveis de concentração de inóculo aplicadas no momento da inoculação: 0, 10^2 , 10^3 , 10^4 e 10^5 esporângios mL^{-1} , em mudas com um mês após a brotação (7 folhas). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco repetições. As mudas foram mantidas em casa de vegetação ($25 \pm 4 \text{ }^\circ C$) até 45 dias após a inoculação. Ao final dos experimentos foram estimadas a severidade do míldio e a área foliar de cada muda (LI-2000 - LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA). O tronco, o ramo e as raízes de cada muda foram coletados e secos em estufa com circulação forçada de ar ($65 \text{ }^\circ C$) até atingirem massa seca constante. Foram determinados o teor e a massa de carboidratos nos três órgãos. A extração dos carboidratos foi realizada com solução de metanol:clorofórmio:água (MCW), segundo Bialeski e Turner (1966). Os teores de sacarose, de amido e de açúcares solúveis totais foram determinados de acordo com van Handel (1968), Amaral et al. (2007) e Dubois et al., (1956), respectivamente.

3.2.6. Acúmulo de carboidratos e avaliação do dano causado pelo míldio da videira na cv. Niagara Rosada no campo

O efeito de *P. viticola* no acúmulo de carboidratos e na produção de videiras no campo foi determinado, em 2014 e 2015, em plantas de cv. Niagara Rosada enxertadas sobre IAC-766 em pomar experimental na ESALQ/USP. O plantio foi realizado em 2011 e as plantas conduzidas em sistema de espaldeira com espaçamento de 2 m entre linhas e 1 m entre plantas. As plantas foram adubadas três vezes na estação de cultivo de acordo com análises de solo e recomendações para cultura (Bueno, 2010). Foram selecionadas 60 plantas que receberam pulverizações de fungicidas uma vez por semana com um dos seguintes produtos em alternância: estrobilurinas, ditiocarbamatos + acilalaninas e triazóis para controlar as doenças fúngicas da parte aérea da videira. Outras 60 plantas foram selecionadas e foi realizado o manejo exclusivamente com triazóis para que apenas o míldio se estabelecesse. A avaliação da severidade do míldio foi realizada com auxílio de uma escala diagramática (Camargo, não publicado) semanalmente em um ramo marcado em cada uma dessas 60 plantas a partir do aparecimento de sintomas. Durante a colheita, em 2014 e 2015, foram pesados todos os cachos colhidos das plantas selecionadas, obtendo-se a massa de uva por planta (kg/planta) e a massa do cacho (kg total por planta/nº de cachos). O número de bagas e a de queda de bagas (determinada pela contagem do número de pedicelos que não apresentavam bagas) foram determinados em um cacho de cada ramo marcado das 120 plantas selecionadas. Ao final da queda das folhas foi realizada amostragem destrutiva de cinco plantas saudáveis e cinco plantas doentes. O tronco, os ramos e as raízes de cada planta foram coletados e secos em estufa com circulação forçada de ar (65 °C) até atingirem massa seca constante. Raízes com mais de 1 cm de diâmetro foram consideradas raízes grossas e as demais consideradas raízes finas. Foi determinado o teor de carboidratos em todos os ramos, troncos e raízes conforme descrito no item anterior.

3.2.7. Análise estatística

As áreas abaixo das curvas das variáveis de trocas gasosas foram estimadas para cada tratamento por integração trapezoidal. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o software STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores de lesão virtual (β) foram estimados por regressões não-lineares, de acordo com o modelo de Bastiaans (1991). Regressões não-lineares também foram utilizadas para determinar os parâmetros das limitações da fotossíntese, e o software STATISTICA 6.0 foi utilizado em todas as análises de regressão não-linear. Médias das variáveis das limitações fotossintéticas de plantas sadias e doentes foram comparadas pelo teste t de Student ($p \leq 0,05$). As médias dos teores de carboidratos em plantas doentes e sadias cultivadas em condições controladas e no campo foram comparadas pelo teste t de Student ($p \leq 0,05$).

3.3. Resultados

3.3.1. Relações entre a severidade do míldio da videira e trocas gasosas e estimativa da lesão virtual

Em ambos os experimentos o período de latência de *P. viticola* foi de oito dias. A severidade da doença nas áreas de medidas de trocas gasosas variou de 0-95%, 0-35% e 0-97%, respectivamente nos experimentos 1, 2 e no experimento de campo. (Fig. 1a,b, Fig. 2).

O valor médio de A nas plantas sadias foi de $13 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em ambos os experimentos de avaliação de trocas gasosas. Os valores A nas plantas inoculadas foram menores do que os valores observados em plantas sadias (Fig. 1 c,d). No entanto, apenas em plantas inoculadas com a maior concentração de inóculo, os valores médios da área abaixo da curva da taxa líquida de assimilação de CO_2 diferiram das plantas sadias (Tabela 1).

Não foram observadas diferenças entre os valores calculados pela integração trapezoidal das variáveis g_s , C_i e E nas plantas sadias e com sintomas de míldio (Fig. 1e-j, Tabela 1). Foram observados valores médios de $0,2 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, $200 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ e $2 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente para g_s , C_i e E em todos os tratamentos (Fig. 1e-j).

Valores nulos de fotossíntese relativa foram observados apenas em severidades superiores a 80%. O valor da lesão virtual do míldio da videira, obtido pela estimativa do parâmetro β do modelo de Bastiaans, foi de 2,9 (Fig. 2).

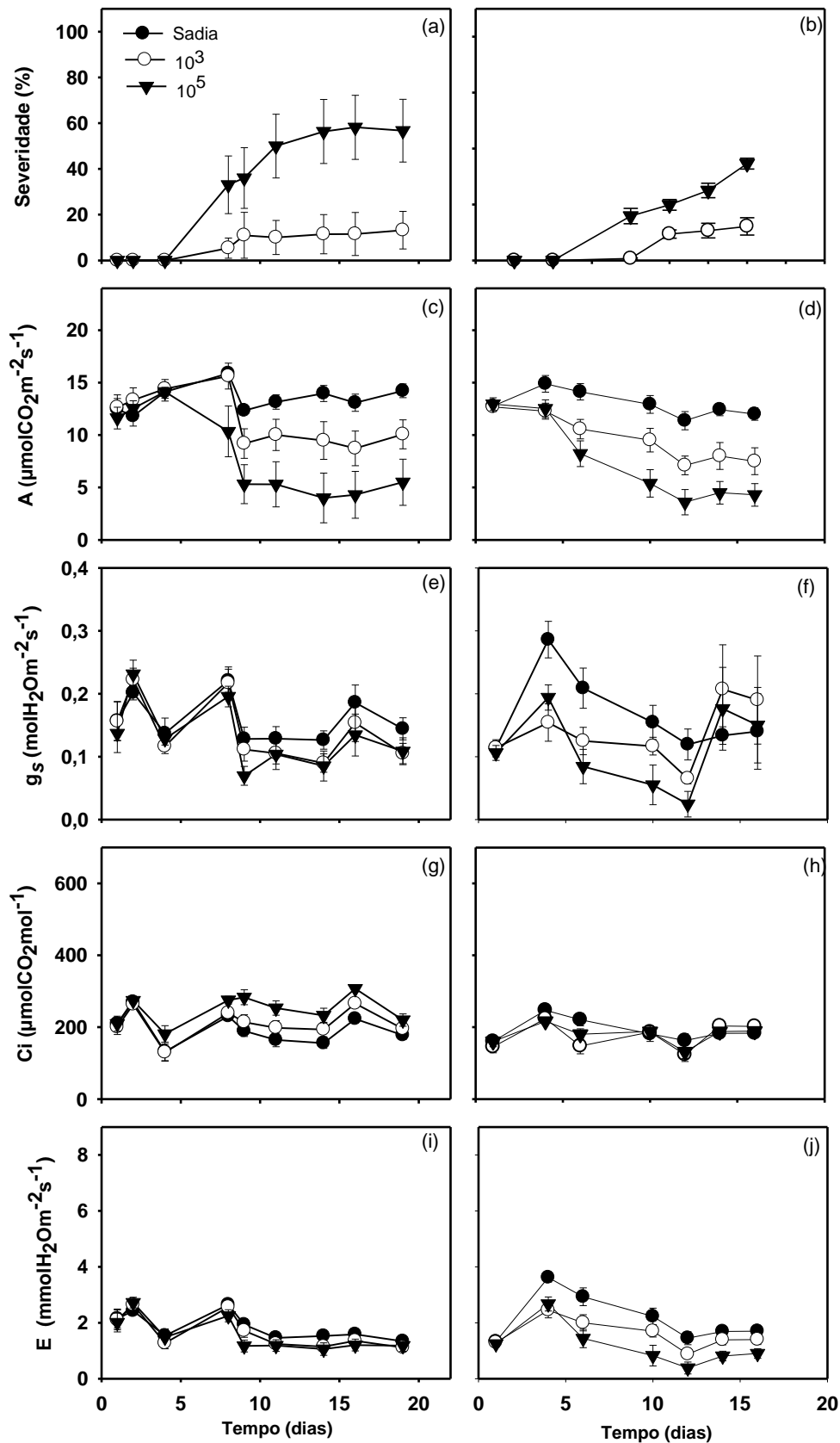


Figura 1 - Severidade do míldio (%), taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO_2 (C_i) e taxa de transpiração nos experimentos 1 (a, c, e, g, i) e 2 (b, d, f, h, j) em folhas de videira cv. Niagara Rosada inoculadas com diferentes concentrações de inóculo de *Plasmopara viticola*. As barras de erro correspondem ao erro padrão da média (n=10). A inoculação do patógeno foi realizada no dia 1 nos dois experimentos.

Tabela 1 - Valores da área abaixo das curvas da taxa líquida de assimilação de CO₂ (AUCA), da condutância estomática (AUCg_s), da concentração intercelular de CO₂ (AUCCI) e da taxa de transpiração (AUCE) em videiras cv. Niagara Rosada sadias e inoculadas com 10³ e 10⁵ esporângios mL⁻¹ de *Plasmopara viticola* nos dois experimentos.

Tratamento	Experimento 1				Experimento 2											
	AUCA	AUCg _s	AUCCI	AUCE	AUCA	AUCg _s	AUCCI	AUCE								
Sadia	245,7	a	2,85	a	3505,7	a	32,2	a	165,5	a	2,06	a	2355	a	28,5	a
10 ³	208,1	ab	2,36	a	3739,5	a	28,8	a	134,1	ab	1,61	a	2223	a	22,3	a
10 ⁵	133,3	b	2,49	a	4066,33	a	27,3	a	103,9	b	1,32	a	2355	a	16,4	a

Valores seguidos pela mesma letra na coluna não são significativamente diferentes pelo teste de Tukey (P≤0,05).

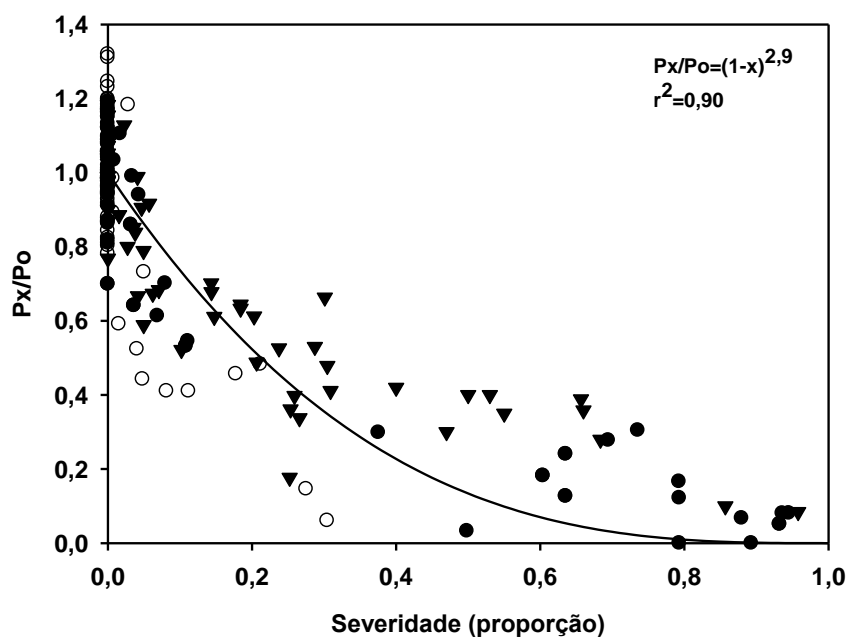


Figura 2 - Relações entre a taxa relativa de fotossíntese líquida (Px/Po) e a severidade do míldio (*Plasmopara viticola*) na videira cv. Niagara Rosada. Os círculos pretos representam dados do primeiro experimento, círculos brancos representam dados do segundo experimento e os triângulos representam os dados obtidos do campo (n total = 175). Linha representa o modelo $y = (1-x)^{\beta}$.

3.3.2. Limitações fotossintéticas em folhas infectadas por *Plasmopara viticola*

Plantas infectadas com *Plasmopara viticola* apresentaram menor capacidade fotossintética do que as plantas sadias (Fig. 3, Tabela 2). Plantas doentes apresentaram menores valores de V_{cmax} e A_{max} e não foram observadas diferenças em nenhuma outra variável das limitações fotossintéticas (Tabela 2).

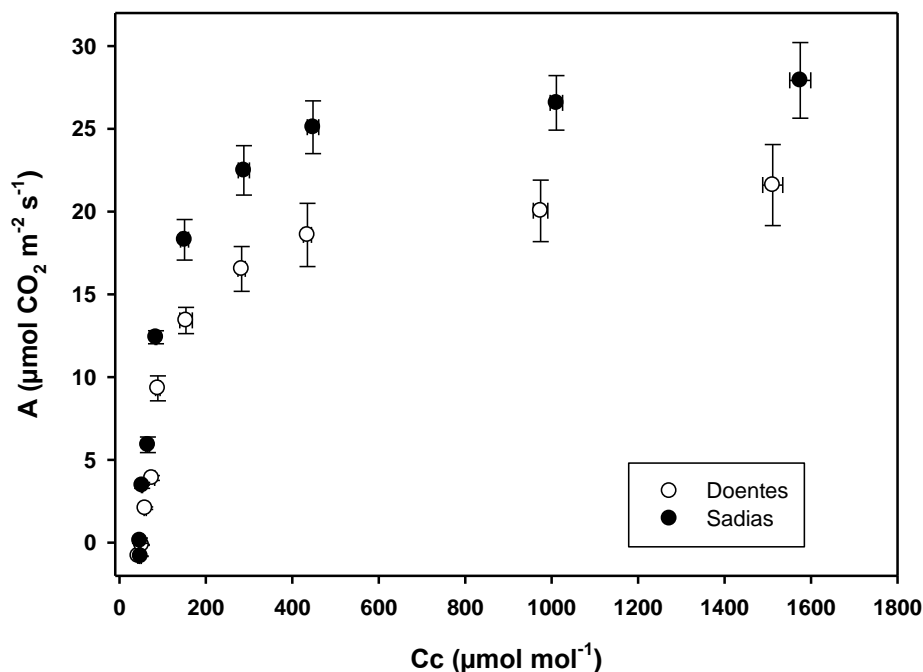


Figura 3 - Resposta da taxa de assimilação líquida de CO₂ (A) à concentração CO₂ dentro do cloroplasto (curva A/Cc). Os círculos brancos representam dados de folhas da videira cv. Niagara Rosada infectadas por *Plasmopara viticola* e os círculos pretos representam os dados de folhas saudáveis. As barras de erro correspondem ao erro padrão médio de A e de Cc.

Tabela 2 - Atividade da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (V_{cmax}), taxa máxima de transporte de elétrons que contribuem para a regeneração de ribulose-1,5-bisfosfato (J_{max}), condutância do mesófilo (g_m), condutância estomática máxima (g_{smax}), limitação difusiva estomática (L_s), taxa máxima de fotossíntese líquida (A_{max}) e taxa aparente de transporte de elétrons (J) e dreno alternativo de elétrons (AES) estimados em videiras cv. Niagara Rosada saudáveis e com sintomas de míldio (*Plasmopara viticola*).

Variável (unidade)	Plantas Saudias		Plantas doentes ¹	
V_{cmax} (µmol m ⁻² s ⁻¹)	179,4	a	137,2	b
J_{max} (µmol m ⁻² s ⁻¹)	154,7	a	145,7	a
g_m (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	0,10	a	0,16	a
g_{smax} (mol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	0,33	a	0,27	a
L_s (%)	13,3	a	11,9	a
A_{max} (µmol m ⁻² s ⁻¹)	25,0	a	19,4	b
J (µmol m ⁻² s ⁻¹)	139	a	129,1	a
AES	9,3	a	11,1	a

¹ A severidade média (\pm desvio padrão) do míldio nas plantas doentes foi de 8,6 % ($\pm 2,4$).

3.3.3. Acúmulo de carboidratos e biomassa em plantas com míldio em casa de vegetação

As severidades máximas de míldio observadas em plantas inoculadas nos experimentos 1 e 2 foram de 16% e 50%, respectivamente. Não foram observadas correlações entre a severidade da doença e as variáveis: área foliar, massa seca de ramos e massa seca de

troncos (Fig. 5 a,c,d). No entanto foi observada correlação negativa entre a severidade da doença e a massa seca de raízes (Fig. 5b).

Os teores de açúcares solúveis totais, sacarose e amido reduziram em função da severidade do míldio de acordo com o modelo exponencial negativo (Fig. 6). Os teores médio, mínimo e máximo de açúcares solúveis totais nas raízes foram de 50, 81 e 15 mg g⁻¹, respectivamente nas plantas sadias e de 40, 51 e 13 mg g⁻¹ nas plantas doentes. Para a sacarose os teores médio, mínimo e máximo em plantas sadias foram 42, 50, 36 mg g⁻¹, respectivamente e de 25, 41 e 8 mg g⁻¹ em plantas doentes. Os teores médio, mínimo e máximo de amido nas raízes foram de 194, 310 e 88 mg g⁻¹, respectivamente nas plantas sadias e de 134, 290 e 6 mg g⁻¹ nas plantas doentes.

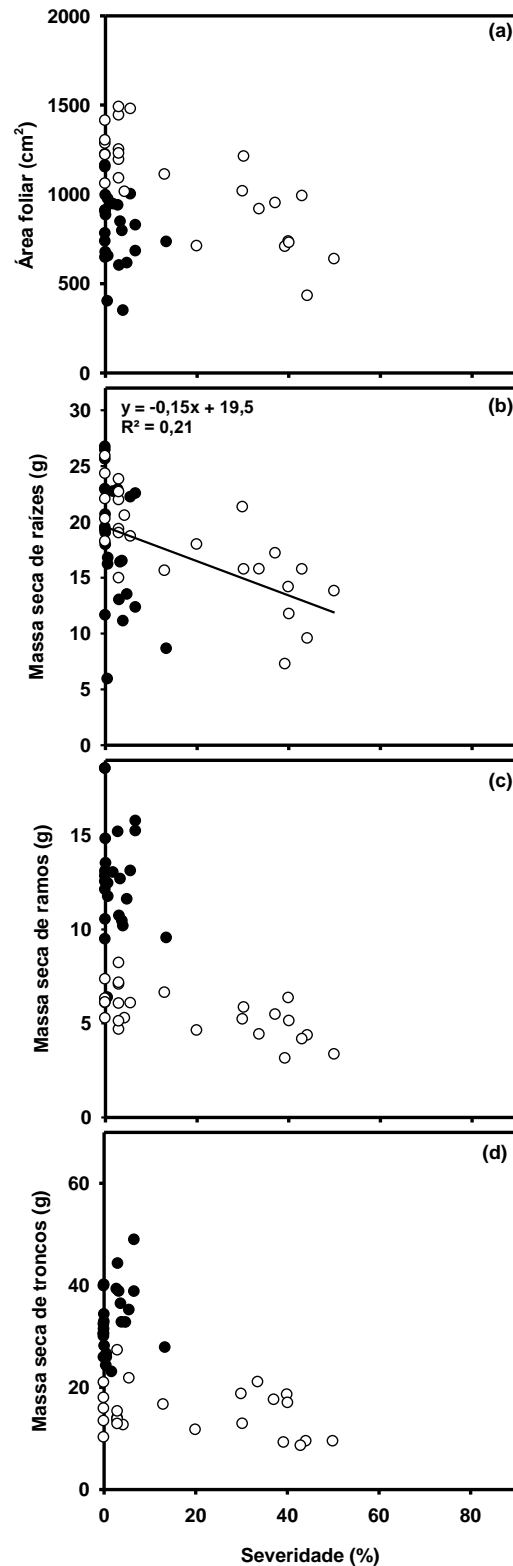


Figura 6 - Relações entre a área foliar (a), massa seca de raízes (b), massa seca de ramos (c) e massa seca de troncos (d) de mudas de videira cv. Niagara Rosada sobre porta enxerto IAC-766 e a severidade do míldio (*Plasmopara viticola*). Os círculos pretos representam dados do primeiro experimento e os círculos brancos representam dados do segundo experimento. Linha representa a regressão linear ($P \leq 0,05$).

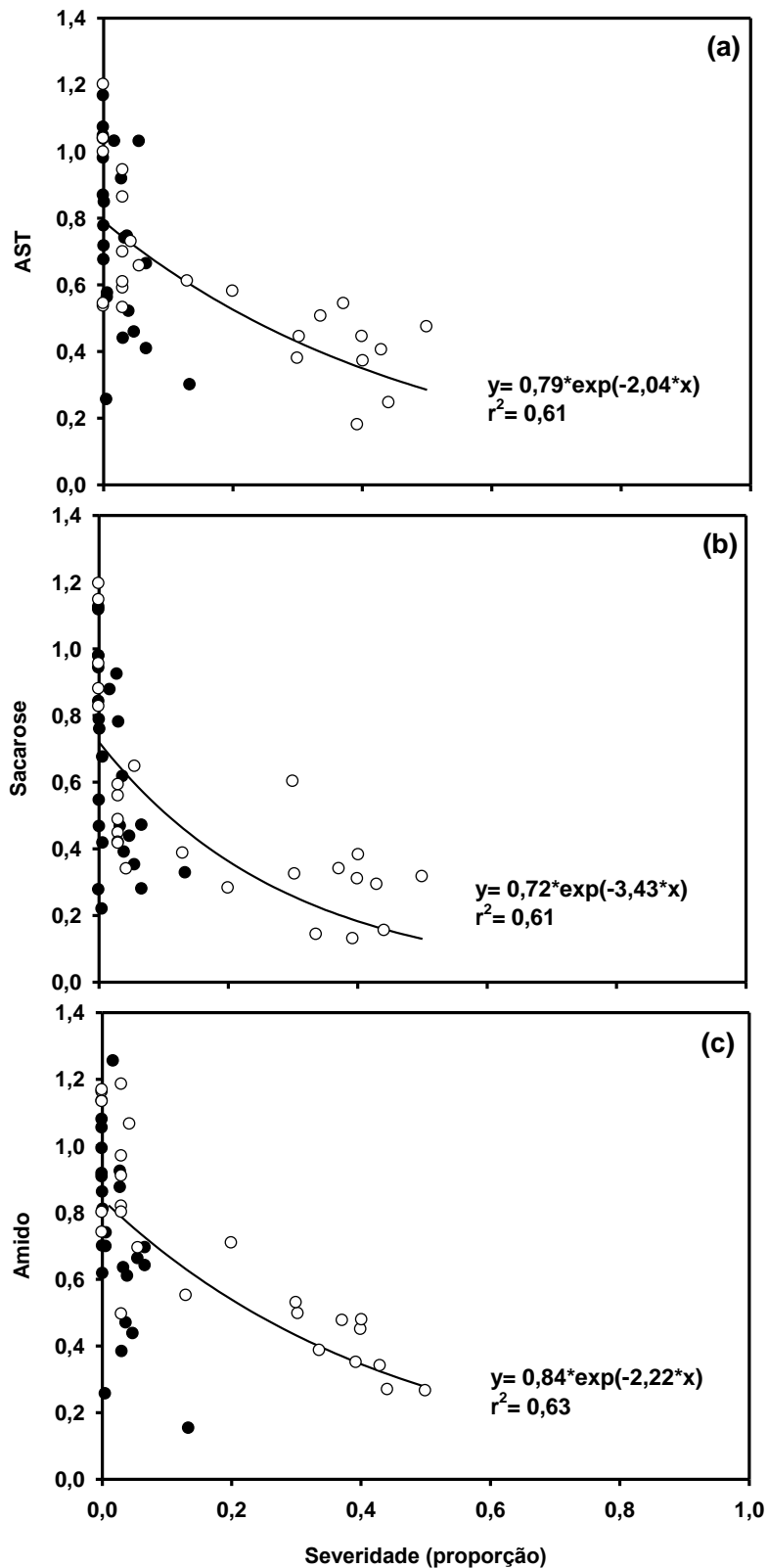


Figura 6 – Variação relativa da quantidade de açúcares solúveis totais (AST), sacarose e amido em raízes de videira cv. Niagara Rosada em função da severidade de *Plasmopara viticola* 45 dias após a inoculação. Dados das variáveis dependentes foram relativizados com os dados médios das plantas sadias. Círculos brancos correspondem a dados do experimento 1 e círculos pretos aos dados do experimento 2. Linhas representam o modelo exponencial negativo.

3.3.4. Acúmulo de carboidratos e avaliação do dano causado pelo míldio da videira na cv. Niagara Rosada no campo

Na safra de 2014 a doença apresentou baixa severidade nas plantas da parcela destinada a ocorrência do míldio. A severidade máxima observada foi de 2%. Não houve diferença entre a produção de plantas das parcelas doente e sadia. As 120 plantas selecionadas apresentaram produção média de 2 kg planta⁻¹. Não houve diferença entre os teores de carboidratos nos diferentes órgãos das plantas (dados não apresentados).

Na safra de 2015 foram observados valores de 50% de severidade do míldio nas plantas da parcela doente. Houve diferença entre a produção de plantas sadias e doentes ($P \leq 0,01$). As plantas sadias produziram em média 1,6 kg e a plantas doentes produziram em média 0,5 kg a menos do que as plantas sem sintomas. Os teores de açúcares solúveis totais nos troncos e raízes grossas e de amido nas raízes finas e grossas de plantas doentes foram menores do que em plantas sadias. Não houve diferença entre os teores de sacarose de plantas doentes e sadias (Tabela 3).

Tabela 3 - Teores de açúcares solúveis totais (AST), sacarose e amido nos ramos, troncos raízes finas e raízes grossas de plantas de cv. Niagara Rosada, conduzidas em espaldeira e apresentando 4 anos de idade na safra de 2015.

Órgão	Carboidratos					
	AST (mg g ⁻¹)		Sacarose (mg g ⁻¹)		Amido (mg g ⁻¹)	
	Sadias	Doentes ¹	Sadias	Doentes ¹	Sadias	Doentes ¹
Ramos	33,4 a	30,5 a	25,3 a	22,4 a	66,7 a	79,6 a
Troncos	42,1 a	35,7 b	26,9 a	26,1 a	80,2 a	74,4 a
Raízes Finas	36,3 a	35,1 a	52,0 a	62,1 a	152,5 a	96,4 b
Raízes Grossas	44,9 a	32,9 b	48,0 a	48,3 a	134,9 a	108,0 b

Valores seguidos pela mesma letra na linha, para cada carboidrato, não são significativamente diferentes pelo teste t de Student ($P \leq 0,05$). ¹ A severidade média (\pm desvio padrão) do míldio nas plantas doentes foi de 40% ($\pm 6,4$).

Não houve diferença entre o número de cachos por ramo nas plantas sadias e doentes e o número máximo observado foi de 2 cachos (dados não apresentados). Houve diferença significativa ($P \leq 0,01$) no peso médio dos cachos de plantas sadias (180 g) e doentes (100g).

Os cachos das plantas doentes apresentaram 40% de queda de bagas em média. A queda de bagas não foi observada em plantas sadias.

3.4. Discussão

Plasmopara viticola reduziu a taxa fotossintética, o acúmulo de biomassa, a produção de frutos e o acúmulo de carboidratos em *Vitis labrusca*. Nesse trabalho as alterações provocadas pelo míldio na videira americana foram similares às reportadas em cultivares de *V. vinifera*, altamente suscetíveis à doença. Dentre as variáveis das trocas gasosas a taxa fotossintética de folhas foi a mais afetada e não foram observadas alterações na g_s , na C_i e na E . *P. viticola* também não altera a C_i e a E em folhas infectadas de cv. Sangiovese (*V. vinifera*) em condições de campo (Moriondo et al., 2005). A condutância estomática de plantas de *V. vinifera* pode ser aumentada apenas no período noturno devido ao mecanismo de esporulação do oomiceto, que se dá via estômatos (Allègre et al., 2007).

O valor de β estimado para *Plasmopara viticola* em *V. labrusca* foi de 2,9, mostrando que o míldio da videira afeta a assimilação de CO_2 no tecido aparentemente sadio adjacente às lesões. Em *V. vinifera* foi estimado um valor de lesão virtual de 2,7 (Moriondo et al., 2005), similar ao encontrado no presente trabalho. Baixos valores de lesões virtuais são comumente observados para patógenos biotróficos, que possuem mecanismos de colonização com estruturas de nutrição especializadas como os haustórios. A maioria das ferrugens (Bastiaans, 1991; Bassanezi et al., 2002; Lopes & Berger, 2001; Spitters et al., 1990; Shtienberg, 1992), alguns míldios (Chou et al., 2000; Moriondo et al., 2005) e oídios (Hajji et al., 2009) também causam pequenas reduções na taxa fotossintética de regiões adjacentes às lesões. A redução da fotossíntese em áreas próximas às lesões do míldio da videira em *V. vinifera* é devido à redução no conteúdo de clorofila e da eficiência máxima do fotossistema 2 (Moriondo et al., 2005). A redução da expressão de genes codificadores da síntese de clorofila e da Rubisco

também foi observada na interação *P. viticola* - *V. vinifera* (Gamm et al, 2011). No presente trabalho ocorreu apenas redução na variável $V_{\text{cmáx}}$. Redução dessa variável corresponde à limitação bioquímica devido a redução da atividade da Rubisco ($V_{\text{cmáx}}$). Variáveis relacionadas às limitações fotoquímicas e difusivas da fotossíntese não foram alteradas pela colonização de *P. viticola* em folhas de *V. labrusca*.

P. viticola reduziu a biomassa e o acúmulo de carboidratos em raízes da cv. Niagara Rosada. Esse patógeno também altera a translocação de fotoassimilados e as relações fonte-dreno em videiras europeias. Folhas de *V. vinifera* infectadas com *P. viticola* apresentam acúmulo de amido nas regiões ao redor das lesões. Isso se deve ao fato do patógeno causar o aumento de invertases nas folhas, aumento do acúmulo de hexoses e regulação negativa de genes relacionados à fotossíntese, transformando a lesão em um dreno de fotoassimilados (Brem et al., 1986; Gamm et al., 2011). Esse conjunto de interferências leva à alterações na produção e partição de assimilados, reduzindo a biomassa de órgãos da planta (Chou et al., 2010).

A incidência de *P. viticola* nos cachos no início de sua formação causou a queda de bagas, reduzindo o peso dos cachos e depreciando a qualidade da produção. O efeito da severidade nas folhas reduziu a quantidade de amido em raízes. O amido acumulado durante a estação de cultivo é utilizado nos estádios iniciais de crescimento durante a estação seguinte, sendo responsável pelo crescimento inicial de ramos e brotos (Keller, 2010). Em alguns patossistemas de plantas perenes e patógenos biotróficos, como cafeeiro-*Hemileia vastatrix* (Avelino et al., 2015), a redução de reservas em raízes devido a severidade da doença em folhas durante anos consecutivos leva a ocorrência de dano secundário. Esse dano secundário debilita a planta com o passar dos anos consecutivos de cultivo levando a reduções na produção. A infecção de *Plasmopara viticola* na cv. Niagara Rosada ocasionou tanto dano o direto como o dano indireto ou secundário. A infecção direta nos cachos e consequente queda

dos frutos ocasionou o dano direto na produção do ano. A redução dos teores de amido em raízes de plantas com elevados valores de severidades do míldio em folhas pode comprometer safras seguintes, caracterizando o dano indireto ou secundário.

3.5. Conclusões

P. viticola reduz a taxa fotossintética na região das lesões e nas regiões assintomáticas adjacentes às lesões. A principal causa da redução da fotossíntese em folhas de *Vitis labrusca* infectadas com *P. viticola* é a redução na atividade da Rubisco. Plantas doentes, em condições controladas, apresentaram menor quantidade de carboidratos nas raízes e o míldio reduziu a biomassa de raízes em plantas inoculadas. Entretanto, na faixa de severidade obtida no presente trabalho, não se observou redução na área foliar de mudas de cv. Niagara Rosada inoculadas com *P. viticola*.

A principal causa da redução da produção no campo, durante o período avaliado, foi a queda de bagas causada pela infecção do míldio nos cachos. Porém, plantas com valores de 40% de severidade do míldio em folhas também apresentam reduções na quantidade de amido armazenada em raízes.

Referências

- Allègre M, Daire X, Héloir MC, Trouvelot S, Mercier L, Adrian M, Pugin A. 2007. Stomatal deregulation in *Plasmopara viticola* – infected grape leaves. *New Phytologist* 173: 832-840.
- Amaral LIV, Gaspar M, Costa PMF, Aidar MPM, Buckeridge MS. 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34: 425–431.
- Amorim L, Spósito MB, Kuniyuki H. 2016 Doenças da Videira. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (eds). *Manual de Fitopatologia volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas*. Editora Ceres.
- Ash, G. 2000. Downy mildew of grape. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1112-01, 2000 Updated 2005. Disponível em: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Oomycetes/Pages/DownyMildewGrape.aspx>. Acesso: 30 de Agosto de 2013.
- Avelino J, Cristancho M, Georgiou S, Imbach P, Aguilar L, Bornemann G, Läderach P, Anzueto F, Hruska AJ, Morales C. 2015. The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008-2013): impacts, plausible causes and proposed solutions. *Food Security* 7: 303-321.
- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamin Filho A, Berger RD. 2002. Gas exchange and emission 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* 150: 37–47.
- Bastiaans L. 1991. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due leaf blast. *Phytopathology* 81: 611-615.

- Bieleski RL, Turner A. 1966. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoresis and chromatography. *Anal. Biochem*: 17, 278–293.
- Brem S, Rast DM, Ruffner HP. 1986. Partitioning of photosynthate in leaves *Vitis vinifera* infected with *Uncinula necator* or *Plasmopara viticola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 29: 185-191.
- Bueno SCS. 2010. *Vinhedo Paulista*. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral – CATI.
- Cappello FP. 2014. *Análise comparativa do custo de produção e rentabilidade da uva 'Niágara Rosada' cultivada em diferentes regiões do Estado de São Paulo*. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- Chavarria G, Santos HP, Fin E, Sônego OR, Garrido LR, Marodin, GAB. 2009. Dispersão anemófila de esporangiósporos de *Plasmopara viticola* em cultivos protegido e convencional de videira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 31: 710-717.
- Chou HM, Bundock N, Rolfe SA, Scholes JD. 2000. Infection of *Arabidopsis thaliana* leaves with *Albugo candida* (white blister rust) causes a reprogramming of host metabolism. *Molecular Plant Pathology* 1: 99-113.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350–356.
- Edwards J. 2015. Grapevine leaf rust. In: Wilcox WF,, Gubler WD, Uyemoto JK, eds. *Compendium of grape diseases, Disorders and Pests*. Saint Paul, EUA: APS Press: 61–63.
- Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA. 1980. A biochemical model of the photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149: 78-90.
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Dias-Espejo A, Galmés J, Medrano H. 2008. Mesophyll

conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment* 31: 602-621.

Gessler C, Pertot I, Perazzolli M. 2011. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea* 50: 3-44.

Gramm M, Héloir MC, Bligly R, Vaillant-Gaveau N, Trouvelot S, Alcaraz G, Frettinger P., Clément C, Pugin A, Wendehenne D, Adrian M. 2011. Changes in Carbohydrate Metabolism in *Plasmopara viticola*- infected Grapevine leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24: 1061-1073.

Hajji M, Dreyer E, Benoit M. 2009. Impact of *Erysiphe alphitoides* on transpiration and photosynthesis in *Quercus* leaves. *European Journal of Plant Pathology* 125:63-72.

Handel E. 1968. Direct microdetermination of sucrose. *Anal. Biochem.* 22:280–283.

Jermini M, Blaise P, Gessler C. 2010. Quantitative effect of leaf damage caused by downy mildew (*Plasmopara viticola*) on growth and yield quality of grapevine ‘Merlot’ (*Vitis vinifera*). *Vitis* 49: 77–85.

Keller M. 2010. The Science of Grapevine. Anatomy and Physiology. Elsevier, San Diego.

Lalancette N, Ellis MA, Madden, LV. 1987. Estimating infection efficiency of *Plasmopara viticola* on grape. *Plant Disease* 71: 981-983.

Lalancette N, Madden LV, Ellis MA. 1988. A quantitative model for describing the sporulation of *Plasmopara viticola* on grapes leaves. *Phytopathology* 78: 1316-1321

Lopes DB, Berger RD. 2001. The effects of rust and anthracnose on the photosynthetic competence of diseased bean leaves. *Phytopathology* 91: 212–220.

Morindo M, Orlandini S, Giuntoli A, Bindi, M. 2005. The effect of downy and powdery mildew on grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf gas exchange. *Journal of Phytopathology* 153: 350-357.

- Rabbinge R, and de Wit CT. 1989. Systems, models and simulation. in: *Simulation and Systems Management in Crop Protection*. Rabbinge R, Ward SA, and Van Laar, HH. (eds). Pudoc, Wageningen: 3-15.
- Sharkey TD, Bernacchi CJ, Farquhar GD, Singsaas EL. 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment* 30: 1035-1040.
- Shtienberg D. 1992. Effects of foliar diseases on gas exchange processes: A comparative study. *Phytopathology* 82: 760-765.
- Spitters CJT, van Roermund HJW, van Nassau HGMG, Schepers J, Mesdag J. 1990. Genetic variation in partial resistance of leaf rust in winter wheat: disease progress, foliage senescence and yield reduction. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 96: 3-15.
- Vale FXR, Fernandes Filho EIF, Liberato JR. 2001bas. *QUANT – a software for plant disease severity assessment*. In: Proceedings of the 8th International Congress of Plant Pathology. Christchurch, NZ. Pg. 105.
- Wong PF, Wilcox WF. 2001. Comparative physical modes of action of azoxystrobin, mancozeb, and metalaxyl against *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew). *Plant Disease* 85: 649-656.

4. GENECROP-P: MODELO PARA SIMULAÇÃO DO CRESCIMENTO DA VIDEIRA *VITIS LABRUSCA* E DE MECANISMOS DE DANOS CAUSADOS POR PATÓGENOS

Resumo

Esse trabalho apresenta o desenvolvimento de um modelo de crescimento da cultura da videira, denominado Genecrop-P. Os objetivos do trabalho foram desenvolver um modelo simples, para a simulação do crescimento da videira americana *Vitis labrusca* cv. Niagara Rosada ao longo dos anos e incluir os efeitos das doenças sobre a fisiologia e a produção da videira durante anos consecutivos de produção de uvas. O Genecrop-P simula o desenvolvimento da planta através de 4 estádios de desenvolvimento (brotação, floração, maturação dos frutos e queda das folhas). O Genecrop-P simula a produção de biomassa através da fotossíntese utilizando a abordagem de Monteith e a realocação de reservas de raízes e troncos. A biomassa é repartida entre os órgãos da planta (folhas, ramos, frutos, tronco e raízes) através de coeficientes de partição dependentes dos estádios de desenvolvimento da planta. O modelo permite a inclusão de práticas culturais como as podas e a inclusão dos mecanismos de danos de patógenos: redução da área verde fotossinteticamente ativa, redução da eficiência fotossintética, desvio de fotoassimilados para o crescimento do patógeno, aceleração da senescência foliar e consumo de frutos. A avaliação do modelo de crescimento da videira foi realizada através de experimentos de campo, durante dois anos em videira *Vitis labrusca* cv. Niagara Rosada, com 4 anos de idade, em plantio experimental em Piracicaba-SP. A produção de biomassa e os estádios de desenvolvimento foram avaliados em 60 plantas em 2014 e 2015. O Genecrop-P simulou satisfatoriamente os estádios de desenvolvimento e a produção de biomassa de folhas, ramos e troncos. Os valores da produção de frutos e da biomassa de raízes foram superestimados quando comparados com os dados do campo experimental. O modelo de simulação dos danos dos patógenos, ao longo de sucessivos ciclos da cultura, ainda não foi testado e validado.

Palavras-chave; Modelagem; Genecrop; Niagara Rosada; Míldio; Ferrugem

Abstract

This work presents the development of a crop growth simulation modeling for grapevine (Genecrop-P). The objectives of the work were to develop a simple model for the simulation of the growth of the American grapevine *Vitis labrusca* cv. Niagara Rosada over the years and to include the effects of diseases on the physiology and vine production during consecutive years of grape production. Genecrop-P simulates the development of the plant through four stages of development (bud break, flowering, maturity and leaf fall). Genecrop-P simulates the production of biomass through photosynthesis using the Monteith approach and the reallocation of roots and trunk reserves. The biomass is partitioned between the organs of the plant (leaves, stems, fruits, trunk and roots) by partitioning coefficients that depend on the plant development stage. The model allows the inclusion of cultural practices such as pruning and the inclusion of pathogen damage mechanisms: reduction of photosynthetic active green area, reduction of photosynthetic efficiency, assimilative sapper for pathogen growth, acceleration of leaf senescence and fruit consumption. The evaluation of Genecrop-P was carried out by field experiments, during two years in grapevine *Vitis labrusca* cv. Niagara Rosada, 4 years old, on an experimental field located in Piracicaba-SP. Biomass production and development stages (DVS) were evaluated in 60 plants in 2014 and 2015. Genecrop-P successfully simulated the (DVS) and biomass production of leaves, stems and trunk. The

values of fruit yield and root biomass were underestimated when compared to the experimental field data. The complete simulation modeling coupled with pathogen damage mechanisms, over successive crop cycles, has not yet been tested and validated.

Keywords: Modeling; Genecrop; Niagara Rosada; Rust; Downy mildew

4.1. Introdução

O desenvolvimento e uso de modelos de simulação de crescimento de culturas na agricultura começou na década de 1970 (Arkin et al., 1976; de Wit et al., 1970). No início da década de 1980, as abordagens de modelagem e simulação começaram a ser usadas nas tomadas de decisões no campo, como por exemplo, em programas de irrigação ou controle de pragas (Teng, 1985). Já na década de 90, a modelagem foi usada principalmente para melhor entender os processos fisiológicos do que para resolver problemas práticos. No início do século XXI vários modelos simulação de crescimento de culturas foram combinados com modelos de danos causados por pragas e doenças e com outros fatores limitantes da produção como a fertilização. Modelos de simulação também vêm sendo muito utilizados para o estudo dos efeitos das mudanças climáticas no crescimento de culturas (Jones et al., 2016).

A modelagem e simulação do crescimento de culturas, especialmente a de culturas perenes, é complexa e envolve vários parâmetros e funções. O aumento da complexidade dos modelos aumenta a precisão das simulações, entretanto a compreensão de todas as interações do modelo diminui (Goldschmidt e Lakso, 2005). A modelagem do crescimento de culturas perenes é importante para compreender os processos de crescimento e produção da cultura, integrar as informações produzidas ao longo do tempo, prever estádios fenológicos das plantas, como épocas de maturação de frutos e entender respostas fisiológicas aos estresses, como os causados por pragas e doenças (Gutierrez et al., 1985; Savary et al., 2006).

Atualmente existem muitos exemplos de modelos de crescimento de culturas perenes. A maioria deles foi desenvolvida para a ciência florestal, como o Ecophys (*Populus* sp.), o Simwal (*Junglans* sp.), o Lignum e o Crobas (*Pinus sylvestris*), o Tregro (*Picea rubens*) e o

Whorl (*Eucalyptus regnans*) (Landsberg & Waring, 1997; Le Roux et al. 2001). A grande maioria desses modelos simula a produção de carboidratos via fotossíntese e sua partição para os órgãos da planta via coeficientes de partição ou coeficientes relativos à respiração de cada órgão da planta. (Le Roux et al., 2001; Marcelis & Heuvelink, 2007). Vários modelos de simulação de crescimento de árvores frutíferas também foram desenvolvidos, por exemplo, para a maçã (Lakso et al., 2001), o kiwi (Buwalda, 1990), o pêssigo (Grossman & Dejong, 1994), os citros (Bustan et al. 1999), e a videira (Bindi et al., 1997a, Brisson et al., 2002; Cola et al., 2014; Gutierrez et al., 1985; Wermelinger et al., 1991; Nendel & Kersebaum, 2004). A maioria dos modelos de crescimento da videira simula apenas o crescimento anual de partes aéreas da planta e desconsideram o desenvolvimento da raiz e realocação de carbono entre os anos. A realocação de carbono entre os anos é importante para a videira e para a maioria das plantas perenes porque o crescimento da planta do ano em curso está relacionado com as condições de crescimento do ano anterior (Keller, 2010).

O uso de modelos de simulação de crescimento de hospedeiros, acoplados com os mecanismos de danos de patógenos vêm sendo utilizados em várias culturas como trigo (Willoquet et al., 2008), arroz (Bastiaans, 1991; Willocquet et al., 2000) e batata (Johnson, 1992). Patógenos e pestes podem reduzir a absorção de luz e CO₂ da planta ou podem consumir fotoassimilados ou interferir nas relações hídricas da planta (Boote et al., 1983). A incorporação de mecanismos de danos de patógenos em modelos de simulação de crescimento de hospedeiros leva a uma melhor compreensão de como a doença afeta o crescimento e a produção da cultura. Através da modelagem pode-se determinar fases de maior sensibilidade da cultura ao patógeno, prever reduções de produção e a definir estratégias de manejo de pragas e doenças (Boote et al, 1983)

O objetivo desse trabalho foi desenvolver um modelo de crescimento da cultura da uva que incorporasse os processos fisiológicos ocorridos durante o ciclo da cultura e entre os

ciclos das culturas. O modelo é aplicado à videira americana *Vitis labrusca*. O modelo foi projetado para ser tão simples e robusto quanto possível, e para que pudesse ser usado para considerar os efeitos das doenças sobre a fisiologia e a produção da videira ao longo dos anos. Exemplos da incorporação de mecanismos de danos causados por *Plasmopara viticola* e *Phakopsora euvitis* são apresentados.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Estrutura geral do modelo e hipóteses

O modelo desenvolvido, denominado Genecrop-P, é um modelo agrofisiológico simples para uma cultura perene. A estrutura geral do Genecrop-P é derivada do Genecrop (Savary & Willocquet, 2014, Fig. 1a), um modelo de simulação de crescimento para culturas anuais e o sufixo P é uma referência à adaptação do Genecrop para culturas perenes. O sistema modelado em Genecrop-P é uma planta e a unidade de tempo do modelo é de 1 dia. Como no Genecrop, o Genecrop-P simula os estádios de desenvolvimento da cultura (fenologia) e a dinâmica da biomassa da cultura. O aumento da biomassa origina-se dos assimilados produzidos a partir da fotossíntese. O Genecrop-P considera ainda a dinâmica entre os anos de cultivo e um processo adicional que leva ao aumento da biomassa no início do ciclo: a realocação de assimilados das raízes e reservas do tronco (Fig. 1b). As saídas do modelo são as variáveis dinâmicas ao longo do tempo: estádios de desenvolvimento (DVS); biomassa seca de órgãos; área foliar da planta (LA); índice de área foliar (IAF); e produção da planta. A estrutura geral do modelo de simulação Genecrop-P desenvolvido para videira *Vitis labrusca* é exibida na Fig. 1c. Cinco órgãos da planta são considerados: folhas, ramos, raízes, tronco e frutos. As variáveis do modelo, as taxas, e os parâmetros estão listados na Tabela 1.

O desenvolvimento da cultura de videira, medido pelos seus estádios fenológicos (DVS), varia de 0 a 4. Os seguintes DVS foram utilizados (Lorenz et al., 1995): brotação (0);

floração (1); maturação dos frutos (2); queda das folhas (3); e dormência (4). A brotação corresponde ao início crescimento ativo da videira. A definição operacional de brotação é quando 50% de brotos verdes estão claramente visíveis. A floração começa após o final do período vegetativo, 40-60 dias após a brotação, dependendo da temperatura. A definição operacional de floração é quando 10% das flores estão abertas. A maturação é o ponto de colheita da uva. Sua definição operacional é quando 100% dos cachos estão com 14 °Brix. O período de senescência foliar começa após a colheita e termina quando todas as folhas senescem e caem. A dormência é o estágio sem crescimento visível. No entanto, o metabolismo não pára completamente na dormência (Keller, 2010). Sua definição operacional é o período entre a queda das folhas e a brotação.

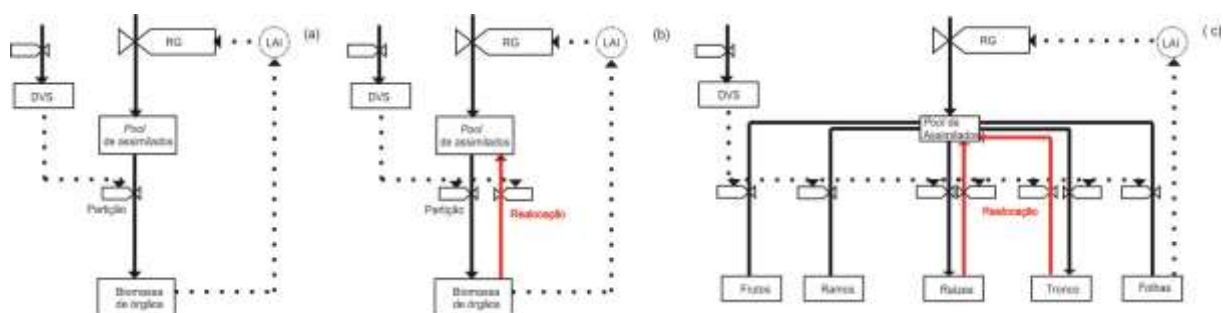


Figura 1 - Diagrama simplificado da série de modelos Genecrop. (a) Genecrop para culturas anuais; (b) Genecrop-P para culturas perenes, a seta vermelha representa a realocação de assimilados dos órgãos de armazenamento perenes para o conjunto (*Pool*) de assimilados; (c) Estrutura geral resumida do modelo de simulação Genecrop-P desenvolvido para videira. RG representa a taxa de crescimento via fotossíntese e DVS os estádios de desenvolvimento.

Os DVS aumentam de acordo com a soma da temperatura diária (*Stemp*) acima do limiar de temperatura (*Tbase*) para o desenvolvimento da videira (Fig. 2). A taxa de aumento de *Stemp* é *Dtemp*:

$$Dtemp = ((Tmin + Tmax) / 2) - Tbase \quad (1)$$

onde *Tmin* e *Tmax* são as temperaturas mínimas e máximas diárias, respectivamente.

Tabela 1 - Variáveis, acrônimos e unidades utilizadas no modelo de simulação Genecrop-P para crescimento da videira *Vitis labrusca*.

Tipo de Variável	Acrônimo	Significado	Dimensão	Unidade
Variáveis estado	Stemp	Soma de Temperaturas	[K.T]	°C·dia
	Pool	Conjunto de assimilados oriundos da fotossíntese / realocação	[M.N ⁻¹]	g·planta ⁻¹
	LeafB	Biomassa seca de folhas	[M.N ⁻¹]	g·planta ⁻¹
	StemB	Biomassa seca de ramos	[M.N ⁻¹]	g·planta ⁻¹
	FruitB	Biomassa seca de frutos	[M.N ⁻¹]	g·planta ⁻¹
	RootB	Biomassa seca de raízes	[M.N ⁻¹]	g·planta ⁻¹
	TrunkB	Biomassa seca de troncos	[M.N ⁻¹]	g·planta ⁻¹
Taxas	Dtemp	Taxa de aumento da soma de temperaturas	[K.T ⁻¹]	°C
	RG	Taxa de crescimento via fotossíntese	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	PartLeaf	Taxa de partição de assimilados para folhas	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	PartStem	Taxa de partição de assimilados para ramos	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	PartFruit	Taxa de partição de assimilados para frutos	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	PartRoot	Taxa de partição de assimilados para raízes	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	PartTrunk	Taxa de partição de assimilados para troncos	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	Rsen	Taxa de senescência foliar	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	RLP	Taxa de remoção de folhas pelas podas	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	RSP	Taxa de remoção de ramos pelas podas	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	Rharv	Taxa de remoção de frutos pela colheita	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	RAL	Taxa de realocação de assimilados via raízes	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
	RTRAL	Taxa de realocação de assimilados via tronco	[M.N ⁻¹ .T ⁻¹]	g·planta ⁻¹ .dia ⁻¹
Variáveis calculadas	LA	Área foliar	[L ² .N ⁻¹]	m ² .planta ⁻¹
	LAI	Índice de área foliar	[L ² .L ⁻²]	m ² .m ⁻²
Parâmetros	Density	Número de plantas por metro quadrado	[N.L ⁻²]	planta.m ⁻²
	RUE	Eficiência do uso da radiação	[M.E ⁻¹]	g.MJ ⁻¹
	k	Coefficiente de extinção		-
	Tbase	Temperatura base para o crescimento da videira	[K]	°C
	Tbud	Soma de temperatura acima da temperatura base para atingir a brotação	[K.T]	°C·dia
	Tflow	Soma de temperatura acima da temperatura base para atingir o florescimento	[K.T]	°C·dia
	Tmat	Soma de temperatura acima da temperatura base para atingir a maturação dos frutos	[K.T]	°C·dia
	Tfall	Soma de temperatura acima da temperatura base para atingir a queda de folhas	[K.T]	°C·dia
Variáveis interpoladas	CPL	Coefficiente de partição de biomassa para folhas		-
	CPS	Coefficiente de partição de biomassa para ramos		-
	CPF	Coefficiente de partição de biomassa para frutos		-
	CPR	Coefficiente de partição de biomassa para raízes		-
	CPT	Coefficiente de partição de biomassa para troncos		-
	RRsen	Taxa relativa de senescência foliar	[M.M ⁻¹]	g.g ⁻¹
	RRAL	Taxa relativa de realocação de assimilados via raízes	[M.M ⁻¹]	g.g ⁻¹
	RRTRAL	Taxa relativa de realocação de assimilados via tronco	[M.M ⁻¹]	g.g ⁻¹
	RRLSP	Taxa relativa de remoção de biomassa de folhas e ramos pelas podas	[M.M ⁻¹]	g.g ⁻¹
	SLA	Superfície específica das folhas	[L ² .M ⁻¹]	m ² .g ⁻¹
DVS	Estádios de desenvolvimento		-	
Parâmetros de entrada do modelo	Tmin	Temperatura mínima diária	[K]	°C
	Tmax	Temperatura máxima diária	[K]	°C
	RAD	Radiação solar global	[E.L ⁻² .T ⁻¹]	MJ.m ⁻² .dia ⁻¹

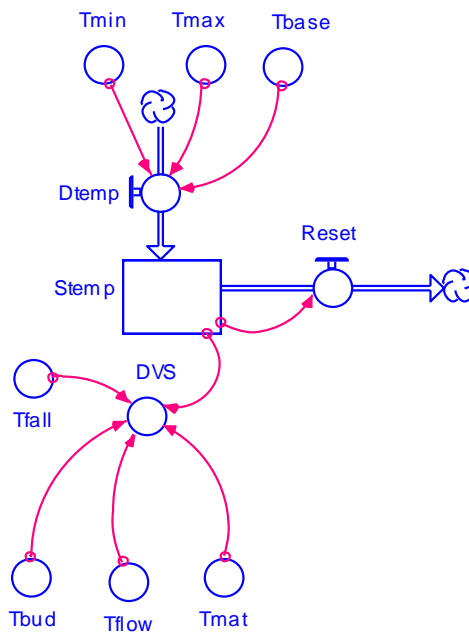


Figura 2 - Setor do modelo Genecrop-P que simula o estágio de desenvolvimento da videira cv. Niagara Rosada. Os acrônimos e seus significados estão na Tabela 1.

Os estádios de desenvolvimento são calculados de acordo com as seguintes equações:

$$DVS_{(t)} = 0 \text{ if } Stemp_{(t)} < Tbud \quad (2)$$

$$DVS_{(t)} = ((Stemp_{(t)} - Tbud)/(Tflow - Tbud)) \text{ if } Tbud < Stemp_{(t)} \leq Tflow \quad (3)$$

$$DVS_{(t)} = 1 + ((Stemp_{(t)} - Tflow)/(Tmat - Tflow)) \text{ if } Tflow < Stemp_{(t)} \leq Tmat \quad (4)$$

$$DVS_{(t)} = 2 + ((Stemp_{(t)} - Tmat)/(Tfall - Tmat)) \text{ if } Tmat < Stemp_{(t)} \leq Tfall \quad (5)$$

$$DVS_{(t)} = 3 \text{ if } Stemp_{(t)} > Tfall \quad (6)$$

onde Tbud, Tflow, Tmat e Tfall são as somas de temperaturas necessárias para atingir os estádios de desenvolvimento de brotação, floração, maturação dos frutos e queda das folhas, respectivamente.

As simulações começam no dia 1º de agosto, o que corresponde à poda de inverno no Brasil. No início de cada ano (1 de agosto), Stemp retorna ao valor zero para iniciar uma nova soma de temperaturas a ser calculada ao longo do ciclo de cultivo.

A biomassa de assimilados produzida pela fotossíntese é proporcional à radiação interceptada pelo dossel (Monteith, 1997) e função do LAI segundo a lei de Beer (Monsi e Saeki, 1953). A taxa diária de crescimento (RG) da fotossíntese é calculada como:

$$RG = RAD * RUE * (1 - e^{-k * LAI}) / Density \quad (7)$$

onde RAD é a radiação global diária, RUE é a eficiência de uso de radiação, Density é o número de plantas por metro quadrado e k é um coeficiente adimensional de extinção de luz (Figura 3a).

O índice de área foliar é definido pela equação:

$$LAI_{(t)} = LA_{(t)} * Density \quad (8)$$

A área foliar da planta é definida pela equação:

$$LA_{(t)} = SLA_{(t)} * LeafB_{(t)} \quad (9)$$

onde SLA é a superfície específica das folhas e LeafB é a biomassa seca de folhas.

Durante a fase vegetativa, desde a brotação até a floração, quando o LAI ainda é baixo, a realocação de assimilados das raízes e do tronco é a principal fonte de crescimento das plantas (Figura 3b). A realocação das raízes (RAL) e do tronco (TRAL) é definida pelas equações:

$$RAL_{(t)} = RRAL * RootB_{(t)} \quad (10)$$

$$TRAL_{(t)} = TRRAL * TrunkB_{(t)} \quad (11)$$

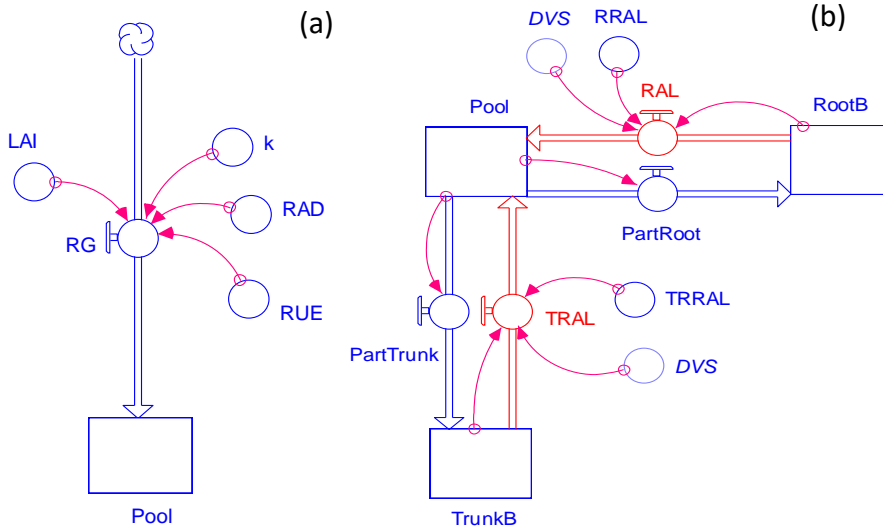


Figura 3 - Diagrama das duas formas de incremento do conjunto de biomassa (Pool) utilizadas em Genecrop-P para videira. (a) Incremento de biomassa via taxa de crescimento (RG), usando a abordagem de Monteith; (b) taxas de realocação de carboidratos de raízes e tronco. Os acrônimos e seus significados estão na Tabela 1.

onde RRAL e TRRAL são as taxas relativas de realocação de raízes e de troncos, respectivamente.

Os carboidratos produzidos via fotossíntese e via realocação de reservas são particionados para os diferentes órgãos da videira, de acordo com as equações:

$$\text{PartLeaf}_{(t)} = \text{Pool}_{(t)} * \text{CPL}_{(t)} \quad (12)$$

$$\text{PartStem}_{(t)} = \text{Pool}_{(t)} * \text{CPS}_{(t)} \quad (13)$$

$$\text{PartFruit}_{(t)} = \text{Pool}_{(t)} * \text{CPF}_{(t)} \quad (14)$$

$$\text{PartRoot}_{(t)} = \text{Pool}_{(t)} * \text{CPR}_{(t)} \quad (15)$$

$$\text{PartTrunk}_{(t)} = \text{Pool}_{(t)} * \text{CPT}_{(t)} \quad (16)$$

onde os CP's são os coeficientes de partição, dependentes do estágio de desenvolvimento.

O Pool de assimilados é definido então pela equação:

$$\text{Pool}_{(t)} - \text{Pool}_{(t-1)} = (\text{RG} + \text{R}(\text{realocação}) - \text{R}(\text{partição})) * \Delta t \quad (17)$$

A senescência foliar, representada pela perda de biomassa foliar (Rsen), ocorre entre a maturação dos frutos (DVS = 2) e o fim da queda de folhas (DVS = 3). Rsen é

proporcional a uma taxa relativa de senescência foliar (RRsen) que depende do estágio de desenvolvimento e da biomassa foliar (LeafB):

$$R_{sen(t)} = RR_{sen(t)} * LeafB_{(t)} \quad (18)$$

Várias podas são realizadas geralmente durante a estação de crescimento. As taxas de remoção de biomassa seca de folhas (RLP) e ramos (RSP) por poda são incluídas no modelo como saídas em LeafB e StemB de acordo com:

$$RLP_{(t)} = RRLSP_{(t)} * LeafB_{(t)} \quad (19)$$

$$RSP_{(t)} = RRLSP_{(t)} * StemB_{(t)} \quad (20)$$

onde RRLSP é a taxa relativa de remoção de biomassa de folhas e caule por poda.

A poda de inverno corresponde à remoção dos ramos e é incluída no modelo como:

$$RSP = StemB \text{ if } DVS = 4 \quad (21)$$

A colheita de frutos foi incluída como saída em FruitB. Na maturação dos frutos (DVS = 2), a taxa de remoção de biomassa de frutos pela colheita (Rharv) é igual a FruitB. Rharv é igual a zero em todos os outros estádios de desenvolvimento.

A estrutura geral do modelo é apresentada na Figura 4.

4.2.2. Parametrização do modelo

Os parâmetros k , RUE, SLA, Tbase e a soma das temperaturas para atingir os diferentes DVS foram obtidos a partir da literatura (Tabela 2).

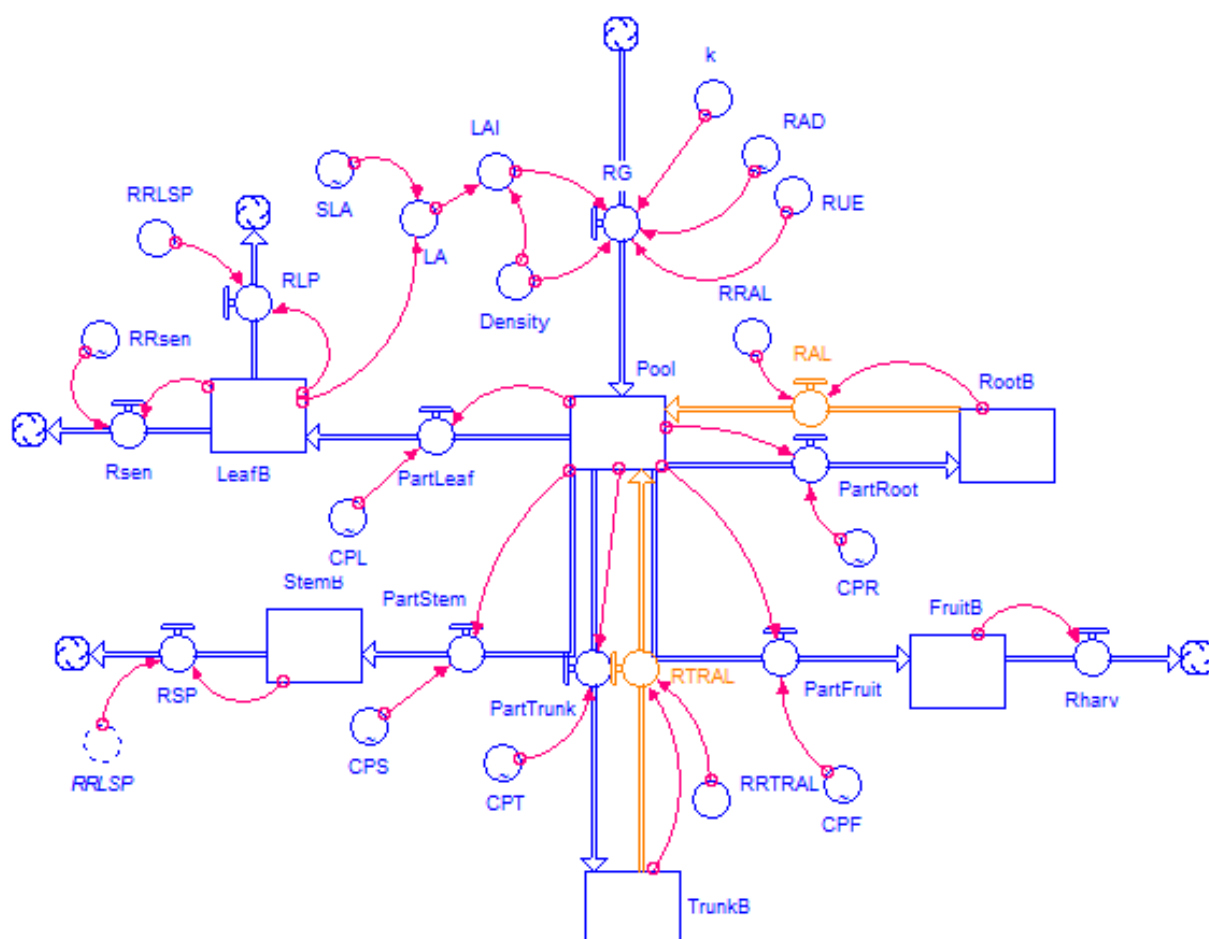


Figura 4 - Fluxograma do modelo de crescimento Genecrop-P para videira

Tabela 2 - Valores de parâmetros para o modelo de simulação de crescimento Genecrop-P para videira cv. Niagara Rosada.

Parâmetro	Valor	Referência
K	0,5	Bindi et al. (1997b)
RUE	0,7 g.MJ ⁻¹	Bindi et al. (1997b)
SLA	Varia de acordo com o DVS	Wermelinger and Koblet (1990)
Tbase	10 °C	Scarpare et al. (2009)
Tbud	180 °C . dia	Scarpare et al. (2009)
Tflow	506 °C . dia	Scarpare et al. (2009)
Tmat	1887 °C . dia	Scarpare et al. (2009)
Tfall	3237 °C . dia	Experimentos no campo ¹
RRAL	0,004	Bates et al. (2002)
RRTRAL	0,013	Bates et al. (2002)
RRsen	0,03	Experimentos no campo ¹
RRLSP	0,5 (dia 30), 0,4 (dia 70) and 0,3 (dia 100)	Embrapa (2003)
Density	0,5 planta.m ⁻²	Densidade comum no Brasil

¹Maiores detalhes no texto.

As taxas relativas de realocação RRAL e RRTRAL foram calculadas com base na diminuição da biomassa seca de tronco e raízes entre a brotação e floração medida em *Vitis labruscana* cv. Concord (Bates et al., 2002).

Os coeficientes de partição (Fig. 5) foram obtidos de Nendel & Kersebaum (2004). A densidade de plantas utilizada foi de 0,5, correspondendo a distância entre linhas de 2 m e a distância entre plantas de 1 m. Essa densidade é comumente utilizada em campos experimentais e comerciais de uva cv. Niagara Rosada no sistema em espaldeira.

Os valores de T_{fall} e RR_{sen} foram obtidos de dados de campo experimental em 2014 no Brasil, utilizando videiras cv. Niagara Rosada de 3 anos de idade na Universidade de São Paulo (22° 24 '30 "S 47° 38' 30" W). As videiras foram cultivadas em espaçamento de 2 m x 1 m e conduzidas no sistema de espaldeira. As plantas foram irrigadas por gotejamento diariamente durante 30 min. As adubações foram realizadas três vezes na estação de cultivo: (i) um mês antes da poda de inverno (150 g de ureia, 600 g de superfosfato simples, 160 g de cloreto de potássio e 20 kg de esterco por planta); (ii) na brotação (120 g de ureia e 160 g de cloreto de potássio por planta); (iii) e no estágio de bagas tamanho ervilha (120 g de ureia e 160 g de cloreto de potássio por planta). As pulverizações de fungicidas foram realizadas uma vez por semana com um dos seguintes fungicidas em alternância: estrobilurinas, ditio-carbamatos + acilalaninas e triazóis para controlar as principais doenças da videira. A radiação solar e a temperatura do ar foram medidas com auxílio de uma estação meteorológica Campbell Scientific (CR100) localizada a 150 m do campo experimental. Os dados foram monitorados com um registrador de dados Campbell Scientific (CR800x). Os dados meteorológicos foram coletados a cada 15 min.

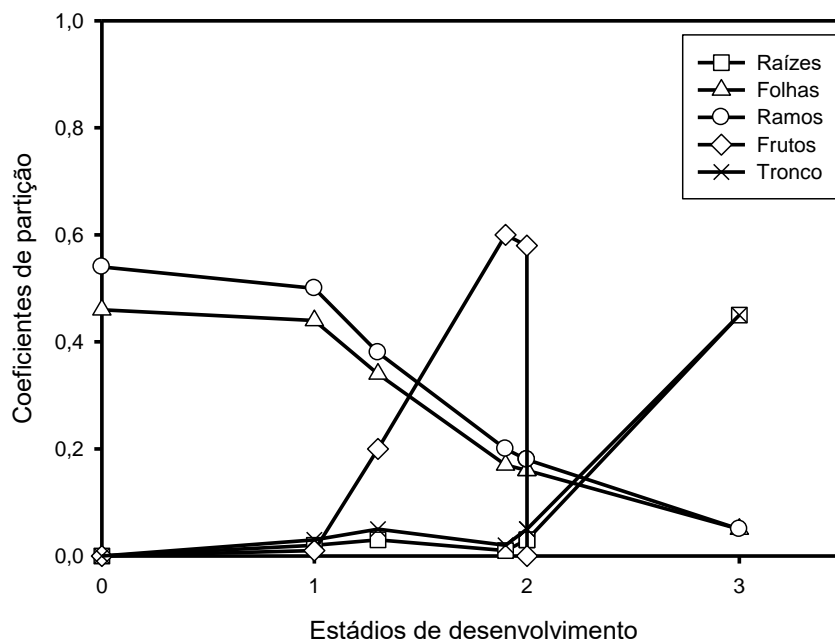


Figura 5 - Coeficientes de partição da biomassa de acordo com estádios de desenvolvimento utilizados no modelo e derivados de Nendel e Kersebaum (2004). Os estádios de desenvolvimento 0, 1, 2 e 3 correspondem à brotação, floração, maturação dos frutos e queda de folhas, respectivamente.

T_{fall} foi calculado com base em variáveis meteorológicas e observações fenológicas (Lorenz et al., 1995) realizadas semanalmente em 60 plantas entre a maturação e queda de folhas. O número de folhas por ramo foi contado semanalmente em 60 plantas desde a colheita até a queda foliar e foi utilizado para o cálculo do RR_{sen}:

$$RR_{sen(t)} = ((NL_{(t-1)} - NL_{(t)}) / NL_{(t-1)}) * \Delta t \quad (22)$$

Onde NL é o número médio de folhas por ramo em 60 plantas.

A taxa relativa de poda (RRLSP) foi determinada com base nas práticas geralmente realizadas em cv. Niagara Rosada no Brasil (Embrapa, 2003). No início do ciclo de cultura (30 dias após a poda de inverno), metade dos brotos é removida por uma desbrota e o RRLSP foi ajustado em 0,5 nesta data. Aos 70 e 100 dias após a poda de inverno, geralmente são realizados despontes e retirada de ramos “netos”. RRLSP foi ajustado em 0,4 e 0,3, respectivamente (Embrapa, 2003).

4.2.3. Avaliação do modelo

A área experimental descrita na secção 4.2.2 foi utilizada para testar o modelo. O estágio de desenvolvimento foi avaliado semanalmente por observações visuais em 60 plantas (Lorenz et al., 1995) e a produção (biomassa de frutas frescas) foi medida em 60 plantas em 2014 e 2015. Em 2015, a biomassa fresca e seca de 100 cachos colhidos aleatoriamente em 60 plantas foi obtida e uma regressão linear foi estabelecida entre a biomassa seca como variável dependente (y) e a biomassa fresca como variável independente (x). Essa relação foi utilizada para estimar a biomassa seca de frutos por planta com base na biomassa fresca de frutos. Além disso, a biomassa seca de folhas e ramos foi medida em três plantas na colheita e a biomassa seca de troncos e raízes foi medida em três plantas na queda de folhas em 2015. Os órgãos das plantas foram secos a 65 °C durante uma semana e a biomassa seca obtida. Adicionalmente, na colheita, a área foliar total de três plantas foi quantificada com um medidor de área foliar (Li-COR-3100®).

O crescimento da videira foi simulado em 2014 e 2015, utilizando a temperatura diária e a radiação solar global obtidas da estação meteorológica Campbell (ver secção 4.2.2). Os intervalos de confianças à 95% dos dados observados de área foliar e biomassa de órgãos secos foi calculado e comparados com os valores simulados.

Simulações foram realizadas ao longo de 20 anos para avaliar o comportamento do sistema ao longo dos anos. Os valores de RAD, Tmin e Tmax foram fixados em 18 MJ.m⁻².dia⁻¹, 17 °C e 30 °C, respectivamente, o que corresponde às médias anuais de 2011-2015 no campo experimental.

4.2.4. Inclusão dos mecanismos de danos de *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara viticola* no modelo Genecrop-P

Os mecanismos de danos de *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara viticola* foram acoplados ao Genecrop-P de acordo com Boote et al., (1993). Os dois patógenos atuam

como redutores da interceptação luminosa e redutores da eficiência fotossintética. Esses mecanismos foram inseridos na variável LA conforme a equação:

$$LA_{(t)} = SLA_{(t)} * LeafB_{(t)} * ((1-DM_{(t)})^{BDM} * ((1-GR_{(t)})^{BGR})) \quad (23)$$

onde DM e GR correspondem à severidade do míldio e da ferrugem da videira respectivamente e BDM e BGR são os valores de lesão virtual (β) para míldio e ferrugem respectivamente.

Os dois patógenos também aceleram a senescência foliar e seus efeitos foram inseridos na taxa de senescência foliar (Rsen) de acordo com a seguinte equação:

$$Rsen = (1 - ((1 - RRsen) * (1 - (DM * RDM)) * (1 - (GR * RGR)))) * LeafB \quad (24)$$

onde RDM e RGR são as taxas relativas de desfolha causadas pelo míldio e ferrugem da videira.

Os efeitos dos dois patógenos no desvio de fotoassimilados para seu próprio uso foram incluídos no conjunto de assimilados, através de uma taxa de divergência chamada RdiV de acordo com a seguinte equação:

$$RDIV = (SDM * LA * DM / LsDM) + (SGR * LA * GR / LsGR) \quad (25)$$

onde SDM e SGR são as taxas de desvio de assimilados pelo míldio e ferrugem, respectivamente. LsDM e LsGR correspondem ao tamanho da lesão de *P. viticola* e *P. euvitis* respectivamente.

A queda de bagas em cachos, causada por *P. viticola* foi inserida na forma de uma taxa de perda de massa (Rloss) em FruitB de acordo com a equação:

$$Rloss = RRloss * DM \quad (26)$$

Onde Rrloss é a taxa relativa de queda de bagas causada por *P. viticola*.

4.3. Resultados

4.3.1 Comparação de dinâmicas simuladas e observadas

Os DVS simulados e observados foram similares em 2014 e 2015, exceto para a queda das folhas (Fig. 6). Em 2014, as diferenças entre as durações em dias dos estádios fenológicos simulados e observados foram de 3, 4 e 9 dias para a brotação, floração e maturação, respectivamente (Fig. 6). Em 2015 a durações em dias dos DVS observados e simulados foram semelhantes aos de 2014. A diferença máxima entre a duração simulada e observada foi de 18 dias em 2015 para o DVS = 3.

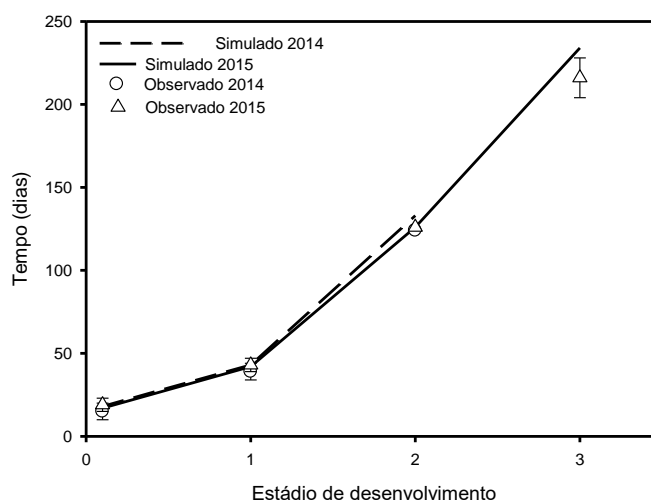


Figura 6 - Estádios de desenvolvimento simulados e observados na videira cv. Niagara Rosada em 2014 e 2015 em Piracicaba-SP, Brasil. Os estádios de desenvolvimento 0, 1, 2 e 3 correspondem à brotação, floração, maturação e queda das folhas, respectivamente. Barras de erro representam os erros padrão das médias observadas.

A relação linear entre a biomassa seca da fruta e o peso fresco do fruto ($R^2 = 0,97$) foi:

$$\text{Biomassa seca dos frutos (g)} = 1.25 + 0.16 * \text{biomassa fresca dos frutos (g)} \quad (27)$$

A equação 27 permitiu comparações entre a biomassa seca simulada e as produções observada (massa fresca). A biomassa seca simulada de folhas, tronco e ramos e a área foliar total foram similares às médias observadas em 2015 (Tabela 3). Contudo, a biomassa seca de frutos e a biomassa seca de raízes foram superestimadas pelo modelo (Tabela 3).

Tabela 3 - Biomassa seca observada e simulada em videiras cv. Niagara Rosada em 2014 e 2015. As plantas apresentavam 4 anos de idade em 2014.

	Observados (IC)	Simulados
Biomassa seca de folhas (g.planta ⁻¹)	177 (\pm 80.4) ¹	157
Biomassa seca de ramos (g.planta ⁻¹)	150 (\pm 78.4) ¹	180
Biomassa seca de troncos (g.planta ⁻¹)	302 (\pm 95.3) ²	342
Biomassa seca de raízes (g.planta ⁻¹)	234 (\pm 80.4) ²	389*
Área foliar (m ² .planta ⁻¹)	1.8 (\pm 1.0) ¹	2.2
Biomassa seca de frutos (g.planta ⁻¹) ¹		
2014	291 (\pm 31.6)	396*
2015	247 (\pm 30.1)	343*

¹ Dados obtidos na colheita em três plantas.

² Dados obtidos ao final da queda de folhas em três plantas.

Os valores simulados seguidos por * não estavam dentro do intervalo de confiança (IC) de 95% dos valores observados.

4.3.2 Dinâmica ao longo dos anos sucessivos

Dados simulados para a duração da brotação, floração, maturação dos frutos e queda das folhas foram de 14, 38, 140 e 240 dias, respectivamente (Fig. 7). Esses períodos correspondem a 14 de agosto, 7 de setembro, 18 de dezembro e 28 de março.

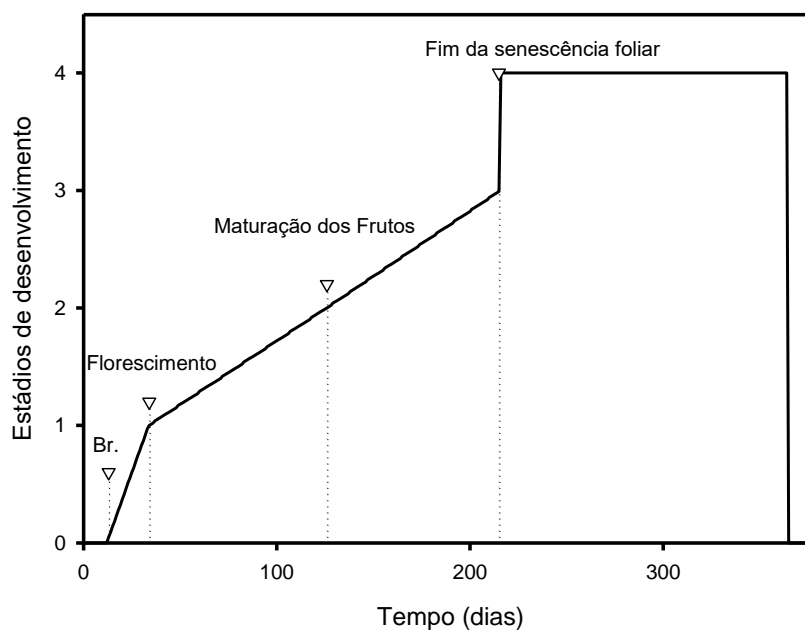


Figura 7 - Duração (dias) dos estádios de desenvolvimento simulados de acordo com a duração em dias para uma videira cv. Niagara Rosada durante um ano. A simulação iniciou-se em 1º de agosto e os valores da temperatura mínima e máxima foram ajustados para 17 °C e 30 °C, respectivamente. Os estádios de desenvolvimento 0, 1, 2 e 3 correspondem à brotação (Br.), florescimento, maturação dos frutos e fim da senescência foliar (queda das folhas), respectivamente.

Um período vegetativo curto (três semanas e meia) foi seguido por um estágio reprodutivo que durou mais de três meses, e por uma fase pós-reprodutiva que durou três meses.

A Figura 8 mostra a dinâmica simulada da biomassa de uma videira de 4 anos de idade. A biomassa seca foliar simulada aumentou da brotação para maturação dos frutos (DVS = 2), diminuindo abruptamente no momento da poda. A biomassa seca foliar máxima foi de 350 g na maturação e, em seguida, declinou até o final da queda das folhas, devido à senescência foliar fisiológica (Fig. 8a). A dinâmica da área foliar foi próxima da biomassa foliar seca (Fig. 8b), com um valor máximo de 5 m². A biomassa seca dos ramos apresentou uma dinâmica semelhante à da biomassa seca foliar até a maturação (Fig. 8a). Após a maturação, a biomassa seca dos ramos continuou a aumentar, mas diminuiu gradualmente à medida que o DVS aumentou de 2 para 3. A curva de acúmulo de biomassa seca de frutos mostrou uma forma exponencial que atingiu o valor máximo de 550 g.planta⁻¹ na maturação (Fig. 8a). O acúmulo de biomassa nas raízes e no tronco diminuiu da brotação até a floração, devido à realocação de assimilados desses órgãos durante a fase vegetativa. A biomassa de raízes foi maior que a biomassa do tronco e os valores finais de massa seca foram de 1049 g e 868 g para raízes e tronco, respectivamente (Fig. 8c). A dinâmica da biomassa seca de tronco e raízes durante dois anos sucessivos (videira de 3 e 4 anos) é mostrada na Figura 9. Esse padrão indica o aumento progressivo da biomassa ao longo dos anos, apesar da diminuição na fase vegetativa quando os assimilados são realocados para o crescimento de folhas e ramos.

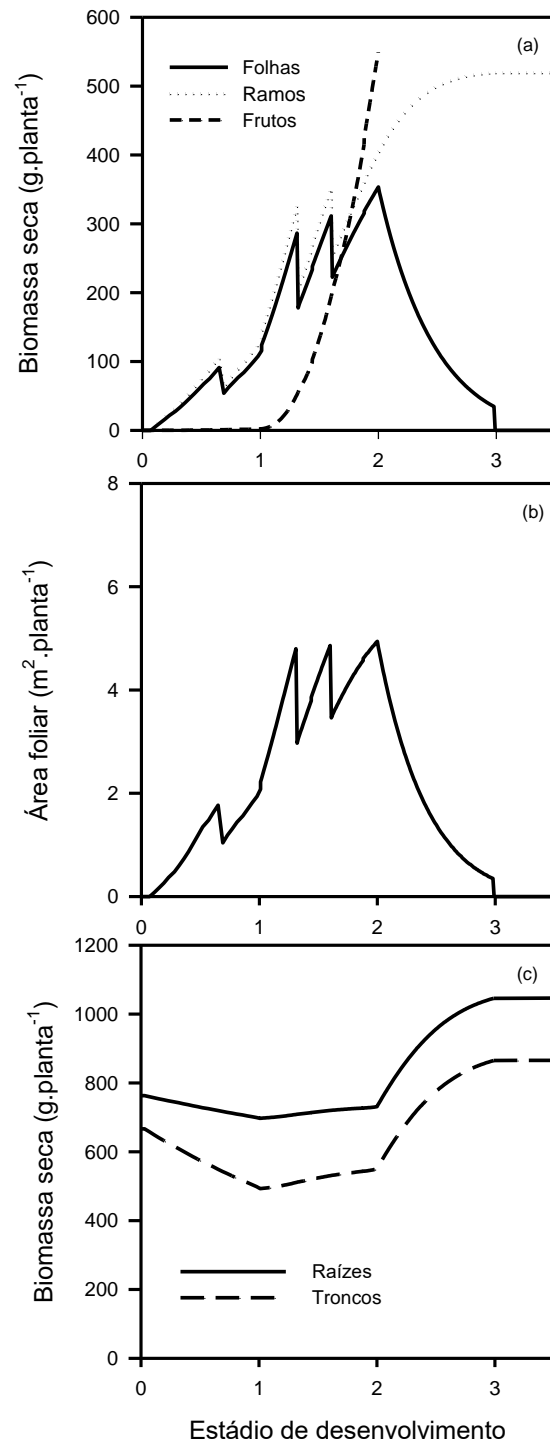


Figura 8 - Biomassa seca simulada de órgãos de plantas e área foliar ao longo de um ciclo de cultura da videira cv. Niagara Rosada de cinco anos. (a) Biomassa seca de folhas, caule e frutos; (b) área foliar; (c) biomassa seca de raízes e tronco. Os estádios de desenvolvimento 0, 1, 2 e 3 correspondem à brotação, florescimento, maturação e queda das folhas, respectivamente

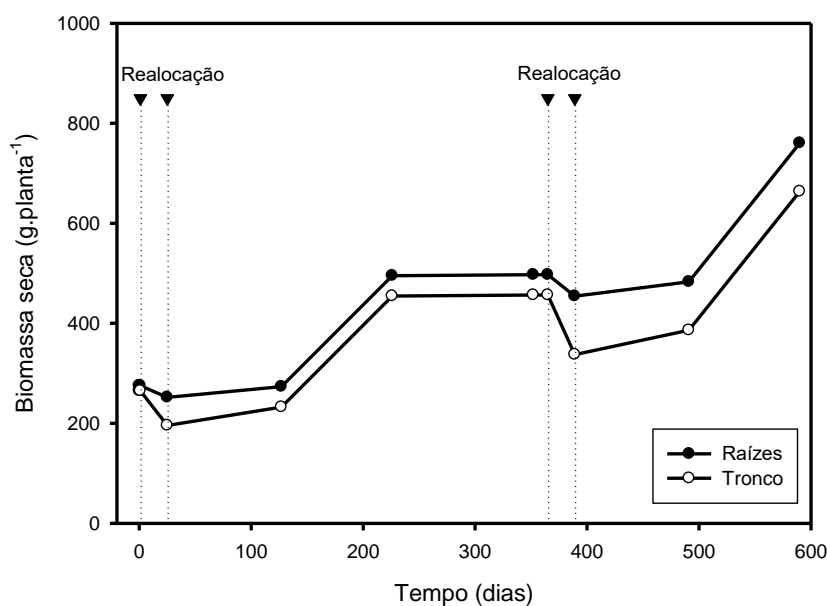


Figura 9 - Dinâmica simulada da biomassa seca da raiz e do tronco ao longo de dois anos de uma planta de videira de 3 anos de idade. O intervalo entre os triângulos com linhas pontilhadas, dentro de cada ano, representa a diminuição da biomassa seca da raiz e do tronco devido à realocação no início do ciclo da videira.

A simulação da produção de biomassa seca da videira ao longo de 20 anos indica um aumento quase linear na biomassa dos órgãos e na área foliar durante os primeiros 6 anos (Fig. 10). As curvas da área foliar (Fig. 10a), da biomassa dos ramos (Fig. 10b), dos frutos (Fig. 10c) e do tronco (Fig. 10d) tornaram-se assintóticas (anos 7 a 20). A biomassa seca das raízes aumentou quase linearmente ao longo dos 20 anos de simulação (Figura 10d). Os valores estimados no final do período de simulação (20 anos) de área foliar, biomassa de folhas, ramos, frutos, tronco e raízes foram de 8 m², 544, 655, 728, 1473 e 3597 g por planta, respectivamente

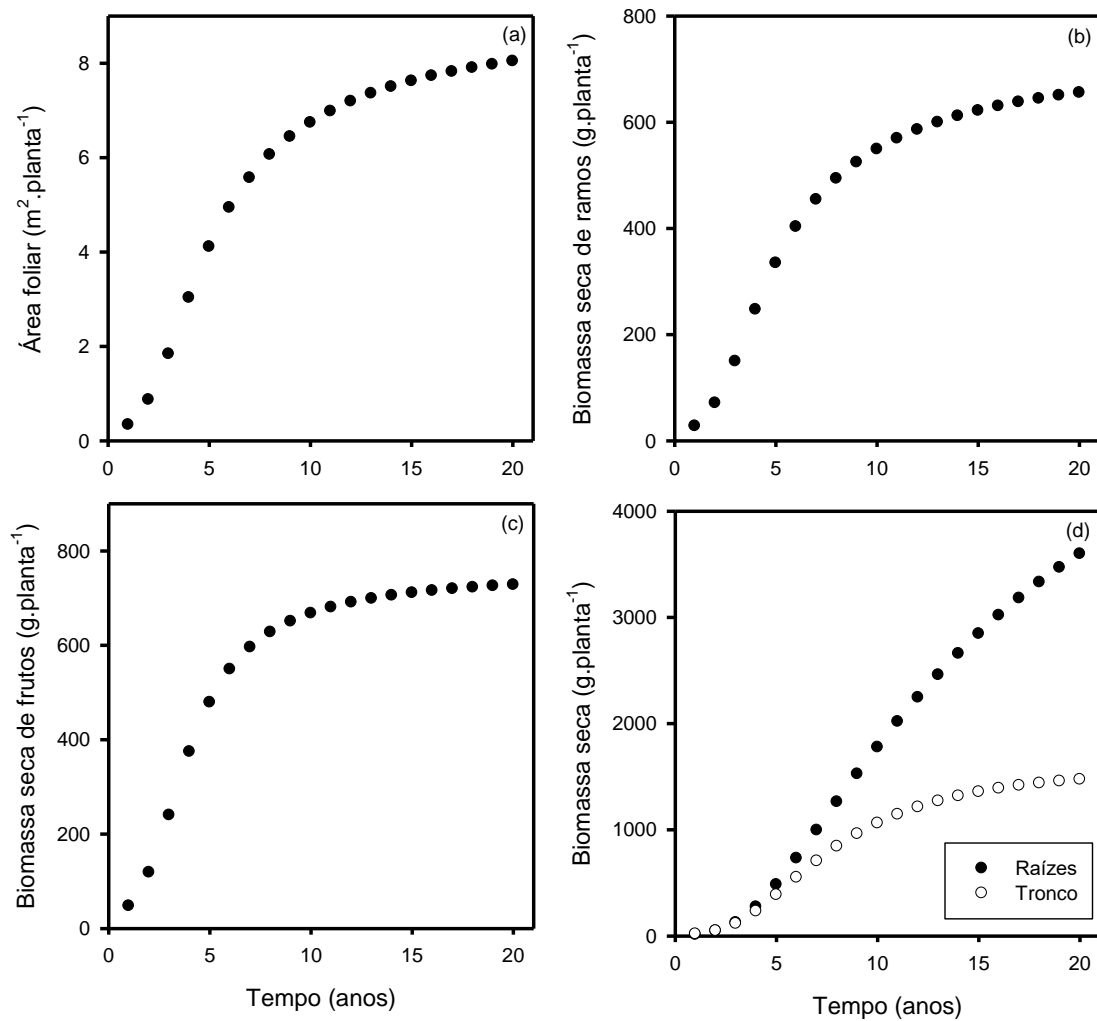


Figura 10. - Simulação da área foliar (a) e da produção de biomassa (b, c, d) da videira cv. Niagara Rosada durante 20 anos.

4.3.3 Inclusão dos mecanismos de danos de *Phakopsora euvtis* e *Plasmopara viticola* no modelo Genecrop-P

Os mecanismos de danos de *Phakopsora euvtis* e *Plasmopara viticola* foram inseridos nas variáveis LA, Pool, FruitB e na taxa de senescência Rsen (Fig. 11). A estrutura geral do Genecrop-P com os mecanismos de danos de *P. viticola* e *P. euvtis* acoplados está representada na Figura 12.

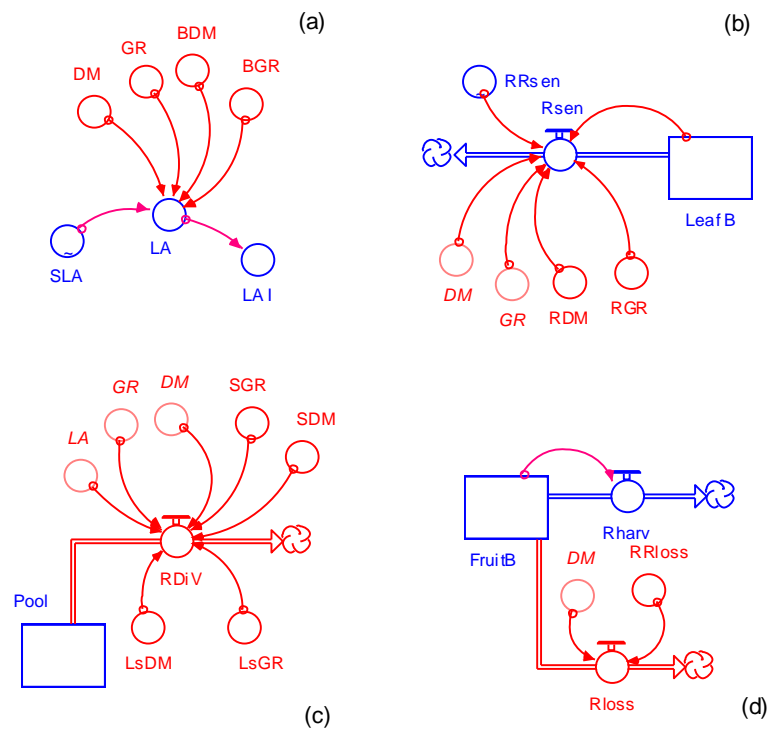


Figura 11 - Mecanismos de danos de *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara viticola* acoplados ao modelo Genecrop-P (a) Redução da área foliar e da eficiência fotossintética. (b) Aceleração da senescência foliar. (c) Desvio de fotoassimilados pelos patógenos. (d) Queda de frutos causada por *P. viticola*.

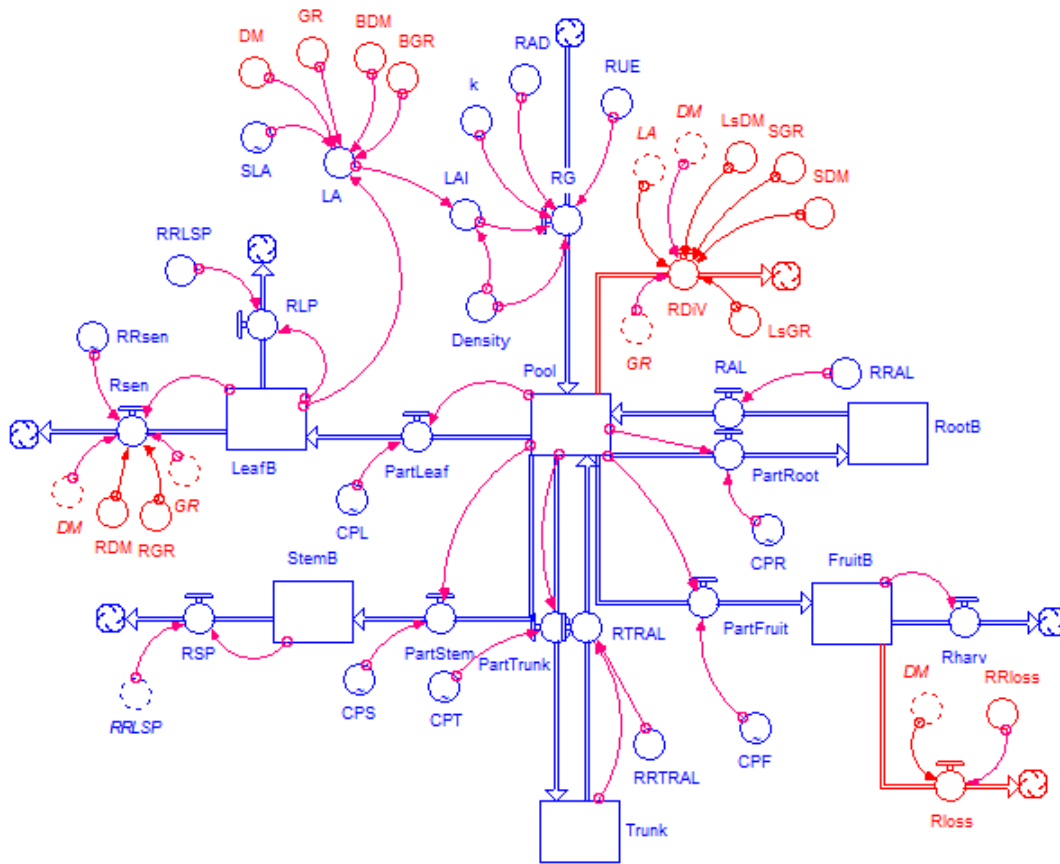


Figura 12 - Fluxograma do modelo de crescimento Genecrop-P para videira *Vitis labrusca* com os mecanismos de dano de *Plasmopara viticola* e *Phakopsora euvtis* acoplados.

4.4. Discussão

O modelo Genecrop-P utiliza uma representação simples dos processos envolvidos na fotossíntese, de acordo com a abordagem de Monteith, que pressupõe que a fotossíntese é proporcional à quantidade de radiação solar e à eficiência de conversão da energia solar interceptada em biomassa. A maioria dos modelos de crescimento de culturas perenes utiliza abordagens diferentes e muitas vezes complexas para a modelagem da fotossíntese (para uma revisão, ver Leroux et al., 2001). No entanto, existem poucos exemplos de modelos de crescimento de culturas arbóreas usando a estrutura de Monteith no módulo de fotossíntese e produção de biomassa. Alguns exemplos são o modelo de crescimento individual de árvores proposto por West (1993) e o modelo para o crescimento de pinheiro escocês (Kellomäki e Strandman, 1995). Para a videira, o modelo proposto por Bindi et al. (1997a) também usou

uma modificação da estrutura de Monteith e o valor de RUE usado em Genecrop-P foi obtido a partir deste trabalho. Apenas alguns valores de RUE estão disponíveis a partir de espécies lenhosas e árvores frutíferas e uma razão para isso é a dificuldade de amostrar e medir plantas inteiras (Russell et al., 1989).

A comparação dos DVS simulados e observados (Fig. 6) indica que o modelo Genecrop-P simula de forma satisfatória a fenologia de cv. Niagara Rosada. As durações simuladas dos DVS correspondem aos períodos comumente observados para cv. Niagara Rosada no Brasil (Fig. 6): a maturação dos frutos foi simulada para o meio de dezembro e o final da queda das folhas para a metade de fevereiro, períodos que foram observados nos dois anos do campo experimental. Em videiras cv. Niagara Rosada de 13 anos, de 2004 a 2008, os valores médios da duração dos estádios de desenvolvimento foram de 16, 44 e 138 dias para brotação, florescimento e maturação dos frutos, respectivamente (Scarpore et al., 2012). As diferenças entre estes períodos e os simulados correspondentes para cada DVS foram de 2, 6 e 2 dias, respectivamente. Tais diferenças indicam, novamente, uma representação robusta da fenologia de cv. Niagara Rosada pelo modelo. Os DVS simulados também estavam estreitamente relacionados com os períodos DVS observados para cv. Isabel, outra cultivar de *Vitis labrusca*, comumente cultivada no Brasil (Roberto et al., 2004). O modelo indica que a dormência ocorre entre março e julho, que é o período de dormência comum para cv. Niagara Rosada.

A estimativa do DVS pode ser utilizada em culturas perenes para prever a época de colheita e para traçar um cronograma de tratamentos culturais em regiões com diferentes condições meteorológicas. Nas regiões de clima tropical e subtropical, o crescimento da videira ocorre praticamente durante todo o ano e alguns produtores escalonam as podas, a fim de produzir uvas durante diferentes épocas do ano (Scarpore et al., 2012). Este procedimento permite a produção de uva quando sua oferta é baixa e os preços são elevados.

Genecrop-P poderia ajudar a prever o período de colheita com base na data de poda e uma série climatológica regional de temperatura e radiação.

A biomassa seca da raiz simulada foi muito maior do que os valores medidos experimentalmente (Tabela 3). Essa diferença pode ser parcialmente explicada pela dificuldade de amostrar precisamente a massa radicular (Apêndice). Amostragens de sistemas radiculares de plantas perenes, realizadas experimentalmente, geralmente subestimam o tamanho ou o peso real das raízes (Herralde et al., 2010). Existem poucos estudos quantitativos sobre as raízes da videira, devido ao esforço metodológico e humano necessário para a avaliação de processos subterrâneos (Herralde et al., 2010). A biomassa seca das raízes simulada aumentou quase linearmente durante o período de simulação (20 anos). Para *Vitis vinifera*, a biomassa radicular estimada em 50 cm de profundidade também apresentou um aumento linear em 18 anos (Nendel & Kersebaum, 2004).

A biomassa seca simulada de frutos de uma planta de 7 anos de idade foi de 590 g, o que é muito próximo do rendimento médio observado em cv. Niagara Rosada em campo experimental no Brasil (Terra et al., 2003). O rendimento da videira é altamente variável, dependendo de muitos fatores, como cultivar e tratos culturais. No Brasil, várias podas e tratos culturais são realizados na cv. Niagara Rosada para manter o dossel em baixa densidade, com 8 ramos por metro de linha. Como consequência, o número máximo de cachos por planta é 16 e o rendimento médio é de 3 kg / planta (Terra et al., 2003). As videiras com dossel de alta densidade têm até 60 brotos por metro de linha. Os valores observados de rendimento na videira *Vitis vinifera* são em média 2 e 5 kg por metro de linha para os dosséis de baixa e alta densidade, respectivamente (Cola et al., 2014).

A diminuição das raízes e da biomassa seca do tronco ocorreu no início do novo ciclo de videira a cada ano, e é devida ao processo de realocação. Tal como demonstrado por Bates et al. (2002), a realocação do tronco e da biomassa radicular é de cerca de 40% da

massa desses órgãos e ocorre desde a brotação até a floração. Os valores mínimos de biomassa seca de tronco e raízes para cv. Concord foram observados na floração (Bates et al., 2002). A dinâmica da biomassa seca dos frutos ao longo de 20 anos mostrou uma estabilização da produção de frutos a partir do 7º ano. Dados observados de produção da cv. Niagara Rosada, ao longo dos anos, mostram uma estabilização da produção após o sexto ano no Brasil (Terra et al., 2003).

4.5. Conclusões

Genecrop-P permite a simulação da dinâmica da biomassa da uva, não somente dentro de um ciclo de cultura, mas também em ciclos sucessivos de culturas. A estrutura do modelo também apresenta uma abordagem genérica, podendo ser utilizada para analisar e modelar a dinâmica da biomassa de outras árvores frutíferas. Os processos incorporados ao modelo para simular essas dinâmicas dentro do ciclo representam uma base robusta para tratar os efeitos das doenças sobre a fisiologia e a formação de rendimento da uva ao longo dos anos. A inclusão de mecanismos de danos por patógenos em Genecrop-P é simples e segue a abordagem proposta por Boote et al., (1983) e Savary & Willocquet (2014). Trabalhos que desenvolvam a parametrização e avaliação ao longo dos anos do modelo de simulação e danos ainda são necessários.

Referências

- Arkin, G.F., Vanderlip, R.L., Ritchie, J.T., 1976. A dynamic grain sorghum growth model. Transactions of the ASAE 19, 622-626. (doi: 10.13031/2013.36082)
- Bates, T.R., Dunst, R.M., Joy, P., 2002. Seasonal dry matter, starch, and nutrient distribution in 'Concord' grapevine roots. HortScience 37, 313–316.
- Bastiaans, L. Understanding yield reduction in rice due leaf blast. Thesis Wageningen- ISBN 90-5485-166-X
- Bindi, M., Miglietta, F., Gozzini, B., Orlandini, S., Seghi, L., 1997a. A simple model for simulation of growth and development in grapevine (*Vitis vinifera* L.). I. Model description. Vitis 36, 67-71.
- Bindi, M., Miglietta, F., Gozzini, B., Orlandini, S., Seghi, L., 1997b. A simple model for simulation of growth and development in grapevine (*Vitis vinifera* L.). II. Model validation. Vitis 36, 73-76.
- Boote, K.J., Jones, J.W., Mishoe, J.W., Berger, R.D., 1983. Coupling pests to crop growth simulator to predict yield reductions. Phytopathology 73, 1581-1587.
- Brisson, N., Gaudillere, J.P., Ramel, J.P., Vaudour, E., 2002. Utilisation du modèle de culture STICS comme outil pour renseigner les zonages viticoles. in: Proceedings of the Fourth International Symposium on Viticultural Zoning, June 17–20, 2002, Avignon.
- Bustan, A., Goldschmidt, E.E., Erner, Y., 1999. Progress in the development of 'CITROS' - a dynamic model of citrus productivity. Acta Horticulturae 499, 69-80. (doi: 10.17660/ActaHortic.1999.499.6)
- Buwalda, J.G., Walton, E.F., Smith, G.S., 1990. A carbon balance model for the kiwifruit vine. Acta Horticulturae 276, 87-96. (doi:10.17660/ActaHortic.1990.276.10)
- Cola, G., Mariani, L., Salinari, F., Civardi, S., Bernizzoni, F., Gatti, M., Poni, S., 2014. Description and testing of a weather-based model for predicting phenology, canopy

- development and source-sink balance in *Vitis vinifera* L. cv. Barbera. *Agricultural and Forest Meteorology* 184, 117-136.
- EMBRAPA, 2003. Cultivo da Videira Niágara Rosada em Regiões Tropicais do Brasil. Embrapa Uva e Vinho. <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvaNiagaraRosadaRegioesTropicais/> (accessed 16/08/15).
- Goldschmidt, E.E., Lakson, A.N., 2005. Fruit tree models: scope and limitations. in: Gelb, E., Offer, A. (Eds.), *ICT in Agriculture: Perspectives of Technological Innovation*. European Federation for Information Technologies in Agriculture, Food and the Environment, Jerusalem . <http://departments.agri.huji.ac.il/economics/gelb-fruit-8.pdf> (accessed 16/08/2016)
- Grossman, Y.L., Dejong, T.M., 1994. PEACH: A simulation model of reproductive and vegetative growth in peach trees. *Tree Physiology* 14, 329-345. (doi: 10.1093/treephys/14.4.329)
- Gutierrez, A.P., Williams, D.W., Kido H., 1985. A model of grape growth and development: The mathematical structure and biological considerations. *Crop Science*, 25, 721-728. (doi:10.2135/cropsci1985.0011183X002500050001x)
- Herralde, F., Savé, R., Aranda, X., Biel, C., 2010. Grapevine roots and soil environment: growth, distribution and function. in: Delrot, S., Medrano, H., Or, E., Bavaresco, L., Grando, S. (Eds). *Methodologies and Results in Grapevine Research*. Springer, New York, pp. 1-20. (doi: 10.1007/978-90-481-9283-0_2)
- Johnson, K.B., 1992. Evaluation of a mechanistic model that describes potato crop losses caused by multiple pests. *Phytopathology* 28, 363-369.

- Jones JW, Antle JM, Basso B, Boote KJ, Conant RT, Foster, I, Charles H, Goldfray J et al., 2016. Brief history of agricultural systems modelling. *Agricultural Systems* doi: 10.1016/j.agsy.2016.05.014
- Keller, M., 2010. *The Science of Grapevine. Anatomy and Physiology*. Elsevier, San Diego.
- Kellomäki S., Strandman H., 1995. A model for the structural growth of young Scots pine crowns based on light interception by shoots. *Ecological Modelling* 80, 237–250.
- Kranz, J., Hau, B., 1980. Systems analysis in epidemiology. *Annual Review of Phytopathology* 18, 67-83. (doi: 10.1146/annurev.py.18.090180.000435)
- Lakso, A.N., White, M.D., Tustin, D.S., 2001. Simulation modeling of the effects of short and long-term climatic variations on carbon balance of apple trees. *Acta Horticulturae* 557, 473-480. (doi: 10.17660/ActaHortic.2001.557.63)
- Landsberg, J.J., Waring, R.H., 1997. A generalised model of forest productivity using simplified concepts of radiation-use efficiency, carbon balance and partitioning. *Forest Ecology and Management* 95, 209–228.
- Le Roux, X., Lacointe, A., Escobar-Gutiérrez, A., Le Dizès, S., 2001. Carbon-based models of individual tree growth: A critical appraisal. *Annals of Forest Science* 58, 469–506. (doi: 10.1051/forest:2001140)
- Lorenz, D.H., Eichhorn, K.W., Bleiholder, H., Klose, R., Meier, U., Weber, E., 1995. Growth stages of the grapevine: Phenological growth stages of the grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*) - Codes and descriptions according to the extended BBCH scale. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 1, 100–103. (doi: 10.1111/j.1755-0238.1995.tb00085.x)
- Marcelis, L.F.M., Heuvelink, E., 2007. Concepts of modelling carbon allocation among plant organs. in: Vos, J., Marcelis, L.F.M., Visser, P.H.B. de, Struik, P.C., Evers, J.B.

- (Eds.). Functional-Structural Plant Modelling in Crop Production. Springer, Wageningen, pp. 103 - 111.
- Monsi, M., Saeki, T. 1953. Über den Lichtfaktor in den Pflanzengesellschaften und sein Bedeutung für die Stoffproduktion. Japanese Journal of Botany 14, 22-52.
- Monteith, J. L. 1977. Climate and the efficiency of crop production in Britain. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B 281, 277-294.
- Nendel, C., Kersebaum, K.C., 2004. A simple model approach to simulate nitrogen dynamics in vineyard soils. Ecological Modelling 177, 1–15.
- Roberto, S.R., Sato, A.J., Brenner, E.A., Santos, C.E., Genta, W., 2004. Fenologia e soma térmica (graus-dia) para a videira ‘Isabel’ (*Vitis labrusca*) cultivada no Noroeste do Paraná. Semina: Ciências Agrárias 25, 273-280 (Abstract in English).
- Russell, G., Jarvis, P.G., Monteith, J.L., 1989. Absorption of radiation by canopies and stand growth. in: Russell, G., Marshall, B., Jarvis, P.G. (Eds). Plant canopies: their growth, form and function. Cambridge University Press, New York, pp. 21-39.
- Savary, S., Willocquet, L., 2014. Simulation Modeling in Botanical Epidemiology and Crop Loss Analysis. The Plant Health Instructor. <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/botanicalepidemiology/Pages/default.aspx>. (accessed in 16/08/2015) (doi: 10.1094/PHI-A-2014-0314-01)
- Savary, S., Teng, P.S., Willocquet, L., Nutter Jr., F.W., 2006. Quantification and modeling of crop losses: A review of purposes. Annual Review of Phytopathology 44, 89-112. (doi: 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143342)
- Scarpare, F.V., Angelocci, L.R., Cardoso, N.P., Barros, A.H.C., Ragasi, M.U., Corrêa, S.T.R., Simon, J., 2009. Determinação da temperatura base inferior para estimativas das exigências de graus-dia da videira ‘Niagara Rosada’. Anais do XVI Congresso de Agrometeorologia, Belo Horizonte.

- Scarpore, F.V., Scarpore Filho, J.A., Rodrigues, A., Reichardt, K., Angelocci, L.R., 2012. Growing degree-days for the 'Niagara Rosada' grapevine pruned in different seasons. *International Journal of Biometeorology* 56, 823-830. (doi: 10.1007/s00484-011-0484-8)
- Teng P.S., 1985. A comparison of simulation approaches to epidemic modeling. *Annual Review of Phytopathology* 23, 351-379. (doi: 10.1146/annurev.py.23.090185.002031)
- Terra, M.M., Pires, E.J.P., Pommer, C.V., Botelho, R.V., 2003. Produtividade da cultivar de uva de mesa Niagara Rosada sobre diferentes porta-enxertos, em Monte Alegre do Sul-SP. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25, 549-551. (doi: 10.1590/S0100-29452003000300049)
- West P.W., 1993. Model of above-ground assimilate partitioning and growth of individual trees in even aged forest monoculture. *Journal of Theoretical Biology* 161, 369–394.
- Wermelinger, B., Koblet, W., 1990. Seasonal growth and nitrogen distribution in grapevines leaves, shoots and grapes. *Vitis* 29, 15-26.
- Wermelinger, B., Baumgärtner, J., Gutierrez, A.P., 1991. A demographic model of assimilation and allocation of carbon and nitrogen in grapevines. *Ecological Modelling* 53, 1–26.
- Willocquet, L., Aubertot, J.N., Lebard, S., Robert, C., Lannou, C., Savary, S., 2008. Simulating multiple pest damage in varying winter wheat productions situations. *Field Crops Research* 107, 12-28. (doi:10.1016/j.fcr.2007.12.013)
- Willocquet, L., Savary, S., Fernandez, L., Elagui, F., Teng, P., 2000. Development and evaluation of a multiple-pest, production situation specific model to simulate yield losses of rice in tropical Asia. *Ecological Modelling* 131, 133-159.

Wit, C.T. de, Brouwer, R., Vries, F.W.T.P. de, 1970. The simulation of photosynthesis systems. in: Setlík, I., (ed.), Prediction and measurement of photosynthetic productivity. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, pp. 47-70.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tanto *Phakopsora euvitis* quanto *Plasmopara viticola* reduziram a fotossíntese nas regiões das lesões e nos tecidos assintomáticos adajacentes às lesões. Entretanto, o efeito de *P. euvitis* no tecido verde próximo à lesão foi maior, de acordo com o parâmetro β estimado em 5,8 para esse patógeno, enquanto que para *P. viticola* o valor de estimado de β foi a metade do valor estimado para *P. euvitis*. *P. euvitis* também afetou outras variáveis como a atividade da Rubisco, a taxa aparente de transporte de elétrons que contribuem para a reneração da RuBP e a condutância do mesófilo, enquanto que o dano causado por *P. viticola* na fotossíntese foi apenas ligado à redução da atividade da Rubisco.

Ambos os patógenos reduziram o acúmulo de carboidratos e a biomassa de raízes. Folhas infectadas com *P. euvitis* apresentam acúmulo de amido em regiões próximas às lesões, fato que já é conhecido para a interação *P. viticola* e *Vitis vinifera* e não foi estudado para o patossistema *P. viticola* e *V. labrusca*. A desfolha de mudas ocorreu apenas em mudas com sintomas de *P. euvitis*. A queda de bagas causadas por *P. viticola* foi a principal causa da redução da produção de plantas no campo.

O modelo de simulação Genecrop-P simulou satisfatoriamente os estádios de desenvolvimento de *Vitis labrusca* e a produção de biomassa. O modelo desenvolvido é simples e robusto e permite observar a dinâmica da biomassa da videira ao longo de vários anos, como mostrado em 20 anos de simulação no Capítulo 4. Os mecanismos de danos de *P. euvitis* e *P. viticola* foram incluídos no modelos e trabalhos de teste e avaliação do modelo de simulação com os danos acoplados ainda são necessários.

APÊNDICE

Figuras dos experimentos e metodologias utilizadas durante o desenvolvimento do trabalho

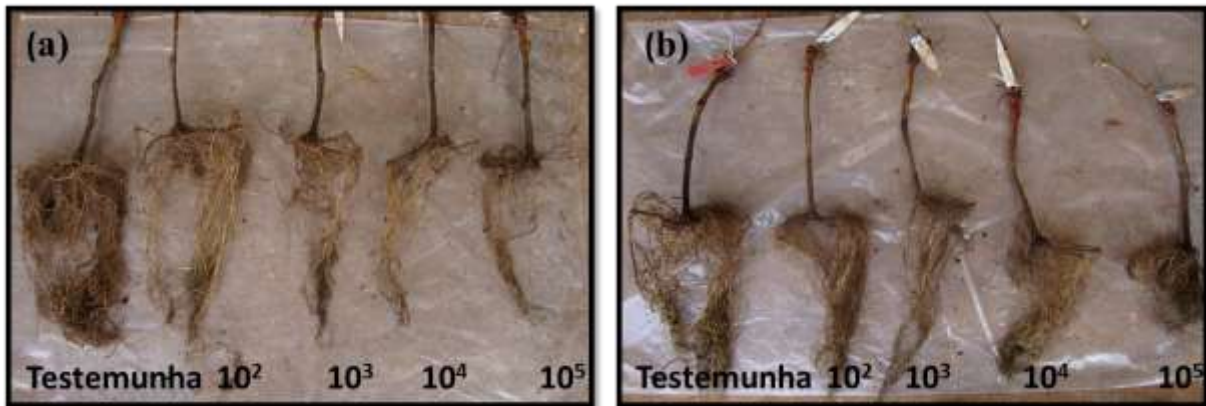


Figura 1 – Raízes de mudas de cv. Nigara Rosada 45 dias após a inoculação com diferentes concentrações de inóculo de *Phakopsora euvitis* (a) e *Plasmopara viticola* (b) e raízes de plantas sadias (Testemunha).

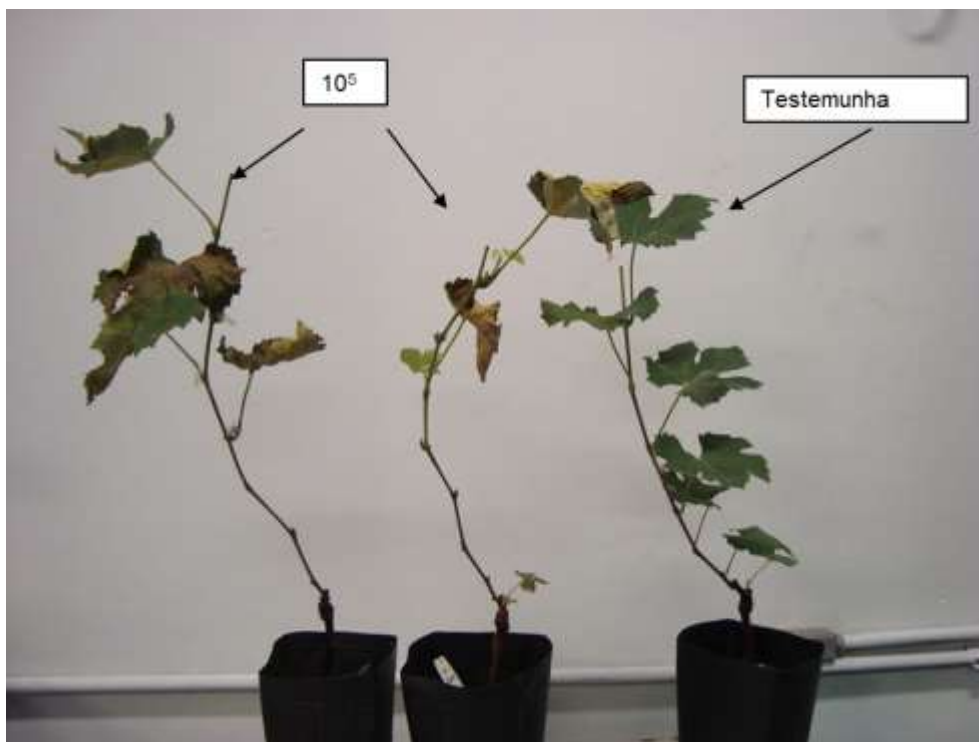


Figura 2 – Plantas com sintomas de ferrugem (*Phakopsora euvitis*) 45 após inoculação com 10^5 urediniosporos por mL^{-1} apresentando severa desfolha e plantas sadias (testemunha). Plantas apresentam a mesma idade: 2 meses e meio após a brotação.

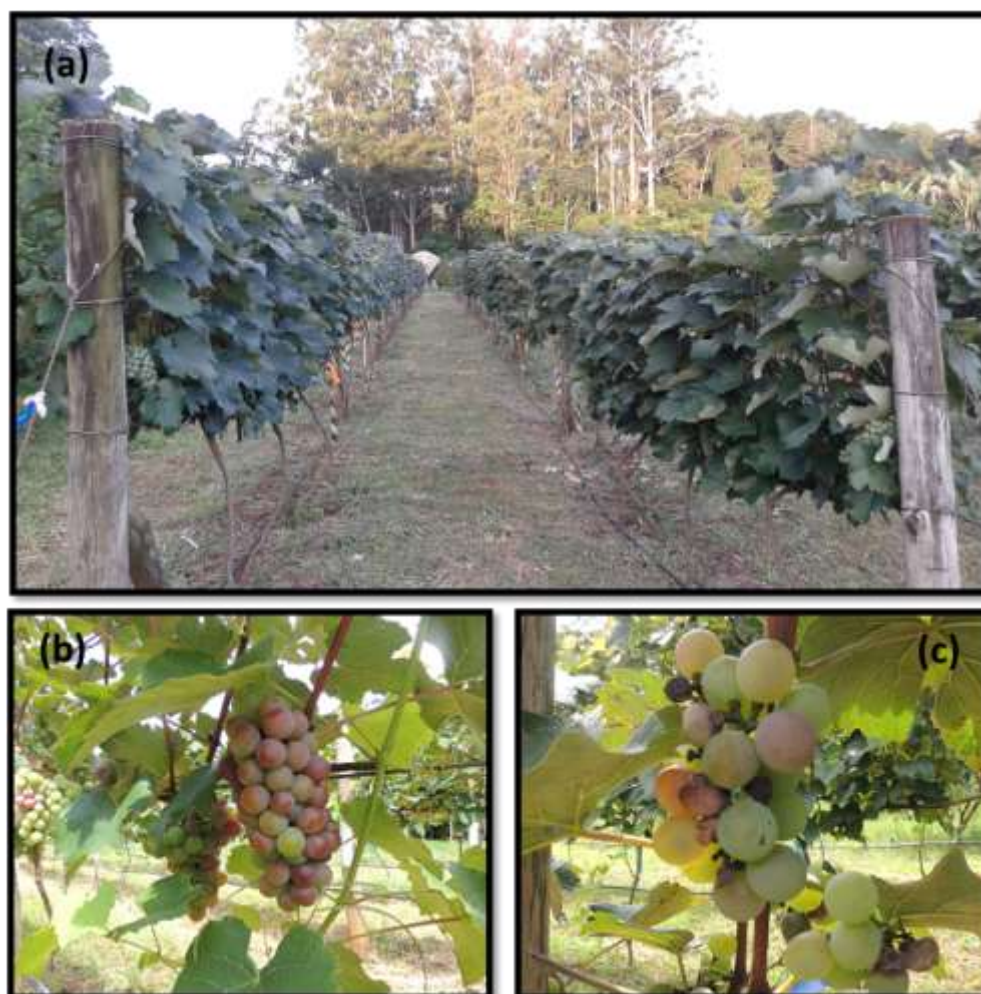


Figura 3 – Área experimental no Campus da ESALQ/USP, com videira cv. Niagara Rosada conduzida em sistema espaldeira (a). Cachos de plantas saudias (b) e cachos apresentando sintomas de infecção por *Plasmopara viticola* e com reduzido número de bagas.



Figura 4 - Detalhe do processo de escavação de plantas de cv. Niagara Rosada no campo experimental para a obtenção da massa de raízes e determinação dos teores de carboidratos nos diferentes órgãos das plantas (a). Planta no laboratório após lavagem das raízes (b).