

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

**Intensidade da ferrugem tardia em framboeseira relacionada a estresse
hídrico**

Raquel Rosa Ribeiro

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

**Piracicaba
2021**

Raquel Rosa Ribeiro
Engenheira Agrônoma

Intensidade da ferrugem tardia em framboeseira relacionada a estresse hídrico

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

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

Piracicaba
2021

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

Ribeiro, Raquel Rosa

Intensidade da ferrugem tardia em framboeseira relacionada a estresse hídrico / Raquel Rosa Ribeiro. - - Piracicaba, 2021.

84 p.

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

1. *Pucciniastrum americanum* 2. *Rubus idaeus* 3. Déficit hídrico 4. Escala diagramática 5. Parâmetros fotossintéticos I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais:

minha mãe Maria José por toda criação, ensinamentos, amor e inspiração;

meu pai Francisco pelo apoio, amor e suporte profissional.

Ao Diego por todo o amor, companheirismo, incentivo e suporte nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial a Maria José Ribeiro Rosa, Francisco de Assis Ribeiro e Raphael Rosa Ribeiro, pelo apoio em todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Marcel Bellato Spósito, pela orientação, ensinamentos e dedicação.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/Universidade de São Paulo pela estrutura e formação.

À Profa. Lilian Amorim pelos ensinamentos, auxílio e disponibilidade.

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

Aos professores do Departamento de Fitopatologia e Nematologia pelos ensinamentos e formação profissional.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia e Nematologia pelo suporte durante esses anos. À Sílvia Lourenço pelo auxílio no desenvolvimento do projeto e atividades no laboratório.

Aos amigos da salinha, Manoel Gonçalves, Pâmela Dutra, Leonardo Mataram, Jéssica de Jesus, Renan Fernandes, Isabela Primiano e Kelly Pazolini, pela amizade, risadas e trocas de conhecimento.

Ao grupo da framboesa, Márcia Dias, Ricardo Medina, Caio Barbosa e Jéssica de Jesus, pelo apoio e ensinamentos.

Aos meus amigos, Renata Potenza (Tór-q), Lethicia Corniani (Máfia), Ana Beatriz Navarro (Só-Breja), Nathalia Brancalleão (Ras-t-riña), Ariane Caldeira (Laráπa), Ana Luiza Galesi (Ralheo) e Julia Savieto (100-k-bça) pela descontração, amizade e apoio emocional.

Ao Diego pelo apoio em todos os momentos, carinho e companheirismo.

À República Forfé por toda a amizade, momentos alegres e de aprendizado. Todos esses anos não seriam os mesmos sem vocês.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro ao projeto.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro nos primeiros três meses do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro no último ano e nove meses do mestrado.

À todos que de alguma forma me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO GERAL	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. A FRAMBOESEIRA	11
2.2. PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE FRAMBOESAS	11
2.3. CARACTERIZAÇÃO DA CULTURA DA FRAMBOESEIRA	12
2.4. PRINCIPAIS DOENÇAS DA FRAMBOESEIRA	13
2.5. FERRUGEM TARDIA DA FRAMBOESEIRA	14
2.6. EPIDEMIOLOGIA DE DOENÇAS DE PLANTAS	15
2.7. ESCALA DIAGRAMÁTICA	16
2.8. EFEITO DE PATÓGENOS FOLIARES NAS TROCAS GASOSAS DE PLANTAS	17
2.9. ESTRESSES ABIÓTICOS EM PLANTAS	18
REFERÊNCIAS	20
3. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO MOLHAMENTO NO MONOCICLO DA FERRUGEM TARDIA EM FRAMBOESEIRA	29
RESUMO	29
ABSTRACT	29
3.1. INTRODUÇÃO	30
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.3. RESULTADOS	32
3.4. DISCUSSÃO	35
3.5. CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS	38
4. ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAÇÃO DA FERRUGEM TARDIA EM FRAMBOESEIRAS	41
RESUMO	41
ABSTRACT	41
4.1. INTRODUÇÃO	42
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	43
4.3. RESULTADOS	45
4.4. DISCUSSÃO	51
4.5. CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	53
5. INTERFERÊNCIA DA FERRUGEM TARDIA ASSOCIADA AO DÉFICIT HÍDRICO NO METABOLISMO PRIMÁRIO DE FRAMBOESEIRAS	59
RESUMO	59
ABSTRACT	59
5.1. INTRODUÇÃO	60
5.2. MATERIAIS E MÉTODOS	61
5.3. RESULTADOS	64
5.4. DISCUSSÃO	74
5.5. CONCLUSÕES	79
REFERÊNCIAS	79

RESUMO

Intensidade da ferrugem tardia em framboeseira relacionada a estresse hídrico

A framboeseira (*Rubus ideaus* L.) é uma planta perene de clima temperado, de interesse comercial crescente no Brasil. A framboeseira, entretanto, é suscetível à ferrugem tardia (*Pucciniastrum americanum*), principal doença da cultura no país. A presença de estresses abióticos, como seca e altas temperaturas, podem interferir na relação patógeno-hospedeiro. Apesar da importância da ferrugem tardia, existem poucos estudos sobre o patossistema *P. americanum* – *R. ideaus*. Os estudos desenvolvidos tiveram como objetivos (i) determinar, *in vitro*, as condições ambientais favoráveis para que ocorra a germinação de urediniósporos do fungo; (ii) desenvolver e validar uma escala diagramática para ferrugem tardia; e (iii) avaliar *in vivo* a influência do estresse hídrico na intensidade da ferrugem tardia e na fisiologia de framboesiras. A germinação de urediniósporos foi avaliada em diferentes temperaturas e períodos de molhamento. Os urediniósporos possuem uma ampla faixa de temperatura para germinação, desde 5 até 25 °C, com uma maior porcentagem de germinação entre 15 e 20 °C, e germinam a partir de 4 horas de molhamento, estabilizando após 12 horas. A escala diagramática foi elaborada com oito níveis de severidade e foram utilizadas duas abordagens para as análises estatísticas, regressão linear e análise de concordância de Lin. Em ambas as análises o uso da escala melhorou a precisão e a acurácia dos avaliadores nas estimativas da doença. Os experimentos referentes ao estresse hídrico foram conduzidos em casa de vegetação. Medidas de trocas gasosas e avaliações dos parâmetros epidemiológicos foram realizadas em mudas sob manejo hídrico controlado. Plantas com déficit hídrico apresentaram menor intensidade da doença, o que pode estar relacionado à penetração do patógeno, que ocorre exclusivamente por estômatos. O déficit hídrico reduziu os valores de trocas gasosas das plantas, não apresentando sinergismo com a ferrugem tardia. As plantas sem estresse hídrico tiveram as trocas gasosas reduzidas pela presença da ferrugem tardia. Essa redução pode estar relacionada à maior severidade da doença e maior área de lesão virtual ao redor das pústulas afetadas pelo patógeno.

Palavras-chave: *Pucciniastrum americanum*; *Rubus ideaus*; Escala diagramática; Estresse hídrico; Germinação *in vitro*; Fotossíntese

ABSTRACT

Intensity of late rust in raspberry tree related to water stress

The raspberry (*Rubus ideaus* L.) is a perennial plant with a temperate climate and a growing commercial interest in Brazil. This plant is susceptible to late leaf rust (*Pucciniastrum americanum*), the main crop disease in the country. The presence of abiotic stresses, such as drought or high temperatures, may interfere with this pathogen-host relationship. Despite the importance of late leaf rust, there are few studies on the *P. americanum* - *R. ideaus* pathosystem. The studies developed aimed (i) to determine, *in vitro*, the favorable environmental conditions to germination of urediniospores; (ii) to develop and validate a diagrammatic scale to assess late leaf rust; and (iii) to evaluate *in vivo* the influence of water stress on the intensity of late leaf rust and on the raspberries physiology. The urediniospores germination was evaluated at different temperatures and wetness duration. Urediniospores germination ranged from 5 to 25 °C, with a higher percentage of germination between 15 and 20 °C. Urediniospores germinate after 4 hours of wetness, stabilizing after 12 hours of wetness. A diagrammatic scale with eight levels of disease severity was developed and two approaches were used for statistical analysis, linear regression and Lin's concordance analysis. In both analyzes, the use of the scale improved the precision and accuracy of the raters in the estimates of the disease. The experiments related to water stress were conducted in a greenhouse. Gas exchange measurements and assessments of epidemiological variables were carried out in potted plants under controlled water management. Plants with water deficit showed lower disease intensity, which may be related to the penetration of the pathogen, which occurs exclusively through stomata. The water deficit reduced the gas exchange values of the plants, showing no synergism with late leaf rust. Plants without water stress presented reduced gas exchange due to the presence of late leaf rust. This reduction may be related to the greater severity of the disease and a greater area of virtual lesions around the pustules affected by the pathogen.

Keywords: *Pucciniastrum americanum*; *Rubus ideaus*; Diagrammatic scale; Water stress; *in vitro* germination; Photosynthesis

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo da framboeseira (*Rubus idaeus* L.) ocorre principalmente em regiões de clima temperado da Europa e América do Norte (FAO, 2020). No Brasil o plantio ainda é incipiente, mas vem aumentando devido ao alto valor agregado que a framboesa possui e a baixa oferta do fruto no mercado (Cortéz et al., 2019; Pagot & Hoffman, 2003). Dentre os estados brasileiros, o Rio Grande do Sul possui a maior área de produção do país, seguido por São Paulo e Minas Gerais (Maro et al., 2012; Abaurre et al., 2017; Caminiti et al., 2016).

As framboeseiras são suscetíveis a diversas doenças, sendo a ferrugem tardia, causada pelo fungo *Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arthur (Dodge, 1923; Arthur, 1929; Nickerson, 1991; Cortéz et al., 2019), a principal doença da cultura no Brasil (Caminiti et al., 2016). Essa doença pode causar redução de 30 a 100% da produção de framboesas (Funt & Ross, 2013). Os sintomas foliares causados pela ferrugem ocorrem normalmente em tecidos mais velhos e apresentam pequenas e numerosas pústulas formadas na face abaxial, que se tornam amarronzadas na senescência das folhas. Quando a severidade da doença é alta, pode ocorrer a redução da área fotossinteticamente ativa e causar a desfolha, o que inviabiliza a produção de frutos e o acúmulo de reservas no sistema radicular (Dolan et al., 2018; Cortéz et al., 2019). Em frutos, a doença pode causar a formação das pústulas em qualquer estágio do seu desenvolvimento, o que os tornam impróprios para a comercialização (Nickerson, 1991).

Além das doenças que causam danos as culturas, as plantas submetidas a estresses abióticos podem sofrer uma má execução dos processos fisiológicos, o que pode ocasionar um aumento na suscetibilidade dos tecidos ao ataque de patógenos (Medeiros et al., 2007; Ramakrishna & Ravishankar, 2011). A presença de estresses abióticos causados pelas mudanças climáticas vem sendo relatada e estará cada vez mais recorrente nas áreas agrícolas (Battisti & Naylor, 2009; Fuhrer, 2009; Wang & Frei, 2011). Relatos sobre mudanças climáticas apontam impactos em áreas de produção de framboesas (Graham et al., 2015). Apesar da planta possuir uma tolerância moderada ao déficit hídrico, quando esse estresse é prolongado, ocorre um decréscimo no desenvolvimento da planta e na produção dos frutos (Morales et al., 2013).

As mudanças climáticas também podem influenciar nos ciclos da relação patógeno-hospedeiro, principalmente na reprodução, disseminação e sobrevivência dos patógenos, o que pode causar mudanças na incidência e na severidade de doenças e culminar em sérias consequências econômicas e socioambientais (Coakley et al., 1999; Ghini, 2011). A associação entre estresses abióticos e bióticos, normalmente induz na planta uma resposta diferente da

apresentada quando há somente um tipo de estresse, o que pode causar um aumento da suscetibilidade ou da resistência da planta à doença (Rasmussen et al., 2013; Zhang & Sonnerwald, 2017). A restrição do fornecimento de água às plantas é um fator limitante ao desenvolvimento vegetativo e relevante na predisposição destas ao ataque de patógenos. Em condições de balanço hídrico inadequado, pode ocorrer um estresse na planta que afeta os processos fisiológicos, e que pode resultar em aumento da suscetibilidade do hospedeiro ao ataque de agentes patogênicos (Medeiros et al., 2007; Ramakrishna & Ravishankar, 2011).

Por mais que a ferrugem tardia da framboeseira seja a doença mais importante do cultivo no Brasil, existem poucos estudos envolvendo *R. ideaus* e a doença, incluindo informações referentes a sua etiologia e epidemiologia. Os efeitos da temperatura e molhamento foliar sobre o monociclo do patógeno são fatores ambientais que interferem tanto no processo de infecção pelo patógeno quanto na predisposição do hospedeiro para a ocorrência de doenças (Ramakrishna & Ravishankar, 2011). Dessa maneira, o trabalho tem como objetivo estudar o monociclo da ferrugem tardia em framboeseiras, além de avaliar a influência de estresses abióticos, pela limitação hídrica, na intensidade da doença, diante da perspectiva de plantio em novas áreas e de um cenário de mudanças climáticas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A framboeseira

A framboeseira (*Rubus idaeus* L.) pertence à família *Rosaceae*. O gênero *Rubus* possui centro de origem na China (Thompson, 1997; Gu et al., 1993) e apresenta uma elevada diversidade, possuindo mais de 700 espécies com um número de cromossomos de $x = 7$, além de níveis de ploidia que variam de diplóide a dodecaplóide (Jennings, 1988; Meng & Finn, 2002). As framboesas de valor comercial pertencem ao subgênero *Idaeobatus* (Foster et al., 2019). Este subgênero é composto pela framboesa europeia da espécie *R. idaeus* L. subsp. *idaeus*, de coloração vermelha, a framboesa norte-americana da espécie *R. idaeus* subsp. *strigosus* Michx., de coloração vermelha, e da framboesa norte-americana da espécie *R. occidentalis* L., de coloração preta (Graham & Brennan, 2018)

Na Europa a framboesa cultivada era a *Rubus idaeus* L. var. *idaeus*. No início do século XIX, com a introdução da framboesa norte-americana *Rubus idaeus* L. var. *strigosus* na Europa, muitos cruzamentos foram feitos, originando novos cultivares híbridos dessas duas espécies (Dale et al., 1989, 1993; Daubeny, 1983; Roach, 1985; Jennings, 1988; Raseira et al., 2004; Caminiti et al., 2016). A cultura da framboeseira começou a ser domesticada e reproduzida de maneira controlada na década de 1920, atingindo um número de 100 cultivares lançados entre 1981 e 2001 (Moore, 2008). A distribuição geográfica das framboesas pertencentes ao subgênero *Idaeobatus* ocorre principalmente no norte da Ásia, na África do Sul e Oriental, Europa, Austrália e América do Norte (Jennings, 1988).

2.2. Produção e comercialização de framboesas

O cultivo da framboeseira ocorre em todos os continentes, com destaque para a América do Norte e leste europeu, com uma produção mundial de 870 mil t (Cortéz et al., 2019). Os principais países produtores são a Rússia (165 mil t), México (130 mil t), Sérvia (127 mil t), Polônia (115 mil t) e Estados Unidos (99 mil t) (FAO, 2020). No Brasil, a cultura foi introduzida na região da serra da Mantiqueira, na cidade Campos do Jordão, estado de São Paulo, na década de 1950 (Raseira et al., 2004). Entre os principais estados produtores brasileiros de framboesa estão o Rio Grande do Sul, São Paulo, e Minas Gerais (Maro et al., 2012; Abaurre et al., 2017). O estado do Rio Grande do Sul tem a maior área de produção do país, na região de Vacaria, com

cerca de 150 hectares (Caminiti et al., 2016). Entretanto, a produção brasileira ainda é incipiente, não sendo suficiente para atender a demanda do mercado nacional (Sanhueza et al., 2016).

A framboesa possui um alto grau de perecibilidade na pós-colheita, sendo comercializada *in natura* somente em áreas mais próximas da sua produção. A maior parte da produção é comercializada na forma de polpa congelada, conservas, geleias, concentrados, sorvetes, sucos e iogurte (Raseira et al., 2004). O consumo de framboesa, assim como de outros pequenos frutos, vêm aumentando no Brasil devido aos seus altos valores sensoriais e componentes nutricionais, uma vez que são ricos em compostos fenólicos, vitamina C, vitaminas B6 e minerais, além de serem classificados como frutos dietéticos, com poucas calorias e uma maior porção de água (Souza, 2007; Giovanelli et al., 2014;). Seus compostos fenólicos possuem efeito antioxidante, anticancerígeno e anti-inflamatório (Liu et al., 2002).

2.3. Caracterização da cultura da framboeseira

A framboeseira é um arbusto que se desenvolve bem em solos profundos, úmidos e ricos em matéria orgânica. O sistema radicular é a parte perene da planta, sendo superficial, com raízes adventícias, e se desenvolve horizontalmente emitindo a cada ciclo de produção novas hastes que são chamadas de rebentos (Caminiti et al., 2016).

As cultivares de framboeseiras são divididas em dois grupos, as remontantes (ou de frutificação anual) e as não remontantes (ou de frutificação bienal) (Carew et al., 2000). Em cultivares consideradas remontantes a diferenciação floral das gemas ocorre durante o período de crescimento das hastes, ou seja, a produção se dá no mesmo ano da brotação e crescimento das hastes. Nas cultivares não remontantes, as hastes que brotam na primavera precisam passar pelo período de inverno do ano seguinte para induzir o florescimento, portanto, nesse caso, a produção ocorre somente um ano após a brotação das hastes (Oliveira et al., 2007). Nas cultivares não remontantes, no primeiro ano as hastes são vegetativas e denominadas primocanas, no segundo ano, quando florescem, as hastes são chamadas de floricanas. As hastes morrem no final da frutificação. As hastes vegetativas e frutíferas estão presentes na planta após a primeira safra, permitindo que os frutos sejam produzidos anualmente pela planta (Jennings, 2018).

A maior limitação de cultivo da framboeseira está relacionada a sua sensibilidade ao clima. Cultivares do grupo não remontante apresentam necessidade de 800 horas de frio, abaixo de 7°C, para a quebra de dormência de suas gemas (Buntain & Sparrow, 2012). As cultivares de framboeseiras do grupo remontante, como a cv. Heritage, quando plantadas em regiões com temperatura mais elevadas, vegetam continuamente não entrando em processo de dormência, ou

seja, as plantas não precisam passar por temperaturas baixas para quebra de dormência de suas gemas. Portanto, a framboeseira pode ser cultivada e apresentar bom desempenho em regiões subtropicais brasileiras, se for utilizado cultivares remontantes (Oliveira et al., 2004).

As flores da framboesa possuem cinco sépalas, cinco pétalas, um hipanto curto, de 60 a 90 estames, e um gineceu apocárpico de muitos carpelos em um receptáculo em forma de cone. Cerca de 60 a 80 ovários são produzidos e se desenvolve em drupeletes, formando um fruto agregado que se mantém juntos por fios quase invisíveis, unidos em um pequeno núcleo em formato cônico (Jennings, 1988). O fruto possui de 10 a 20 mm de diâmetro, com sabor doce ou ligeiramente ácido, de aroma peculiar. Há cultivares de framboesiras que produzem frutos de coloração amarela, negra e os mais conhecidos são os de cor vermelha (Raseira et al., 2004).

As principais cultivares plantadas no Brasil são ‘Autumn Bliss’, ‘Scepter’, ‘Batum’ e ‘Heritage’. A cultivar Heritage possui porte ereto e alto, variando entre 1,50 e 2,10 metros, é vigorosa, possui acúleos e perfilha facilmente. Essa cultivar é considerada suscetível à ferrugem tardia (Caminiti et al., 2016).

2.4. Principais doenças da framboeseira

Pragas e doenças podem afetar a cultura da framboeseira e resultar em perdas econômicas significativas, tanto pela redução na produção quanto pelos custos de implantação de medidas de controle. Essas perdas, em alguns casos podem chegar a ser de 100% da produção (Mitchel et al., 2018).

As plantas de framboesa são suscetíveis à infecção de diversos patógenos, que causam doenças como a podridão de raiz (*Phytophthora rubi*), antracnose (*Elsinoe veneta*, *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria* spp.), esporão (*Didymella applanata*), galhas (*Agrobacterium tumefaciens*), verticilose (*Verticillium dahlia*, *Verticillium albo-atrum*), mofo cinzento (*Botrytis cinerea*), e ferrugem tardia (*Pucciniastrum americanum*) (Pascoe et al., 1984; Shiow et al., 2010; Comeau et al., 2012; Raseira et al., 2004; Dolan et al., 2018). A incidência e severidade dessas doenças variam entre regiões de plantio devido a características específicas do hospedeiro e do ambiente (Dolan et al., 2018).

Existe uma série de medidas de manejo que podem ser utilizadas para mitigar a ocorrência dessas doenças, dentre elas o manejo químico é muito utilizado, embora sua eficácia seja limitada, além da possibilidade de ocorrer resistência do organismo alvo e de existir a pressão ambiental e do consumidor para redução do seu uso (Dolan et al., 2018). No Brasil não existem fungicidas registrados para a cultura da framboesa. Como alternativa no controle de

doenças, são utilizados produtos permitidos na agricultura orgânica, como a calda bordalesa, a calda Viçosa e desinfetantes à base de cloro (Caminiti et al., 2016). O uso de cultivares resistentes reduz significativamente a incidência de determinadas doenças, ou em certos casos dos seus vetores, assim como o plantio em substrato artificial pode ajudar a evitar a ocorrência de doenças transmitidas pelo solo, como podridão de raízes e alguns vírus transmitidos por nematoides do solo (Dolan et al., 2018). Outras medidas que visam a redução de incidência de doenças são: evitar a longa duração do molhamento das plantas, colheita frequente e cultivo protegido (Caminiti et al., 2016), assim como reduzir o período em que as plantas são mantidas produzindo comercialmente (Dolan et al., 2018).

2.5. Ferrugem tardia da framboeseira

Dentre as doenças que ocorrem em framboeseiras, a principal no Brasil é a ferrugem tardia (Caminiti et al., 2016), causada pelo fungo *Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arthur (Dodge, 1923; Arthur, 1929; Nickerson 1991; Cortéz et al., 2019). A doença pode causar redução de 30 a 100% da produção da cultura (Funt & Ross, 2013). A ferrugem tardia possui seu centro de origem na América do Norte, sendo considerada nativa do Canadá e dos Estados Unidos (Casa et al., 2010). No Brasil foi relatada pela primeira vez no município de Ibiúna-SP, em 2002 (Figueiredo et al., 2003).

A ferrugem tardia causa sintomas em folhas, pecíolos, ramos e principalmente em frutos. Em folhas a doença ocorre normalmente em tecidos mais velhos. Na face abaxial ocorre o aparecimento de pequenas e numerosas pústulas urediniais, que apresentam uma massa amarela pulverulenta de urediniósporos, que se tornam amarronzadas na senescência das folhas. Em casos de alta severidade, a doença reduz a área fotossinteticamente ativa e pode causar desfolha, o que inviabiliza a produção de frutos e reduz o acúmulo de reservas no sistema radicular (Arthur, 1929; Anderson, 1956; Conners, 1967; Dolan et al., 2018; Cortéz et al., 2019). As folhas muito jovens são menos suscetíveis a doença (Nickerson, 1991). A suscetibilidade à doença, também pode variar entre cultivares. Dentre as cultivares, a ‘Pocahontas’, ‘Ruby’, ‘Tola’ e ‘Trailblazer’ são tidas como resistentes (Hall et al. 2009; Nelson, 2011). Em frutos, a doença pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento, com a formação de pústulas, o que os tornam impróprios para a comercialização (Nickerson, 1991).

A ferrugem da framboeseira pertence ao gênero *Pucciniastrum*, da família Melampsoraceae, que juntamente com mais de 40 espécies heteroécias apresentam intensa distribuição no Hemisfério Norte (Figueiredo et al., 2003). *P. americanum* pertence à ordem Uredinales, e trata-se de uma espécie heteroécia e macrocíclica, que possui as fases

espemagonial e aecial em abeto branco (*Picea canadenses*), e as fases uredinial e telial em *Rubus* spp (Dodge, 1923; Nickerson, 1991). Por se tratar de uma ferrugem, o *Pucciniastrum americanum* é um patógeno biotrófico, e necessita de células vivas do hospedeiro para o seu desenvolvimento (Rezende et al., 2018).

O principal hospedeiro do *P. americanum* é a framboeseira (*Rubus idaeus*), sendo o abeto branco o hospedeiro alternativo e espécie amplamente utilizada no Canadá como quebra-vento. A ferrugem tardia pode ocorrer em framboesiras continuamente, mesmo em áreas sem a presença do abeto branco, como no Brasil, o que mostra não ser necessário, portanto, o hospedeiro alternativo para a sobrevivência do patógeno. Nesses casos, os micélios do fungo são capazes de hibernar nos tecidos da framboeseira e produzir urediniósporos, fonte primária de inóculo para uma nova infecção. Os urediniósporos podem ser disseminados pelo vento ou mecanicamente durante a colheita, e sua capacidade de infecção é mais elevada em ambientes com temperaturas entre 18 a 26 °C e alta umidade do ar (Conner, 1967; Nickerson, 1991; Sanhueza et al., 2016). A infecção ocorre quando os urediniósporos disseminados germinam e penetram na folha pelos estômatos, que em framboesiras estão localizados na parte abaxial da folha. O período de incubação é de aproximadamente uma semana, quando surgem as pústulas de cor amarelada, devido à presença dos urediniósporos (Nelson, 2011).

2.6. Epidemiologia de doenças de plantas

Segundo Zadoks & Schein (1979), epidemiologia é o estudo da população do patógeno associada à população do hospedeiro e do resultado dessa interação, que seriam os indivíduos doentes. Essa associação possui influência do ambiente e interferência humana (Bergamin Filho et al., 2018). Inserido na epidemiologia está o monociclo, que representa a ocorrência de uma série de eventos que se sucedem em uma geração do patógeno durante o desenvolvimento de doenças infecciosas (Amorim & Pascholati, 2018). Assim, o monociclo engloba todos os eventos que ocorrem, desde o primeiro contato entre o patógeno e o hospedeiro até a morte da lesão (Bergamin Filho et al., 2018). No estudo da doença quando se acrescenta o fator tempo ao monociclo, pode-se obter o período de incubação, que é o intervalo de tempo entre a inoculação e o aparecimento dos primeiros sintomas e o período de latência, que é intervalo de tempo entre a inoculação e o aparecimento de 50% das lesões (Bergamin Filho et al., 2018). Para a obtenção do período de latência é necessário levar em consideração o número de lesões esporulantes, sendo a contagem iniciada quando a primeira lesão esporular até o momento que não for observado mais um aumento no número de lesões por dois dias consecutivos (Webb & Nutter Junior, 1997).

O estudo dos componentes monocíclicos em condições controladas, como em câmaras de crescimento, permite avaliar a influência de fatores climáticos no desenvolvimento da doença de forma isolada. O isolamento de certos fatores ambientais, como temperatura, fotoperíodo e umidade, auxilia na compreensão do comportamento de patógenos foliares durante a infecção e colonização, fornecendo informações que explicam as ocorrências de epidemias no campo (Rotem, 1988; Dalla Pria et al., 2003; Papastamati et al., 2007).

As ferrugens, de modo geral, se desenvolvem em uma ampla faixa de temperatura. Na ferrugem da soja a germinação de *Phakopsora pachyrhizi* ocorre de 8 a 30 °C, com a máxima germinação entre as temperaturas de 15 e 25 °C (Alves, 2007). Em relação ao período de molhamento foliar, a ferrugem da soja necessita de pelo menos 6 horas de molhamento para que ocorra a infecção, atingindo o seu máximo após 10 a 12 horas de molhamento (Marchetti et al., 1976). Em ferrugens o período de molhamento foliar necessário para que ocorra a germinação dos esporos e penetração no tecido do hospedeiro é variável entre os patossistemas (Segato et al., 2006; Costa et al., 2007).

2.7. Escala diagramática

As escalas diagramáticas são representações ilustrativas de plantas ou parte de plantas, como frutos ou folhas, que apresentam sintomas em diferentes níveis de severidade, sendo úteis para a quantificação de doenças em avaliações no campo. O uso de escalas permite que as avaliações de severidade sejam mais precisas e corretas, reduzindo a subjetividade das estimativas entre os avaliadores e melhorando a acurácia e a precisão das avaliações (Costa et al., 2015; Madden et al., 2007; Bock et al., 2010). A severidade que corresponde a porcentagem de tecido hospedeiro lesionado é a variável mais apropriada para mensurar a intensidade de doenças foliares causadas por ferrugens (Dolinski et al., 2017; Amorim & Bergamin Filho, 2018).

Ao se formar uma escala diagramática é preciso levar em consideração alguns fatores, como os valores máximos e mínimos da severidade da doença observados em campo (Sterling et al., 2020). A representação deve ser a mais próxima possível à realidade dos níveis de severidade, respeitando os limites de acuidade visual humana, além de ser estatisticamente validado em termos de exatidão, precisão e confiabilidade (Campbell & Madden, 1990; Nutter et al., 2006; Madden et al., 2007). A precisão das avaliações leva em consideração o quão perto elas estão da severidade real, e a confiabilidade é o parâmetro responsável por analisar se diferentes avaliações sob a mesma condição da planta produzem resultados semelhantes (Madden et al., 2007; Bock et al., 2016).

Escalas diagramáticas precisam ser facilmente aplicáveis em diferentes condições e ter intervalos suficientes para representar os diferentes níveis de severidade de uma determinada doença (Campbell & Madden, 1990). O uso de uma escala diagramática validada para a avaliação de severidade de doenças auxilia na avaliação ao realizar estudos epidemiológicos, melhorando a compreensão da doença sob influência dos fatores ambientais e também em experimentos relacionados a níveis de resistência do hospedeiro (Martins et al., 2004; Maffia et al., 2016; Amorim & Bergamin Filho, 2018).

2.8. Efeito de patógenos foliares nas trocas gasosas de plantas

Os patógenos de plantas alteram processos fisiológicos do hospedeiro, como a taxa de fixação de CO₂, respiração, fotossíntese, translocação de água e nutrientes, transpiração e regulação do crescimento (Erickson et al., 2003; Lucas, 1998). Fungos biotróficos, como as ferrugens, possuem mecanismos de penetração e colonização mais especializados, o que diminui os danos causados nos tecidos foliares, o que resulta em uma redução mais amena das taxas fotossintéticas do hospedeiro, quando comparados aos fungos necrotróficos (Bassanezi et al., 2001; Shtienberg, 1992). A redução da fotossíntese causada pelas ferrugens, normalmente ocorre na área das pústulas e em regiões adjacentes, e mostra-se diretamente proporcional ao aumento da severidade. (McGrath & Pennypacker, 1990; Scholes & Farrar, 1987).

A fotossíntese é um processo físico-químico, no qual organismos eucariotos autotróficos utilizam a energia solar para formar compostos de carbono, por meio da oxidação de água, redução de CO₂ e liberação de oxigênio. Este processo ocorre de forma mais intensa no mesófilo das folhas, onde há muitos cloroplastos e pigmentos fotossintéticos, como as clorofilas a e b (Nogueira Júnior, 2016). Em plantas infectadas por fungos, a difusão de CO₂ no mesófilo pode ser afetada devido à obstrução dos espaços intercelulares causados pela presença e crescimento de hifas, além da hipertrofia de células (Scholes & Farrar, 1987).

As trocas gasosas, de CO₂, O₂ e vapor de água, ocorrem por meio dos estômatos, responsáveis por manter o balanço hídrico da planta estável. A presença de algum patógeno normalmente reduz a condutância estomática do hospedeiro, independentemente de sua relação trófica (Grimmer et al., 2012). A transpiração é o processo de saída de água na forma gasosa, que ocorre pelos estômatos. A liberação de vapor de água permite a manutenção do fluxo de nutrientes e regula a temperatura das plantas (Nogueira Júnior, 2016). Em folhas infectadas com ferrugem, a transpiração pode ser afetada pela formação de pústulas que rompem o tecido foliar (Shtienberg, 1992). Em algumas ferrugens, como *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* e *Puccinia*

sorgho, a ruptura da epiderme resulta em um aumento na transpiração das plantas (Shtienberg, 1992; Bassanezi et al., 2001).

Em folhas, ao redor das lesões causadas por patógenos, existe uma área verde em que a fotossíntese é nula, denominada de lesão virtual (Bastiaans, 1991). A lesão virtual foi observada e estimada em diversos patossistemas (Bassanezi et al., 2001; Robert et al., 2005; Gruber et al., 2012; Nogueira Júnior et al., 2017). Para patógenos biotróficos, normalmente essa área tende a ser reduzida, e, portanto, interfere pouco na fotossíntese que ocorre próximo às lesões, como foi observada em videiras com sintomas de míldio (*Plasmopara viticola*) (Moriondo et al., 2005). Entretanto, em outros patógenos biotróficos, como a ferrugem da videira, a fotossíntese pode ser afetada em áreas distantes das pústulas (Nogueira Júnior et al., 2017).

Além da redução da assimilação de CO₂, via fotossíntese, as áreas foliares afetadas por patógenos também podem apresentar desbalanço nas relações hídricas, alterações no metabolismo e na translocação de carbono (Russell, 1981). Para patógenos biotróficos também pode ocorrer limitações fotoquímicas e bioquímicas relacionadas à fotossíntese, como a redução da atividade da Rubisco (Bassanezi et al., 2002; Gamm et al., 2011; Nogueira Júnior et al., 2017).

A avaliação das variáveis fotoquímicas e bioquímicas da fotossíntese é realizada com equipamentos analisadores portáteis de gases no infravermelho (IRGA's) que são acoplados com câmaras de emissão de fluorescência que auxiliam nesse tipo de análise. Assim é possível obter medições de trocas gasosas e a emissão de fluorescência de clorofila em plantas (Nogueira Júnior, 2016; Gamm et al., 2011). As variáveis mais utilizadas por esse equipamento são as taxas de assimilação e liberação de CO₂, taxa de transpiração, concentração intercelular de CO₂ e a condutância estomática. Medidas de emissão de fluorescência fornecem informações sobre a atividade do fotossistema II e mudanças no metabolismo fotossintético de folhas doentes (Peterson & Aylor, 1995; Wright et al., 1995; Schnabel et al., 1998).

2.9. Estresses abióticos em plantas

Os estresses causados por fatores abióticos estarão cada vez mais recorrentes em áreas agrícolas (Battisti & Naylor, 2009; Fuhrer, 2009; Parry et al., 2004; Wang & Frei, 2011). As plantas submetidas a estresses abióticos podem apresentar uma má execução dos processos fisiológicos e morfológicos, o que pode resultar em alterações hormonais, inibição do crescimento, falhas na reprodução, além de aumentar a suscetibilidade dos tecidos ao ataque de patógenos (Medeiros et al., 2007; Ramakrishna & Ravishankar, 2011). As mudanças climáticas já estão impactando áreas de cultivo de framboeseiras, tornando imprevisíveis algumas

características fenotípicas, o que pode resultar em variações e falta de uniformidade nos principais estádios de desenvolvimento da cultura (Graham et al., 2015).

O estresse hídrico provoca o fechamento estomático e redução da transpiração (Glass et al., 2003; Kiziloglu et al., 2006). Com isso, ocorre a redução da fotossíntese e do acúmulo de carboidratos, o que resulta em limitações do crescimento geral da planta (Chaves & Oliveira, 2004; Flexas et al., 2004). A framboeseira possui uma tolerância moderada ao estresse hídrico, porém quando ocorre um déficit hídrico prolongado há uma redução no crescimento da planta e em sua produção (Morales et al., 2013).

Além de afetar o desenvolvimento das plantas, as mudanças climáticas podem exercer influência sobre diferentes fases da atividade do patógeno, como a reprodução, a disseminação e a sobrevivência, e sua interação com a planta hospedeira. Essas possíveis alterações podem resultar em significativas mudanças quanto à incidência e a severidade de doenças em plantas, culminando em sérias consequências econômicas e socioambientais (Coakley et al., 1999; Ghini, 2011).

Plantas submetidas à combinação de déficit hídrico e aumento de temperatura apresentam uma caracterização fisiológica com aspectos combinados de elevada transpiração, baixa fotossíntese, estômatos fechados e elevada temperatura foliar (Rizhsky et al., 2002). A associação entre estresses abióticos e bióticos, causado pela ação de algum agente patogênico, normalmente induz na planta uma resposta diferente da apresentada quando há somente um tipo de estresse (Rasmussen et al., 2013). Dentre as possíveis respostas que essa associação pode apresentar está o aumento da suscetibilidade ou da resistência da planta a um determinado patógeno (Zhang & Sonnerwald, 2017). Segundo Grimmer et al. (2012) a presença de ferrugens afeta o desempenho do hospedeiro em condições ambientais de déficit hídrico, uma vez que na formação de pústulas ocorre o rompimento da cutícula, comprometendo a retenção de água da planta que já está sob estresse. Em plantas de tabaco e *Arabidopsis*, altas temperaturas comprometem a resposta de defesa por hipersensibilidade a bactéria *Pseudomonas syringae* e a elicitores virais, resultando em um maior desenvolvimento desses patógenos (Wang et al., 2016).

Ao ocorrer simultaneamente estresse abiótico e biótico, o grau de complexidade de resposta da planta se altera e se torna mais elevado, uma vez que são tipos de estresse distintos sendo controlados por diferentes regiões e sinalizações hormonais. As interações entre essas sinalizações hormonais podem resultar na inibição ou agravamento de alguma delas (Anderson et al., 2004; Asselbergh et al., 2008). O estresse abiótico, em longo prazo, exige um gasto energético elevado da planta, enfraquecendo suas defesas, o que pode resultar em uma maior

suscetibilidade ao estresse biótico (Mittler & Blumwald, 2010). Apesar de se conhecer o efeito que estresses abióticos exercem sobre a fisiologia da planta (Pallioti et al., 2009; Mittler, 2006), existe um número reduzido de pesquisas sobre a interação entre estresse abiótico e biótico no efeito que a doença causa sobre a planta (Ramegowda & Senthil-Kumar, 2015; Zhang & Sonnewald, 2017).

REFERÊNCIAS

- Abaurre MEO, Zanuncio JS, Balbino JMS, Guarçoni RC, Costa H (2017) Framboesa: Cultivo e Pós-Colheita na Região Serrana do Espírito Santo. **Incaper** 3:26.
- Alves SAM (2007) Quantificação de parâmetros da pré-penetração e monocíclicos relacionados ao patossistema *Phakopsora pachyrhizi* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Amorim L, Pascholati SF (2018) Ciclo de relações patógeno-hospedeiro. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 45-70.
- Amorim L, Bergamin Filho A (2018) Fenologia, patometria e quantificação de danos. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 499-518.
- Anderson HW (1956) Diseases of Fruit Crops. **McGraw-Hill**, New York. 326-327.
- Anderson JP, Badruzsaufari E, Schenk PM, Manners JM, Desmond OJ, Ehlert C, Maclean DJ, Ebert PR, Kazan K (2004) Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate– ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in *Arabidopsis*. **The Plant Cell** 16: 3460–3479.
- Arthur JC (1929) Plant Rust. **F. H. Gibson Co**, Boston, 346-347.
- Asselbergh B, De Vieesschauwer D, Hofte M (2008) Global switches and fine-tuning—ABA modulates plant pathogen defense. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 21:709–719.
- Battisti DS, Naylor RL (2009) Historical warnings of future food insecurity with unprecedented seasonal heat. **Science** 323: 240–244.
- 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, Amorim L, Bergamin Filho A, Berger RD (2002) Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. **Journal of Phytopathology** 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.
- Bergamin Filho A, Amorim L, Willocque, L, Savary S (2018) Epidemiologia de doenças de plantas. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 71-84.
- Bock CH, Poole GH, Parker PE, Gottwald TR (2010) Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. **Critical Reviews in Plant Sciences** 29(2):59–107.
- Bock CH, Hotchkiss MW, Wood BW (2016) Assessing disease severity: accuracy and reliability of rater estimates in relation to number of diagrams in a standard area diagram set. **Plant Pathology** 65(2):261-272.
- Caminiti A, Silveira CAP, Antunes LEC, Potes ML, Pagot E (2016) Técnicas de produção de framboesa e mirtilo. Brasília: **Embrapa Clima Temperado**.
- Campbell CL, Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. New York: Wiley-Interscience, John Wiley & Sons.
- Carew JG, White J, Wainwright H, Brennen R, Battey N (2000) Techniques for manipulation of the annual growth cycle in raspberry. **The journal of horticultural Science and Biotechnology** 504-509.
- Casa RT, Kuhnem Junior PR, Bolzan JM, Bogo A, Kretzschmar AA, Rufato L, Macedo TAD (2010) Ferrugem em framboesa no estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Fruticultura** 32(3):916-920.
- Chaves M, Oliveira M (2004) Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany** 55:2365–2384.
- Coakley SM, Scherm H, Chakraborty S (1999) Climate change and plant disease management. **Annual Review oh Phytopathology** 37:399-426.
- Comeau C, Jean-Pierre P, Moreau G (2012) Beneficial impacts of the combined use of rain shelters and reflective groundcovers in an organic raspberry cropping system. **Agriculture Ecosystem & Environment** 155(1):117-123.

- Connors IL (1967) An annotated index of plant diseases in Canada. **Canada Department of Agriculture Publication** 1251: 3.
- Cortéz FAM, Chan-Cupul W, Nava MTB, Hernández-Ortega HA, Manzo-Sánchez G, Velasco EG (2019) Biological control of late leaf rust disease [*Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arthur] in raspberry (*Rubus idaeus* L.) using two biological products: *Bacillus subtilis* (Fungizard®) and *Larrea tridentata* botanic extract (CleanCrop®) under screenhouse conditions. **Idesia** 37(1):125-133.
- Costa ACT, Carvalho AO, Soares DJ, Carmo MGF, Pimentel C (2007) Condições de ambiente favoráveis à germinação e à infecção de *Puccinia substriata* var. *penicillariae* em diferentes cultivares de milho pérola. **Fitopatologia Brasileira** 32(5):400-407.
- Costa DA, Marouelli WA, Duarte H, Café-Filho AC (2015) Standard area diagrams for assessment of powdery mildew severity on tomato leaves and leaflets. **Crop Protection**, 67:26–34.
- Dale A, McNicol RJ, Moore PP, Sjulín TM (1989) Pedigree analysis of red raspberry. **Acta Hortíc** 262:35–39.
- Dalla Pria M, Amorim L, Bergamin Filho A (2003) Quantificação de componentes monocíclicos da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira** 28:401-407.
- Daubeny HA (1983) Expansion of genetic resources available to red raspberry breeding programmes. In: Proceedings of the 21st Horticultural Congress 1:150–155.
- Dodge O (1923) Morphology and host reactions of *Pucciniastrum americanum*. **Journal Agricultural Research** 24:885-894.
- Dolan A, MacFarlane S, Jennings SN (2018) Pathogens in Raspberry and Other *Rubus* spp. In: Graham J, Brennan R. Raspberry: breeding, challenges and advances. **Springer** 41-61.
- Dolinski MA, Duarte HSS, da Silva JJB, May De Mio LL (2017) Development and validation of a standard área diagram set for assessment of peach rust. **European Journal of Plant Pathology** 148(4):817–824.
- FAO (2020) FAOSTAT: Agricultural data. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 28 Outubro 2020.
- Figueiredo MB, Nogueira EMC, Ferrari JT, Aparecido CC, Hennen JF (2003) Ocorrência de ferrugem em framboesa no Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo 70:199-201.
- Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey TD (2004) Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology** 6:269–279.

- Foster TM, Bassil NV, Dossett M, Worthington ML, Graham J (2019) Genetic and genomic resources for *Rubus* breeding: a roadmap for the future. **Horticulture Research** 6:116.
- Fuhrer J (2009) Ozone risk for crops and pastures in present and future climates. **Naturwissenschaften** 96:173–194.
- Funt RC, Ross DS (2013) Soil and water management. In: Funt RC, Hall HK. ed. Raspberries. Crop Production Science in Horticulture series 23. **CAB International** 103-119.
- Erickson JE, Stanosz GR, Kruger EL (2003) Photosynthetic consequences of Marssonina leaf spot differ between two poplar hybrids. **New Phytologist** 161:577-583.
- Gamm M, Héloir MC, Bligny 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.
- Ghini R, Hamada E, Bettiol W (2011) Impacto das mudanças climáticas sobre as doenças de plantas. In: Ghini R, Hamada E, Bettiol W. Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente.
- Giovanelli G, Limbo S, Buratti S (2014) Effect of new packaging solutions on physico-chemical, nutritional and aromatic characteristics of red raspberries (*Rubus idaeus* L.). **Postharvest Biology and Technology** 98(1):72-81.
- Glass V, Percival D, Proctor J (2003) Influence of decreasing soil moisture on stem water potential, transpiration rate and carbon exchange rate of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) in a controlled environment. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology** 78(3),359–364.
- Graham J, Smith K, McCallum S, Hedley P, Cullen D, Dolan A, Milne L, McNicol J, Hackett C. (2015) Towards an understanding of crumbly fruit in red raspberry. **Springerplus** 4:223
- Graham J, Brennan R (2018) Introduction to the *Rubus* Genus. In: Graham J, Brennan R Raspberry: breeding, challenges and advances. **Springer** 1-16.
- Grimmer MK, Foulkes MJ, Paveley N (2012) Foliar pathogenesis and plant water relations: a review. **Journal of Experimental Botany** 63: 4321-4331.
- Gu Y, Zhao CM, Jin W, Li WL (1993) Evaluation of *Rubus* germplasm resources in China. **Acta Hort** 317–324.
- Hall HK, Hummer K, Jamieson AJ, Jennings SN, Weber CA (2009) Raspberry breeding and genetics. **Plant Breed Rev** 32:1–290.

- Jennings DL (1988) Raspberries and blackberries: their breeding, diseases and growth. **Academic**, London.
- Jennings SN (2018) Advances in *Rubus* Breeding. In: Graham J, Brennan R. Raspberry: breeding, challenges and advances. **Springer** 17-28.
- Kiziloglu FM, Sahin U, Tunc T, Diler S (2006) The effect of deficit irrigation on potato evapotranspiration and tuber yield under cool season and semiarid climatic condition. **Journal of Agronomy** 5:284–288.
- Liu M, Li XQ, Webber C, Lee CY, Brown J, Liu RH (2002) Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, 8(50):2926-30.
- Lucas JA (1998) Plant Pathology and Plant Pathogens. **BlackwellScience**, Oxford, UK.
- Madden LV, Hughes G, Van Den Bosch F (2007) The study of plant disease epidemics. **St. Paul: The American Phytopathological Society Press**.
- Maffia LA, Mizubuti ESG, Alfenas AC, Mafia RG (2016) Quantificação de doenças em planta. In: Alfenas AC, Mafia RG. (ed.) Métodos em fitopatologia. 2ª ed. Atual. e Ampl. Viçosa (MG); Ed. UFV 171-186.
- Maro, LAC. Pio R, Silva TC, Patto LS (2012) Ciclo de produção de cultivares de framboesiras (*Rubus idaeus*) submetidas à poda drástica nas condições do sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 34: 435-441.
- Marchetti MA, Melching JS, Bromfield KR (1976) The effects of temperature and dew period on germination and infection by uredospores of *Phakopsora pachyrhizi*. **Phytopathology** 66(4):464-463.
- Martins MC, Guerzoni RA, Câmara GM, de S, Mattiazzi P, Lourenço AS, Amorim L (2004) Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira** 29:179-184.
- McGrath MT, Pennypacker SP (1990) Alteration of physiological processes in wheat flag leaves caused by stem rust and leaf rust. **Phytopathology** 80: 677-686.
- Meng R, Finn CE (2002) Determining ploidy level and nuclear DNA content in *Rubus* by flow cytometry. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 127:223–227.
- Mittler R (2006) Abiotic stress, the field environment and stress combination. **Trends in Plant Sciences** 11: 1519.
- Mittler R, Blumwald E (2010) Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. **Annual Review of Plant Biology** 61:443–462.

- Moore PP (2008) *Rubus* spp. – red and black raspberry. In: Janick J, Paull RE (eds) The encyclopedia of fruit and nuts. **CABI**, Cambridge 751–757.
- Morales CG, Pino MT, del Pozo A (2013) Phenological and physiological responses to drought stress and subsequent rehydration cycles in two raspberry cultivars. **Scientia Horticulturae** 162:234-241.
- Moriondo 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.
- Nelson S (2011) Raspberry late leaf rust in Hawaii caused by *Pucciniastrum americanum*. **Plant Disease** 5.
- Nickerson NL (1991) Late leaf rust. In: Ellis MA, Converse RH, Williams R.N, Williamson B (Ed.). Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects. Saint Paul, **APS Press** 30-32.
- Nogueira Júnior AF (2016) Quantificação e modelagem de mecanismos de danos causados por *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara vitícola* em videira *Vitis labrusca* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Nogueira Júnior AF, Ribeiro RV, Appezzato-da-Glória B, Soares MK, Rasera JB, Amorim L (2017) *Phakopsora euvitis* causes unusual damage to leaves and modifies carbohydrate metabolism in grapevine. **Frontiers in Plant Science** 8:1675.
- Nutter FW, Esker PD, Coelho Netto RA (2006) Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. **European Journal of Plant Pathology** 156:827–837.
- Oliveira PB, Oliveira CM, Monteiro AA (2004) Pruning date and cane density affect primocane development and yield of 'Autumn Bliss' red raspberry. **HortScience** 39:520-524.
- Oliveira PB, Valdiviesso T, Esteves A, Mota M, Fonseca LL (2007) A planta da Framboesa. Morfologia e Fisiologia. **Folhas de divulgação AGRO** 556(1):5-16.
- Pagot E, Hoffman A (2003) Produção de pequenas frutas no Brasil. In: Seminário Brasileiro sobre pequenas frutas, Vacaria. Embrapa Uva e Vinho 64.
- Palliotti A, Silvestroni O, Petoumenou D (2009) Photosynthetic and photoinhibition behaviour of two fieldgrown grapevine cultivars under multiple summer stresses. **American Journal of Enology and Viticulture** 60:189-198.

- Papastamati K, Van Den Bosch F (2007) The sensitivity of the epidemic growth rate to weather variables, with an application to yellow rust on wheat. **Phytopathology** 97: 202-210.
- Parry ML, Rosenzweig C, Iglesias A, Livermore M, Fischer G (2004) Effects of climate change on global food production under SRES emissions and socio-economic scenarios. **Global Environmental Change** 14:53-54.
- Pascoe IG, Washington WS, Guy G (1984) White root rot of raspberry in Victoria is caused by a *Vararia* species. **The British Mycological Society** 82 (4): 723-726.
- Peterson RB, Aylor DE (1995) Chlorophyll fluorescence induction in leaves of *Phaseolus vulgaris* infected with bean rust (*Uromyces appendiculatus*). **Plant Physiology**. 108:163–171.
- Ramakrishna A, Ravishankar GA (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signalling & Behavior**. Austin – USA 6: 1720-1731.
- Ramegowda V, Senthil-kumarb M (2015) The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination. **Journal of Plant Physiology** 176: 47–54.
- Raseira MCB, Gonçalves ED, Trevisan R, Antunes LEC (2004) Aspectos técnicos da cultura da framboeseira. Pelotas: Embrapa Clima Temperado (Documento, 120) 22.
- Rasmussen S, Barah P, Suarez-rodriguez MC, Bressendorff S, Friis P, Costantino P, Bones AM, Nielsen HB, Mundy J (2013) Transcriptome responses to combinations of stresses in *Arabidopsis*. **Plant Physiology** 161: 1783–1794.
- Rezende JAM, Massola Jr NS, Bedendo IP (2018) Conceito de doença, sintomatologia e diagnose. In: Amorin L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 27-43.
- Rizhsky L, Liang H, Mittler R (2002) The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in Tobacco. **Plant Physiology** 130: 1143-1151.
- Roach FA (1985) Cultivated fruits of Britain: their origin and history. **Blackwell**, Oxford.
- Robert C, Bancal MO, 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.
- Rotem J (1988) Techniques of controlled-condition experiments. In: Kranz J, Rotem J. Experimental techniques in plant disease epidemiology. **Springer** 19-32.

- 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**.
- Thompson MM (1997) Survey of chromosome numbers in *Rubus* Rosaceae: Rosoideae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 84:128–164.
- Sanhueza RMV, Spósito MB, Roberto SR, Belasque Junior J (2016) Doenças de pequenos frutos. In: Amorin L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.2. 5a Ed., 577-581.
- Schnabel G, Strittmatter G, Noga G. (1998) Changes in photosynthetic electron transport in potato cultivars with different field resistance after infection with *Phytophthora infestans*. **Journal of Phytopathology** 146, 205–210.
- 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.
- Segato SV, Pinto AS, Jendiroba E, Nóbrega JCM (2006) Atualização em produção em cana-de-açúcar. Piracicaba: CP 415.
- Shiow YW, Chi-Tsun C, Jun-Jie Y (2010) Effect of allyl isothiocyanate on antioxidants and fruit decay of blueberries. **Food Chemistry** 120(1):199-204.
- Shteinberg D (1992) Effect of foliar diseases on gas exchange processes: A comparative study. **Phytopathology** 82(7):760–765.
- Souza MB (2007) Framboesa: qualidade pós-colheita. **Folha de Divulgação AGRO**, 556: 6.
- Sterling A, Gómez-Torres AK, Suárez-Córdoba YD, Loaiza-Molina LC, Sierra-Hayer JF (2020) Standard área diagrams to assess black crust (*Phyllachora huberi*) severity on rubber tree leaflets. **European Journal of Plant Pathology** 156:827–837.
- Wang Y, Bao Z, Zhu Y, Hua J (2016) Analysis of temperature modulation of plant defense against biotrophic microbes. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 22: 498–506.
- Wang Y, Frei M (2011) Stressed food – The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 141: 271-286.
- Webb DH, Nutter Junior FW (1997) Effects of leaf wetness duration and temperature on infection efficiency, latent period, and rate of pustule appearance of rust in alfalfa. **Phytopathology** 87(9):946–950.

Wright DP, Baldwin BC, Shephard MC, Scholes JD (1995) Source-sink relationships in wheat leaves infected with powdery mildew. II. Changes in the regulation of the Calvin cycle. **Physiological and Molecular Plant Pathology** 47:255–267.

Zadoks JC, Schein RD (1979) Monocyclic process in epidemiology. In: *Epidemiology and Plant Disease Management* 427.

3. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO MOLHAMENTO NO MONOCICLO DA FERRUGEM TARDIA EM FRAMBOESEIRA

RESUMO

A ferrugem tardia (*Pucciniastrum americanum*) é a principal doença da framboeseira no Brasil. Apesar da sua importância, existem poucas informações relacionadas a epidemiologia da doença. A determinação de condições ambientais favoráveis para a germinação de urediniosporos produzidos pelo patógeno é fundamental para a compreensão da doença e em seu manejo. Com o objetivo de determinar as condições ambientais favoráveis para a ocorrência da ferrugem tardia, foi avaliada *in vitro* a germinação de urediniosporos em diferentes temperaturas (2,5; 5; 10; 15; 20; 25 e 30°C) e períodos de molhamento (2, 4, 6, 12, 24 e 36 h). Os urediniosporos germinam em uma ampla faixa de temperatura, desde 5 até 25 °C, com uma maior porcentagem de germinação entre 15 e 20 °C. Os urediniosporos germinam a partir de 4 horas de molhamento e chega a máxima germinação após 12 horas em contato com água livre.

Palavras-chave: Monociclo *in vitro*; Ferrugem tardia da framboeseira; *Pucciniastrum americanum*; *Rubus ideaus*

ABSTRACT

Late leaf rust (*Pucciniastrum americanum*) is the main raspberry disease in Brazil. Despite its importance, there is little information related to the epidemiology of this disease. The determination of favorable environmental conditions for the germination of urediniospores produced by the pathogen is fundamental to understand the late leaf rust and its management. In order to determine the favorable environmental conditions for the occurrence of late leaf rust, the germination of urediniospores at different temperatures (2,5; 5; 10; 15; 20; 25 and 30°C) and wetness duration (2, 4, 6, 12, 24 and 36 h) were evaluated *in vitro*. Urediniospores germinated over a large temperature range, from 5 to 25 °C, with a higher percentage of germination between 15 and 20 °C. Urediniospores germinated after 4 hours of wetness and maximum germination occurred with 12 hours of wetness.

Keywords: *in vitro* monocycle; Late leaf rust in raspberry; *Pucciniastrum americanum*; *Rubus ideaus*

3.1. INTRODUÇÃO

A ferrugem tardia, causada pelo fungo *Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arthur (Dodge, 1923; Arthur, 1929), é a principal doença da cultura da framboeseira (*Rubus idaeus*) no Brasil (Caminiti & Pagot, 2016). A redução ocasionada pela doença pode atingir 100% da produção (Funt & Ross, 2013). A ferrugem tardia é caracterizada por causar sintomas em folhas, pecíolos, ramos e frutos. Em folhas, a doença forma pústulas na face abaxial de tecidos maduros, que ficam cobertos por pequenos e numerosos pontos de uma massa amarela pulverulenta de esporos (Arthur, 1929; Anderson, 1956; Conners, 1967). Em frutos, a doença pode formar pústulas em qualquer estágio do seu desenvolvimento, o que os tornam impróprios para a sua comercialização (Nickerson, 1991).

A ferrugem tardia é nativa da América do Norte, Canadá e Estados Unidos, e foi relatada no Brasil, pela primeira vez, no município de Ibiúna-SP, em 2002 (Figueiredo et al., 2003). Desde a sua constatação no país, poucas informações foram geradas sobre o patossistema *P. americanum* – *R. idaeus* para as condições brasileiras (Figueiredo et al., 2003; Caminiti & Pagot, 2016).

O estudo dos componentes monocíclicos tem como importância auxiliar no entendimento da influência dos fatores climáticos relacionados à estrutura e ao comportamento da doença no tempo e no espaço (Sache & Zadoks, 1995). Experimentos em condições controladas permitem o isolamento de certos fatores ambientais, como temperatura, fotoperíodo e umidade, o que permite estudar os patógenos foliares, como as ferrugens, quanto à germinação dos urediniosporos, durante a infecção e a colonização do patógeno, e para determinadas combinações desses fatores, fornecer informações que explicam as ocorrências de epidemias no campo (Rotem, 1988). Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar as condições de temperatura e do período de molhamento foliar necessárias para a germinação de urediniosporos de *Pucciniastrum americanum*, agente causal da ferrugem tardia da framboeseira.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos utilizando isolado urediniospórico monopustular de *Pucciniastrum americanum* obtido de *Rubus idaeus* procedente de Piracicaba, SP. O isolado monopustular foi caracterizado geneticamente e multiplicado em mudas de

framboesiras cv. Heritage, mantidas em casa de vegetação por 21 dias. Após esse período foi feito uma suspensão de urediniósporos coletados das folhas, na concentração de 10^4 urediniósporos mL^{-1} de água destilada, com auxílio de câmara de Neubauer. Três alíquotas de 70 μL da suspensão foram depositadas equidistantes entre si, em placas de poliestireno de 9 cm de diâmetro. As placas fechadas foram colocadas em caixas plásticas Gerbox[®] (11 x 11 x 3,5 cm) contendo uma folha de papel filtro e 30 mL de água destilada. As caixas plásticas foram mantidas em câmara de crescimento (Incubadora B.O.D/Fotoperíodo) ajustadas nas temperaturas de 2,5; 5; 10; 15; 20; 25 e 30 °C, no escuro. O processo de germinação dos urediniósporos foi interrompido, para cada temperatura, a 2, 4, 6, 12, 24 e 36 horas de molhamento, adicionando-se uma gota de lactoglicerol em cada gota de suspensão de urediniósporos. A contagem de urediniósporos germinados foi feita em microscópio óptico, com aumento de 100 vezes. Avaliou-se, em cada gota, a germinação de 100 urediniósporos escolhidos aleatoriamente. Considerou-se como germinado o urediniósporo que possuía o tubo germinativo de tamanho igual ou superior ao seu diâmetro.

Para cada combinação de temperatura e período de molhamento foram utilizadas quatro placas de poliestireno. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e cada placa de poliestireno constituiu uma unidade experimental. O experimento foi realizado duas vezes. Os resultados obtidos, referentes à temperatura na germinação de urediniósporos, foram analisados por meio de regressões não lineares, e ajustados ao modelo beta-generalizado (Bassanezi et al., 1998), descrito pela equação: $Y = Y_{ot} * \left(\frac{(T - T_{min})}{(T_{ot} - T_{min})} \right)^{Amp} * \left(\frac{(T_{max} - T)}{(T_{max} - T_{ot})} \right)^{Amp}$, em que Y corresponde a germinação dos urediniósporos, Y_{ot} a germinação máxima, T à temperatura ajustada, T_{min} à temperatura mínima, T_{ot} à temperatura ótima, T_{max} à temperatura máxima e Amp a amplitude da curva em sua faixa assintótica. Os dados do período de molhamento na germinação de urediniósporos foram analisados por meio de regressões não lineares e ajustados ao modelo monomolecular (Bergamin Filho, 2018), descrito pela equação $Y = Y_{ot} - (Y_{ot} - N_d) * \exp(-r * M)$, em que Y corresponde a germinação dos urediniósporos, Y_{ot} corresponde a germinação máxima, N_d é o nível inicial da germinação, r é a taxa de germinação em função do período de molhamento e M é a duração do período de molhamento.

Para a formação da superfície resposta, realizou-se a análise conjunta de ambas as variáveis ambientais (temperatura e período de molhamento) para a germinação de urediniósporos, ajustando os dados ao modelo beta-monomolecular, obtido pela multiplicação

dos modelos beta generalizado e monomolecular passando pela origem, $Z=Zot*\left(\frac{(T-Tmin)}{(Tot-Tmin)}\right)^{Amp*\left(\frac{(Tot-Tmin)}{(Tmax-Tot)}\right)*\left(\frac{(Tmax-T)}{(Tmax-Tot)}\right)^{Amp}}*(Yot-(Yot-Nd)*exp(-r*M))$, em que Z corresponde a germinação dos urediniósporos e Zot a germinação máxima. A análise de regressão e ajuste dos dados ao modelo foram realizados no programa Statistica 7.

3.3. RESULTADOS

A germinação dos urediniósporos de *Pucciniastrum americanum* variou entre 43 e 49% (Tabela 1). Os urediniospóros, independentemente do período de molhamento, não germinaram nas temperaturas extremas utilizadas no experimento, de 2,5 e 30 °C (Figura 1). A germinação dos urediniósporos ocorreu a partir de 5 °C e se estendeu até 25 °C, em todos os períodos de molhamento (Figura 1). A temperatura ótima para a germinação foi de 15 °C em todos os períodos de molhamento, exceto para 4 horas, que apresentou uma temperatura ótima de 17 °C (Tabela 1). A amplitude (Amp) do intervalo de temperatura ótima para a germinação de urediniósporos foi entorno de 2,5 °C para períodos de molhamento a partir de 6 horas e de 4,5 °C para o período de molhamento de 4 h (Tabela 1, Figura 1).

Tabela 1. Coeficientes de determinação (R^2) e parâmetros do modelo beta generalizado, $Y=Yot*\left(\frac{(T-Tmin)}{(Tot-Tmin)}\right)^{Amp*\left(\frac{(Tot-Tmin)}{(Tmax-Tot)}\right)*\left(\frac{(Tmax-T)}{(Tmax-Tot)}\right)^{Amp}}$, em que Y é germinação, T é a temperatura, Yot é o valor máximo para a germinação, Tot e Tmax são, respectivamente, as temperaturas ótima e máxima e Amp a amplitude da curva em sua faixa assintótica, ajustada à germinação de urediniósporos de *P. americanum* em placas de poliestireno.

Molhamento (horas)	Parâmetros				
	Yot	Tot	Amp	Tmax	R ²
4	0,430	17,471	4,570	30,040	0,92
6	0,445	15,462	2,734	30,000	0,93
12	0,483	15,319	2,371	30,001	0,90
24	0,473	15,531	2,440	30,002	0,90
36	0,494	15,611	2,381	30,003	0,89

Nas temperaturas extremas em que germinaram os urediniósporos de *P. americanum*, a 5 °C apenas 5% dos urediniósporos germinaram e a 25 °C apenas 4% germinaram (Tabela 2). As maiores germinações de urediniósporos ocorreram entre as temperaturas de 15 e 20 °C, com um valor médio de 40% (Tabela 2), A taxa de germinação de urediniósporos (r), também, foi maior para as temperaturas de 15 e 20 °C (Tabela 2). Para essas temperaturas, a

germinação dos esporos ocorreu com 4 horas e se estabilizou com 6 horas de molhamento, aproximadamente (Figura 2).

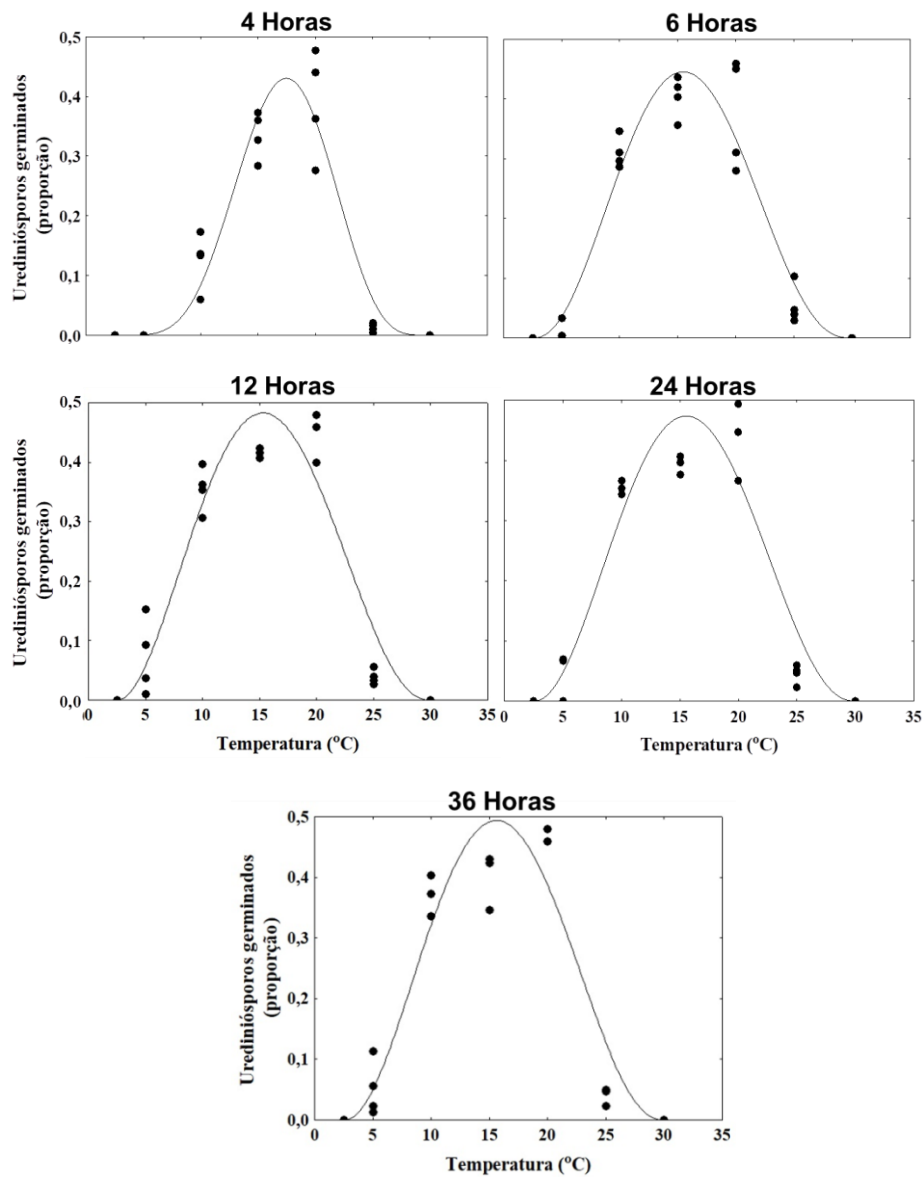


Figura 1. Curvas ajustadas para a proporção de urediniósporos de *P. americanum* germinados em função da temperatura para cada período de molhamento avaliado.

Para a superfície resposta relacionando temperatura e período de molhamento com a germinação de urediniósporos de *Pucciniastrum americanum*, pode-se observar um incremento na germinação a partir de 6 horas de molhamento e na faixa de temperatura entre 15 e 20 °C (Figura 3).

Tabela 2. Coeficientes de determinação (R^2), parâmetros do modelo monomolecular, $Y=Yot-(Yot-Nd)*\exp(-r*M)$ em que Y é germinação, Yot corresponde a germinação máxima, Nd trata-se do nível inicial da doença, r é a taxa de germinação em função do período de molhamento e M é o período de molhamento, avaliado para a germinação de uredinísporos de *P. americanum* em placas de Petri.

Temperatura (°C)	Parâmetros		
	Yot	r	R ²
5	0,051	0,192	0,28
10	0,364	0,336	0,93
15	0,408	0,883	0,97
20	0,399	1,791	0,80
25	0,045	0,463	0,49

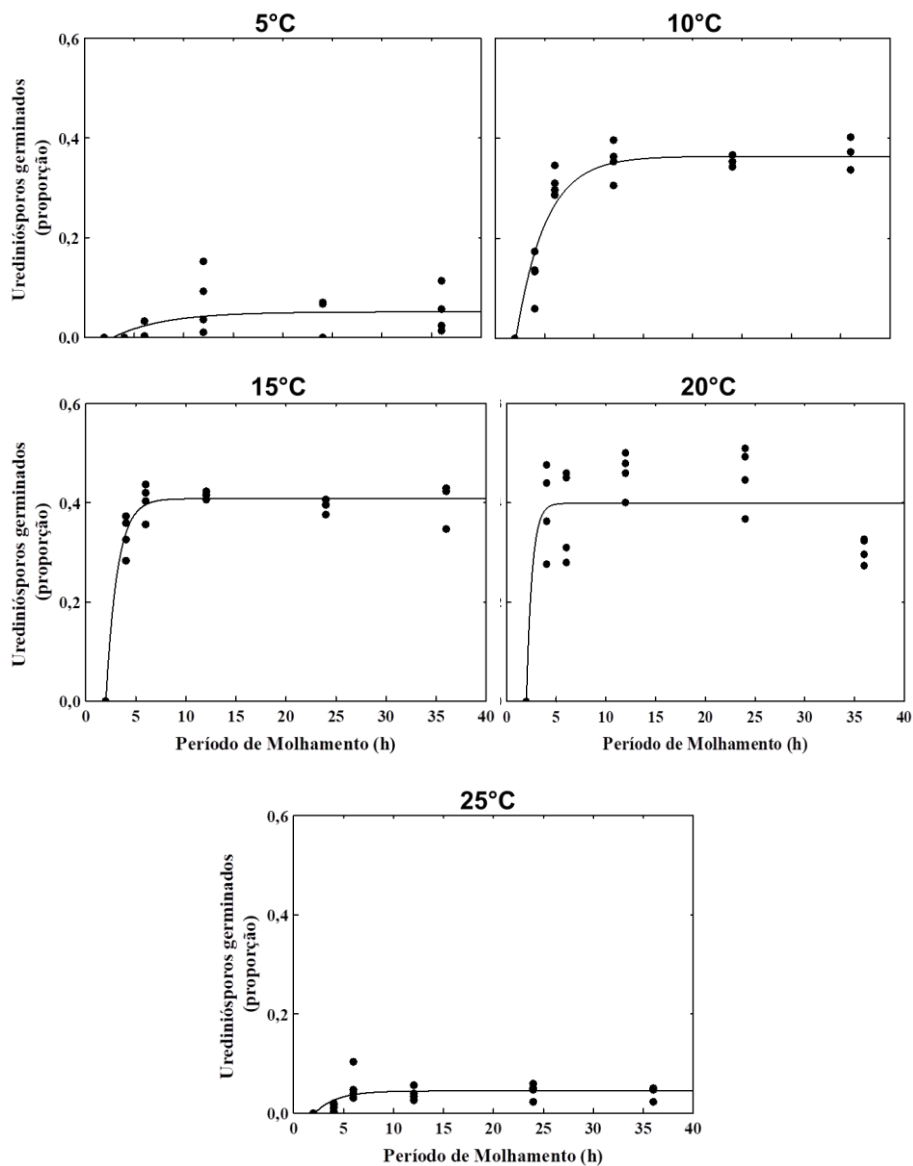


Figura 2. Curvas ajustadas ao modelo monomolecular para a proporção de urediniósporos de *Pucciniastrum americanum* germinados em função do período de molhamento para diferentes temperaturas.

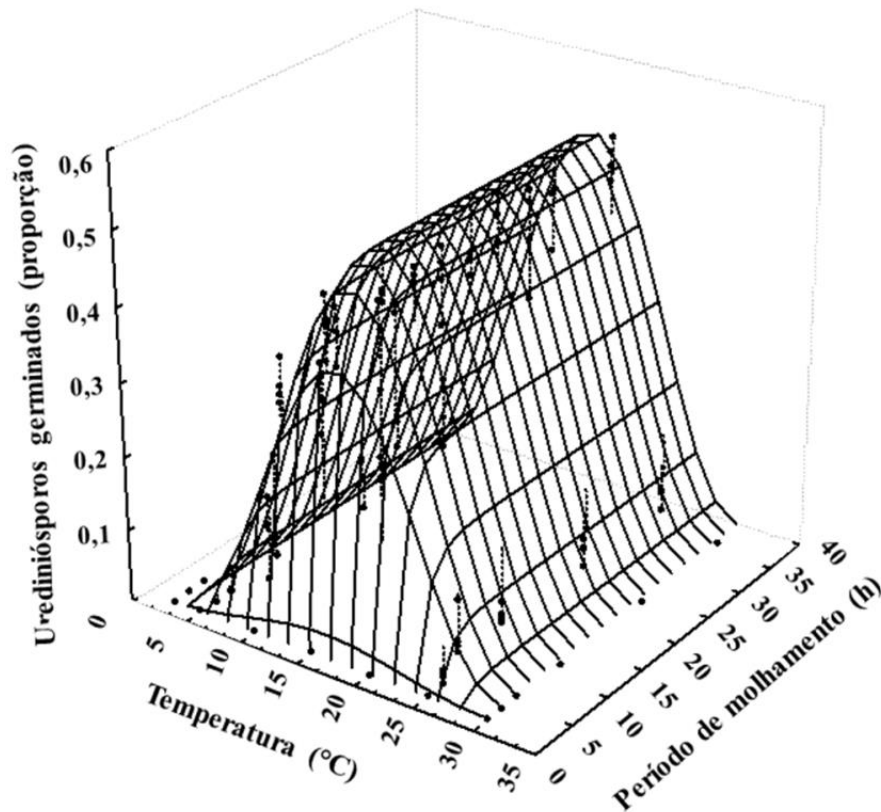


Figura 3. Superfície de resposta da proporção de esporos germinados de *P. americanum*, em função da temperatura e do período de molhamento, descrita pela equação $Y = (0,702) * (((T - 2,5) / (16 - 2,5))^{(2,594) * (16 - 2,5) / (30 - 16)}) * ((30 - T) / (30 - 16))^{(2,594)} * ((0,702) - ((0,702) - (-1,733)) * \exp(-0,622 * M))$, em que Y é germinação (proporção), T é a temperatura (°C) e M é a duração do período de molhamento (h).

3.4. DISCUSSÃO

Os estudos relacionados às condições climáticas que favorecem a germinação e desenvolvimento de patógenos permitem uma melhor compreensão da epidemiologia de doenças, o que pode auxiliar na elaboração de sistemas de previsão de epidemias, o que pode resultar no estabelecimento de medidas efetivas de controle de doenças (Leite & Amorim, 2002). No Brasil, existem poucos estudos relacionados ao patossistema *Pucciniastrum americanum* - *Rubus ideaus* (Fernandes & Alves, 2012; Figueiredo et al., 2003) e a

informações relacionadas ao monociclo da ferrugem tardia da framboeseira, que possam auxiliar no entendimento da epidemiologia da doença.

As variações de temperaturas e períodos de molhamento interferiram na germinação de urediniósporos de *Pucciniastrum americanum*. Assim como observado neste trabalho, a germinação máxima obtida por Luffman & Buszard (1989), em trabalho realizado no Canadá, e Fernandes & Alves (2012), no Rio Grande do Sul, ocorreu na temperatura de 20 °C. A germinação de urediniósporos de *P. americanum* ocorreu em uma ampla faixa de temperatura, entre 5 e 25 °C, porém com uma baixa porcentagem de germinação, 5%.

Essa amplitude de temperatura para a germinação de urediniósporos demonstra uma boa adaptabilidade do patógeno em diferentes condições climáticas. Essa mesma característica ocorre em ferrugens de plantas de clima temperado, como a ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis*) (Alves, 2015) e em ferrugens de plantas de clima tropical, como a cana-de-açúcar, em que os urediniósporos de *Puccinia kuehnii*, agente causal da ferrugem alaranjada, germinam nas temperaturas entre 10 e 25 °C (Martin, 2010) e para *Puccinia substriata* var. *penicillariae* em milho, onde a germinação ocorreu também entre 10 e 25 °C (Costa et al., 2007). A demonstração de que a germinação de *P. americanum* ocorre a uma ampla faixa de temperaturas, mostra a importância da ferrugem tardia da framboeseira no Brasil, de forma intensa, nas diferentes regiões produtoras.

O período de molhamento mínimo para a germinação ocorreu com 4 horas e a estabilização, nas temperaturas com maior germinação de urediniósporos, ocorreu com 6 horas. Fernandes & Alves (2012), observaram germinação de urediniósporos de *P. americanum*, com 2 horas de molhamento, começando a estabilizar com 4 horas. A duração do molhamento foliar é essencial no processo de infecção das ferrugens (Segato et al., 2006; Costa et al., 2007). Ferrugens em geral são doenças policíclicas e permitem realizar vários ciclos de infecção em uma mesma planta ou área, o que, combinado com um curto período de molhamento necessário para a germinação e consequentemente infecção, torna a *P. americanum* agressiva. Essa rápida germinação permite que o patógeno dependa menos das condições ambientais de molhamento para ter condições de infectar a planta, assim, a ocorrência de períodos favoráveis à infecção, mesmo que estes sejam extremamente curtos, pode resultar na intensidade da doença.

Para a *Puccinia substriata* var. *penicillariae*, os urediniósporos podem germinar com apenas 45 minutos de molhamento e atingir a taxa máxima de germinação antes de duas horas de molhamento (Costa et al., 2007). Em plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.), em condições ótimas de temperatura, 16 °C, 39% dos urediniósporos de *Puccinia recondita* germinaram em

uma hora de molhamento (Eversmeyer, 1988) Contudo, esse padrão não se repete para outras ferrugens. Para *Phakopsora euvitidis*, o período de molhamento foliar prolongado favorece a infecção, aumentando a porcentagem de germinação com o aumento do período de molhamento (Alves, 2015). Esse comportamento também foi observado por Capucho (2013) para a ferrugem do café (*H. vastatrix*), em que o aumento do período de molhamento resulta em uma maior germinação, mas há um ponto em que a capacidade infectiva não aumenta, estabelecida em 24 horas de molhamento. O fungo *Phakopsora pachyrhizi*, nas temperaturas de 15 e 17,5 °C, o mínimo de molhamento necessário para infecção é 10 e 8 horas, respectivamente (Marchetti et al., 1976). Como observado, o período de molhamento foliar necessário para ocorrer infecção varia entre as ferrugens, não obedecendo a uma regra.

Existe uma relação inversa entre a temperatura e o período de molhamento para a germinação de urediniósporos de *P. americanum*. Quando comparado os resultados de germinação de urediniósporos a 10 e 20 °C, pode-se observar que para a menor temperatura (10 °C) a germinação com 4 h de molhamento estava abaixo de 20% e se estabilizou no seu máximo somente em 12 horas. Para a temperatura de 20 °C, a germinação com 4 h já chegou ao máximo e se estabilizou. Portanto, em temperaturas mais altas o fungo precisa de menor tempo para germinar em relação a temperaturas mais baixas. Isso se torna evidente para esse patógeno que inicia a germinação com apenas 2 horas de molhamento. Com água livre disponível, vários processos relacionados às infecções das doenças, incluindo a germinação de esporos, ficam apenas dependentes da temperatura para seu estabelecimento (Bedendo et al., 2018).

Valores de amplitude próximos a zero indicam que existe uma ampla faixa de temperatura na qual a germinação permanece próximo ao valor máximo, enquanto que valores altos mostram que a faixa de temperatura ótima é mais estreita (Leite & Amorim, 2002). O maior período de molhamento de urediniósporos de *P. americanum* permitiu a redução da amplitude, indicando que a presença de água livre por um período de tempo mais prolongado permite que a germinação ocorra em uma maior faixa de temperatura.

No estudo observou-se a formação de dois ou mais tubos germinativos originários de um mesmo urediniósporo. O mesmo ocorre em *Hemilea vastatrix*, agente causal da ferrugem do cafeeiro, em que urediniósporos podem emitir dois ou três tubos germinativos simultaneamente (Kushalappa & Eskes, 1989). A presença de múltiplos tubos germinativos é uma estratégia que pode favorecer a infecção e aumentar a agressividade do patógeno (Babu et al., 2009).

3.5. CONCLUSÕES

A germinação de urediniósporos de *Pucciniastrum americanum* ocorre em uma ampla faixa de temperatura (5 a 25 °C), sendo a máxima germinação a 15 °C, e com baixo requerimento do período de molhamento, com início em 4 horas e estabilização a partir de 6 horas. Essa combinação de condições relacionadas ao clima favorecem a germinação dos urediniósporos e a possibilidade de infecção, sendo uma das razões que torna a cultura da framboeseira vulnerável a epidemias.

REFERÊNCIAS

- Alves RF. Ferrugem da videira: preservação de urediniósporos de *Phakopsora euvitis* e fatores relacionados à infecção do hospedeiro (Master dissertation, Universidade de São Paulo).
- Anderson HW (1956) Diseases of Fruit Crops. **McGraw-Hill**, New York. 326-327.
- Arthur JC (1929) Plant Rust. **F. H. Gibson Co** 346-347.
- Babu AM, Phillip T, Kariappa BK, Kamble CK (2009) Scanning electron microscopy of the infection process of *Cercospora henningsii* on cassava leaves. **Journal of Phytopathology** 157:57–62.
- Bassanezi RB, Amorim L, Bergamin Filho A, Hau B (1998) Effects of bean line pattern mosaic virus on the monocyclic components of rust and angular leaf spot of *Phaseolus* bean at different temperatures. **Plant Pathology** 47(3):289-298.
- Bedendo IP, Lilian A, Mattos-Jr D (2018) Ambiente e doença. In: Amorin L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 93- 103.
- Bergamin Filho A, Amorim L, Willocque, L, Savary S (2018) Análise temporal de epidemias. In: Amorin L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 519- 530.
- Caminiti A, Silveira CAP, Antunes LEC, Potes ML, Pagot E (2016) Técnicas de produção de framboesa e mirtilo. Brasília: **Embrapa Clima Temperado**.
- Capucho AS, Zambolim L, Cabral PGC, Maciel-Zambolim E, Caixeta ET (2013) Climate favourability to leaf rust in Conilon coffee. **Australasian Plant Pathol.** 42:511–514.
- Connors IL (1967) An annotated index of plant diseases in Canada. **Canada Department of Agriculture Publication** 1251: 3.

- Costa ACT, Carvalho AO, Soares DJ, Carmo MGF, Pimentel C (2007) Condições de ambiente favoráveis à germinação e à infecção de *Puccinia substriata* var. *penicillariae* em diferentes cultivares de milho pérola. **Fitopatologia Brasileira** 32(5):400-407.
- Dodge O (1923) Morphology and host reactions of *Pucciniastrum americanum*. **Journal Agricultural Research** 24:885-894.
- Eversmeyer MG (1988) Environmental influences on the establishment of *Puccinia recondita* infection structures. **Plant Disease** 72:409-412.
- Fernandes LAC, Alves SAM (2012) Efeito da temperatura e do período de molhamento na germinação de *Pucciniastrum americanum*. 10º Encontro de Iniciação Científica e 6º Encontro de pós-graduandos da Embrapa Uva e Vinho. 30.
- Funt RC, Ross DS (2013) Soil and water management. In: Funt RC, Hall HK. ed. Raspberries. Crop Production Science in Horticulture series 23. **CAB International** 103-119.
- Figueiredo MB, Nogueira EMC, Ferrari JT, Aparecido CC, Hennen JF (2003) Ocorrência de ferrugem em framboesa no Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo 70:199-201.
- Kushalappa AC, Eskes AB (1989) Advances in coffee rust research. **Annual Review of Phytopathology** 27(1):503-531.
- Leite RMVBC, Amorim L (2002) Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo da mancha de alternaria em girassol. **Fitopatologia Brasileira** 27(2):193-200.
- Luffman M, Buszard D (1989) A note on the susceptibility of six red raspberry cultivars and Tayberry to fruit infection by late yellow rust. **Phytoprotection** 71:93-95.
- Marchetti MA, Melching JS, Bromfield KR (1976) The effects of temperature and dew period on germination and infection by uredospores of *Phakopsora pachyrhizi*. **Phytopathology**, St. Paul 66(4):464-463.
- Martin TD (2010) Aspectos epidemiológicos da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Nickerson NL (1991) Late leaf rust. In: Ellis MA, Converse RH, Williams R.N, Williamson B (Ed.). Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects. Saint Paul, **APS Press** 30-32.
- Rotem J (1988) Techniques of controlled-condition experiments. In: Kranz J, Rotem J. Experimental techniques in plant disease epidemiology. Berlin: **Springer** 19-32.
- Sache I, Zadoks JC (1995) Life-table analysis of faba bean rust. **European Journal of Plant Pathology** 101:431-439.

Segato SV, Pinto AS, Jendiroba E, Nóbrega JCM (2006) Atualização em produção em cana-de-açúcar. Piracicaba: CP 415.

4. ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA AVALIAÇÃO DA FERRUGEM TARDIA EM FRAMBOESEIRAS

RESUMO

A ferrugem tardia (*Pucciniastrum americanum*) é a doença que mais afeta a produção de framboesas (*Rubus idaeus*) no Brasil. A adoção de critérios precisos na quantificação da doença auxilia a tomada de decisão para o seu manejo. Uma escala diagramática foi desenvolvida e validada para estimar a severidade da ferrugem tardia em folhas de framboeseira. A escala foi elaborada com oito níveis de severidade (0,2; 0,4; 0,9; 2,2; 5,1; 11,5; 23,9 e 43,2%). A validação foi realizada por 15 avaliadores não treinados, que fizeram as avaliações sem e com o uso da escala. Foram utilizadas duas abordagens para as análises estatísticas, o método de regressão linear e a análise de concordância de Lin. O resultado obtido, em ambas as análises, demonstrou que o uso da escala diagramática melhorou a precisão e a acurácia das estimativas da doença. Esta é a primeira escala diagramática desenvolvida e validada para avaliação da ferrugem tardia em framboeseira.

Palavras-chave: Fitopatometria; *Pucciniastrum americanum*; *Rubus* sp.; Escala diagramática

ABSTRACT

Late leaf rust (*Pucciniastrum americanum*) is the disease that most affects raspberry (*Rubus idaeus*) production in Brazil. The adoption of precise criteria for the quantification of the disease helps decision making for its management. A diagrammatic scale was developed and validated to estimate the severity of late rust on raspberry leaves. The scale was developed with eight levels of rust severity (0,2; 0,4; 0,9; 2,2; 5,1; 11,5; 23,9 e 43,2%). The validation was performed by 15 untrained raters, who made the evaluations without and with the use of the scale. Two approaches were used for statistical analysis, the linear regression method and Lin's concordance analysis. The result obtained, in both analyzes, demonstrated that the use of the diagrammatic scale improved the precision and accuracy of the disease severity estimation by the raters. This is the first diagrammatic scale developed and validated for the evaluation of late rust in raspberries.

Keywords: Phytopathometry; *Pucciniastrum americanum*; *Rubus* sp.; Diagrammatic scale

4.1. INTRODUÇÃO

A framboeseira (*Rubus idaeus* L.), pertence à família *Rosaceae*, e é uma das principais espécies exploradas economicamente do gênero *Rubus*. Os principais produtores mundiais dessa fruta são a Rússia (165 mil t), Estados Unidos (138 mil t), Polônia (129 mil t), México (113 mil t) e Sérvia (62 mil t) (FAO, 2020). No Brasil, a cultura da framboeseira ainda é incipiente, porém há grande potencial de crescimento das áreas de cultivo, devido à alta demanda e crescimento das importações dessa fruta pelo país (Barbosa et al., 2019).

A ferrugem tardia é causada pelo fungo *Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arthur (Dodge, 1923; Arthur, 1929; Nickerson, 1991; Cortéz et al., 2019). O principal sintoma da doença é o aparecimento de pústulas de cor amarela capazes de afetar todos os órgãos aéreos da planta. Em folhas, os sintomas ocorrem na face abaxial de tecidos mais velhos e seu desenvolvimento leva, entre outros fatores, a redução de área fotossinteticamente ativa, o que afeta drasticamente a fisiologia da planta (Arthur, 1929; Anderson, 1956; Connors, 1967). A ferrugem tardia afeta de forma diferente as cultivares de framboeseiras, que se comportam com diferentes graus de suscetibilidade à doença (Luffman & Buszard, 1989).

A variável mais apropriada para mensurar a intensidade de doenças foliares causadas por ferrugens é a severidade, que é quantificada pela porcentagem de tecido lesionado do hospedeiro (Kranz, 1988; Amorim & Bergamin Filho, 2018). As escalas diagramáticas são representações ilustradas de plantas ou parte de plantas que apresentam sintomas em diferentes níveis de severidade, sendo bastante úteis para a quantificação da doença em avaliações no campo. O uso de escalas diagramáticas reduz a subjetividade das estimativas de severidade melhorando a acurácia e a precisão das avaliações (Tovar-Soto et al., 2002; Martins et al., 2004; Bock et al., 2016; Del Ponte et al., 2017). A disponibilização de uma escala diagramática validada para a avaliação de severidade de doenças permite a realização de estudos epidemiológicos, auxiliando assim na melhor compreensão da doença sob influência dos fatores ambientais e na definição dos níveis de resistência do hospedeiro (Amorim & Bergamin Filho, 2018; Maffia et al., 2016; Martins et al., 2004). Portanto, devido a importância da ferrugem tardia da framboeseira e a falta de métodos específicos que auxiliem na sua quantificação, o trabalho teve como objetivo elaborar e validar uma escala diagramática para a doença.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Elaboração da escala diagramática

Folhas de framboeseiras naturalmente infectadas com diferentes níveis de severidade de ferrugem (*Pucciniastrum americanum*) foram coletadas em pomar comercial no município de São Bento do Sapucaí, São Paulo, Brasil (22°37'34.5"S 45°34'50.4"O). Pelo fato das framboeseiras possuírem folhas compostas, optou-se, para padronizar na quantificação da doença, utilizar somente os folíolos centrais. Os folíolos com sintomas foram individualmente fotografados com câmera digital (Canon EOS 1100D) instalada a 50 cm de distância. No total obteve-se 200 fotos de folíolos com diferentes níveis de área lesionada, cujas imagens foram tratadas com auxílio do software Adobe Photoshop® para a padronização do fundo.

A porcentagem de área com sintomas de ferrugem das folhas fotografadas foi quantificada pelo software Quant (Vale et al., 2003). Para isso, levou-se em consideração as áreas necrosadas e as áreas com pústulas da ferrugem. Dentre as 200 folhas fotografadas, a severidade mínima observada foi de 0,2 % e a severidade máxima de 43,2%. A partir dos valores máximo e mínimo encontrados, foram determinados seis valores intermediários de severidade com base em incrementos logarítmicos (Horsfall & Barratt, 1945; Horsfall & Cowling, 1978; Kranz, 1988; Bock et al., 2010). Após o estabelecimento das porcentagens de doença a serem utilizadas na escala, a representação gráfica foi baseada em um modelo padrão do folíolo central da folha de framboeseira com área conhecida. Com o uso do software Adobe Photoshop® foram acrescentados a esta área desenhos de pústulas de formatos variados, distribuídos de maneira a retratar os sintomas observados no campo, de acordo com as porcentagens obtidas para a escala. Do total de fotografias obtidas, 50 imagens de folhas com diferentes níveis de severidade quantificada foram selecionadas para auxiliar no processo de validação da escala diagramática.

Validação da escala diagramática

Para a validação da escala diagramática, 15 avaliadores quantificaram a severidade da ferrugem tardia a partir de 50 imagens de folhas de framboeseira com diferentes níveis de severidade de ferrugem, em duas fases. Na primeira fase os avaliadores estimaram a severidade sem o auxílio da escala diagramática. Na segunda fase, uma semana após a

primeira, os avaliadores estimaram a severidade da doença das mesmas imagens com o auxílio da escala.

A acurácia e a precisão da escala diagramática desenvolvida foram determinadas por meio de duas diferentes abordagens estatísticas, a regressão linear (Nutter Junior & Schultz, 1995), e a análise de concordância de Lin (Lin, 1989).

Regressão linear

Regressões lineares entre a severidade real (variável independente) e a severidade estimada (variável dependente) foram calculadas de acordo com a metodologia de Draper & Smith (1998) e Teng (1981), para cada avaliador, individualmente, e conjuntamente para todos os avaliadores. A acurácia foi determinada, para os dados conjuntos dos avaliadores, pelo teste *t* de Student aplicado aos valores dos parâmetros de intersecção (*a*) e coeficiente angular (*b*) da equação da regressão linear ($y=a+bx$). Os valores de *a* e *b* foram comparados a 0 e 1, respectivamente, a 5% de significância. A precisão das estimativas foi estimada pelo coeficiente de determinação da regressão linear (R^2) e pela variação dos resíduos (severidade estimada menos a severidade real) (Kranz, 1988; Campbell & Madden, 1990; Nutter Jr. & Schultz, 1995). A reprodutibilidade das avaliações entre os diferentes avaliadores foi testada por meio das regressões lineares onde tanto a variável dependente quanto a independente foram estimativas de diferentes avaliadores. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa STATISTICA 7 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

Análise de concordância de Lin

O método de Lin (*pc*) combina simultaneamente as medidas de precisão e acurácia, estabelecendo uma concordância entre as estimativas dos avaliadores sem e com o auxílio da escala diagramática (Lin, 1989). O coeficiente de correlação concordante de Lin (LCCC) representa a concordância entre conjuntos de observações da mesma amostra com a linha de concordância a 45° (Lin, 1989; Lin et al., 2002). A equação $\rho_c = C_b \times r$, representa efetivamente a combinação entre precisão e acurácia. O coeficiente de bias (C_b) está relacionado à acurácia e indica uma combinação ideal quando o seu valor é igual a 1. O coeficiente de correlação de Pearson (*r*) está relacionado à precisão e indica uma correlação perfeita quando seu valor é igual a 1, e avalia a dispersão dos valores da severidade estimada (*y*) e da severidade real (*x*) em relação a linha de tendência (Lin, 1989; Schwanck & Del Ponte, 2014). C_b é calculado a partir de μ e ν , em que 0 e 1, respectivamente, representam a

relação ideal entre a severidade real e a estimada (Schwanck & Del Ponte, 2014; Pereira et al., 2019). O parâmetro μ reflete as diferenças de altura entre a linha de tendência e a linha de concordância, tratando-se de uma medida de mudança de localização (Nita et al., 2003; Belan et al., 2020). O parâmetro ν mede a diferença na inclinação das linhas de tendência referentes aos valores estimados e aos valores reais (Nita et al., 2003). Desvios dos valores recomendados indicam viés, imprecisão e diminuição da acurácia (Lin et al., 2002; Nita et al., 2003; Madden et al., 2007, Bock et al., 2016).

A confiabilidade entre avaliadores, que mede a reprodutibilidade entre os avaliadores, foi determinada pelo coeficiente de determinação (R^2) e coeficiente de correlação intraclasse (ICC), baseado na variância estimada combinada para todos os avaliadores, sem e com o uso da escala, utilizando o modelo de análise de variância de dupla classificação e efeitos aleatórios (Nutter Junior & Schultz, 1995; Nita et al., 2003). Os intervalos de confiança estabelecidos em 95% ($\alpha=0,05$) foram baseados nas diferenças entre as médias dos parâmetros estatísticos de Lin para cada grupo, sem e com o uso da escala diagramática. Para esta análise, 10 mil amostras de *bootstrap* foram utilizadas, em que, se os intervalos de confiança incluíam 0, a diferença não era significativa. (Yadav et al., 2013; Schwanck & Del Ponte, 2014). A estatística pelo método de Lin foi realizada utilizando o software RStudio v. 1.2.1335 (RStudio Team, 2018), com a função `epi.ccc` no pacote `epiR` (Stevenson et al., 2017). O coeficiente de correlação intraclasse (ICC) foi determinado utilizando a função `icc` no pacote `irrR` (Gamer et al., 2012).

4.3. RESULTADOS

Elaboração da escala diagramática

Para abranger a amplitude da severidade da ferrugem da framboeseira observada no campo, a escala diagramática sugerida foi elaborada com oito níveis de severidade, sendo esses: 0,2; 0,4; 0,9; 2,2; 5,1; 11,5; 23,9 e 43,2% (Figura 1). As fotos representam o folíolo central das folhas de framboesa que podem variar de um, três ou cinco folíolos, dependendo da cultivar e espécie de framboeseira. A representação dos folíolos retrata a superfície abaxial das folhas, local onde as pústulas de *Pucciniastrum americanum* são visíveis.

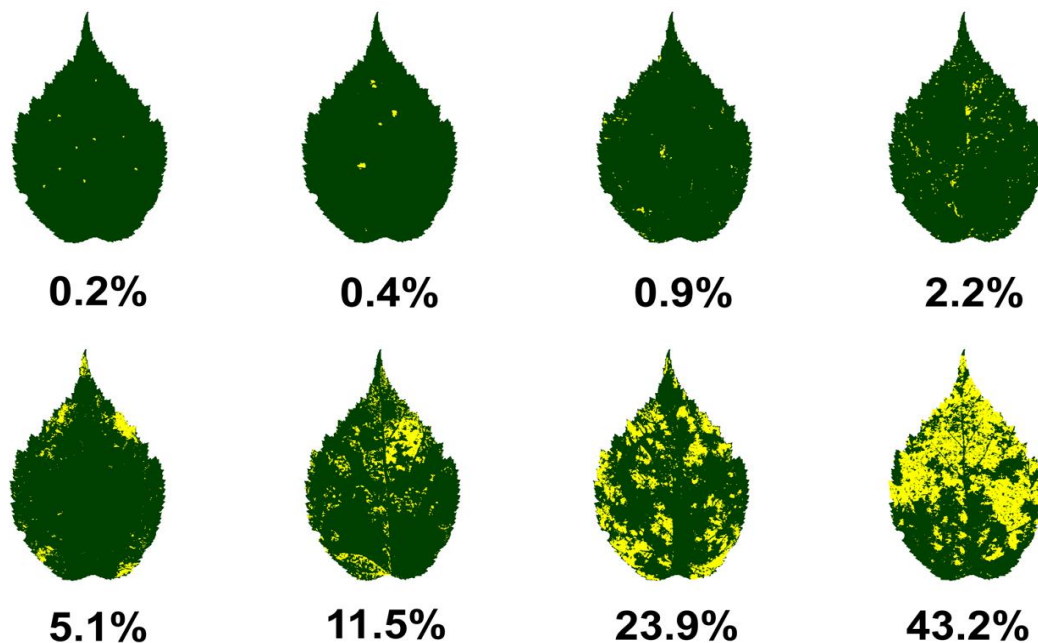


Figura 1. Escala diagramática para avaliação da severidade da doença da ferrugem tardia (*Pucciniastrum americanum*) em folhas de framboeseira (*Rubus idaeus*). As manchas em amarelo representam os sintomas causados pelas pústulas do patógeno que podem ser encontradas em todos os folíolos.

Validação pela regressão linear

A análise dos parâmetros da regressão linear demonstrou que houve o aumento da acurácia e da precisão quando a escala diagramática foi utilizada para avaliar a severidade da doença. Sem o uso da escala, o parâmetro interseção (a) foi diferente de 0, para oito avaliadores e o coeficiente angular (b) foi diferente de 1, para 11 avaliadores do total de 15 participantes (Tabela 1). As avaliações sem escala indicaram que as estimativas de severidade da ferrugem foram majoritariamente superestimadas (Figura 2A). Quando a escala diagramática foi utilizada para realizar as estimativas, os parâmetros a e b demonstraram uma melhora significativa na acurácia, posto que todos os valores de intersecção não foram diferentes de 0 e apenas 4 avaliadores tiveram o coeficiente angular diferente de 1 (Tabela 1). A melhora da acurácia também é observada pela aproximação da linha de tendência dos valores estimados à linha de concordância para a severidade da ferrugem da framboeseira (Figura 2B).

Tabela 1. Interseção (a), coeficiente angular (b) e coeficiente de determinação (R^2) das equações de regressão linear entre a severidade real e a severidade estimada da ferrugem tardia da framboeseira (*Pucciniastrum americanum*). $y = a + bx$, em que y representa a severidade estimada e x , a severidade real. Estimativas realizadas por 15 avaliadores, individualmente e em conjunto, sem e com o uso de escala diagramática.

Avaliadores	Sem escala			Com escala		
	a	b	R^2	a	b	R^2
1	4,17 ^{ns}	0,99 ^{ns}	0,61	2,62 ^{ns}	0,74 [*]	0,76
2	6,73 [*]	1,83 [*]	0,70	0,07 ^{ns}	1,11 ^{ns}	0,72
3	0,09 ^{ns}	1,74 [*]	0,82	0,40 ^{ns}	1,17 ^{ns}	0,77
4	11,97 [*]	1,36 ^{ns}	0,53	3,32 ^{ns}	1,16 ^{ns}	0,75
5	5,28 ^{ns}	1,40 ^{ns}	0,38	0,51 ^{ns}	1,03 ^{ns}	0,79
6	3,12 ^{ns}	1,72 [*]	0,55	3,24 ^{ns}	0,97 ^{ns}	0,66
7	23,12 [*]	1,95 [*]	0,46	1,67 ^{ns}	1,39 [*]	0,82
8	15,72 [*]	1,96 [*]	0,52	-1,54 ^{ns}	1,04 ^{ns}	0,65
9	14,44 [*]	1,65 [*]	0,45	4,02 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,63
10	4,19 [*]	1,17 ^{ns}	0,78	0,67 ^{ns}	0,72 [*]	0,72
11	16,89 [*]	1,99 [*]	0,49	3,34 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,71
12	3,66 ^{ns}	2,26 [*]	0,61	0,66 ^{ns}	1,21 ^{ns}	0,73
13	0,71 ^{ns}	2,04 [*]	0,71	0,55 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,66
14	9,58 [*]	1,56 [*]	0,76	3,16 ^{ns}	0,77 [*]	0,73
15	0,36 ^{ns}	1,64 [*]	0,71	3,94 ^{ns}	1,02 ^{ns}	0,70
Todos	8,00 [*]	1,68 [*]	0,60	1,78 [*]	1,02 [*]	0,72

R^2 : Coeficiente de determinação para as equações de regressão linear; a, b : parâmetro interseção e coeficiente angular da equação de regressão linear, respectivamente. Teste-t ($p=0,05$) foi utilizado nestes parâmetros. ns: sem diferença significativa, aceitando a hipótese nula ($a = 0$ e $b = 1$); *: hipótese nula foi negada.

O coeficiente de determinação (R^2) indicou que os avaliadores foram mais precisos em suas estimativas com o uso da escala. Embora o limite superior de R^2 de ambas as avaliações tenha sido o mesmo sem o auxílio da escala (0,82), metade dos avaliadores teve o R^2 abaixo de 0,60. Quando a escala foi utilizada, o valor mínimo para o R^2 foi 0,68, indicando a melhora na precisão das estimativas (Tabela 1). Essa melhora da precisão também pode ser notada ao comparar a dispersão dos valores de erro absoluto das avaliações sem escala (Figura 2C) e com o uso da escala (Figura 2D), em que os valores estão mais próximos da linha em que o erro absoluto é igual a 0.

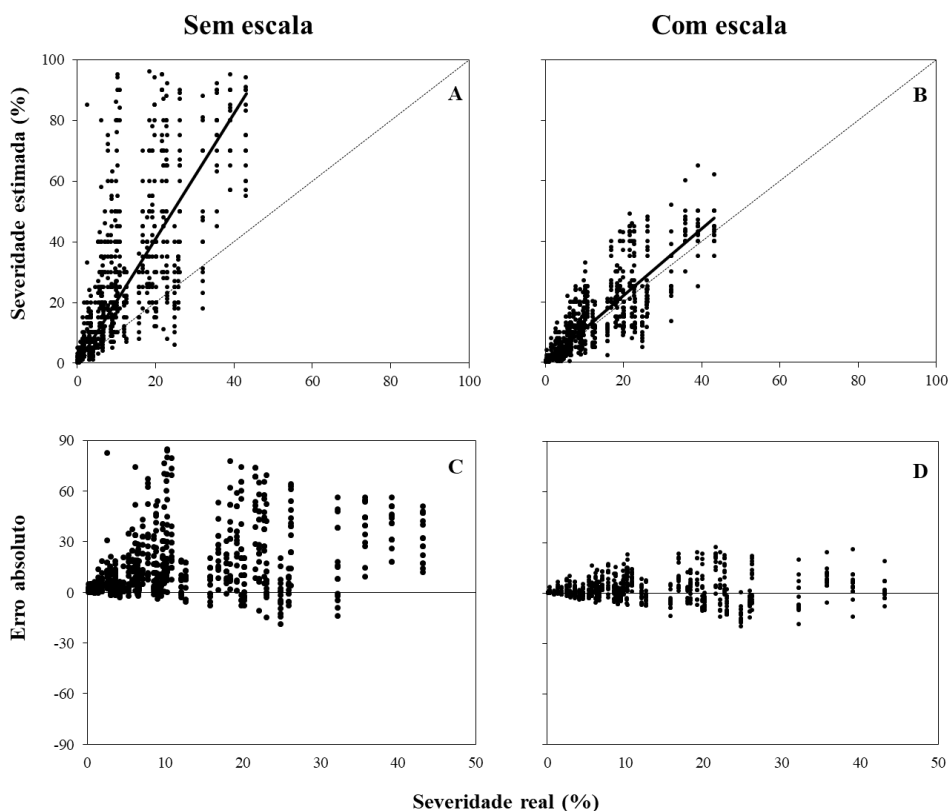


Figura 2. Relação entre severidade real e a severidade estimada da ferrugem tardia da framboeseira (*Pucciniastrum americanum*) estimada por 15 avaliadores em um total de 50 folhas ($n=750$) sem (A) e com (B) o uso da escala diagramática. Os pontos referem-se às estimativas de cada avaliador. A linha sólida representa a linha mais adequada. A linha pontilhada representa a linha de concordância, $a=0$ e $b=1$. O erro absoluto (severidade estimada menos a severidade real) da quantidade de doença estimada pelos mesmos avaliadores sem (C) e com (D) o uso da escala diagramática.

Validação pela análise de concordância de Lin

O método de Lin mostrou melhoria significativa em todos os parâmetros avaliados para as estimativas dos avaliadores quando a escala diagramática foi utilizada. Com o auxílio da escala, os parâmetros v e μ aproximaram-se de 1 e 0, respectivamente, o que representa uma melhor concordância com os valores reais (Tabela 2). Com o uso da escala, o coeficiente de bias (C_b), que representa a acurácia, e o coeficiente de Pearson (r), que representa a precisão, foram próximos de 1. Conseqüentemente, quando combinados para compor o LCCC (ρ_c), também apresentou um melhor resultado ($\rho_c=0,80$), quando comparado ao LCCC das estimativas realizadas sem o uso da escala diagramática ($\rho_c=0,44$). Além de todos os parâmetros terem apresentado diferença significativa conforme o intervalo de confiança, os valores do desvio padrão para as médias com o uso da escala diminuíram (Tabela 2).

Tabela 2. Análise estatística de Lin para a severidade da ferrugem tardia da framboeseira (*Pucciniastrum americanum*) estimada por 15 avaliadores sem e com o auxílio da escala diagramática.

Estatística de Lin ^a	Médias ^f		95% IC ^g
	Sem escala	Com escala	
v^a	2,21 (0,50)	1,21 (0,19)	-1,27 e -0,72
μ^b	1,06 (0,46)	0,17 (0,22)	-1,15 e -0,63
C_b^c	0,56 (0,18)	0,94 (0,05)	0,29 e 0,47
r^d	0,77 (0,08)	0,85 (0,03)	0,02 e 0,12
LCCC (ρ_c) ^e	0,44 (0,17)	0,80 (0,04)	0,27 e 0,44

^a Variável v (1= relação ideal entre severidade estimada e real). ^b Variável μ (0= relação ideal entre severidade estimada e real). ^c Coeficiente de bias (1= relação ideal entre severidade estimada e real), medida de acurácia baseado em v e μ . ^d Coeficiente de Pearson (1= relação ideal entre severidade estimada e real), medida de precisão. ^e Coeficiente de concordância de Lin (1= relação ideal entre severidade estimada e real), combina r e C_b dando a concordância. ^f Desvio padrão em parênteses. ^g Intervalo de confiança (IC) baseado em 10 000 amostras *de bootstrap*. Se os intervalos de confiança incluem 0, a diferença não é significativa ($p=0.05$).

Reprodutibilidade das estimativas

Os dois métodos utilizados para avaliar a confiabilidade entre os avaliadores mostraram que o uso de escala diagramática resulta no aumento da reprodutibilidade entre os avaliadores. A média do coeficiente de determinação (R^2) para as estimativas sem o uso da escala foi menor (0,66) do que para as estimativas com o uso da escala (0,77) e significativamente diferente de acordo com o intervalo de confiança utilizado (Tabela 3). Da mesma forma, o coeficiente de correlação intraclassa (ICC) indicou o aumento da confiabilidade entre os avaliadores, sendo sem o auxílio da escala ICC=0,67 (95% IC=0,55-0,77), e com o uso da escala o ICC=0,82 (95% IC=0,75-0,88).

Tabela 3. Confiabilidade entre os avaliadores das estimativas baseadas no coeficiente de determinação (R^2) da regressão linear entre a severidade real e a severidade estimada da ferrugem tardia da framboeseira (*Pucciniastrum americanum*) realizadas por 15 avaliadores comparados em pares, sem e com o auxílio da escala diagramática.

Aval.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Sem escala														
1	0,76	0,74	0,73	0,49	0,75	0,44	0,56	0,39	0,72	0,63	0,68	0,67	0,75	0,62
2		0,76	0,79	0,54	0,69	0,63	0,74	0,49	0,70	0,76	0,82	0,80	0,85	0,75
3			0,73	0,55	0,73	0,52	0,63	0,50	0,82	0,66	0,77	0,84	0,77	0,79
4				0,56	0,76	0,62	0,81	0,60	0,65	0,83	0,80	0,73	0,76	0,74
5					0,61	0,63	0,61	0,35	0,45	0,68	0,53	0,51	0,47	0,45
6						0,57	0,69	0,55	0,73	0,71	0,63	0,63	0,67	0,68
7							0,86	0,56	0,47	0,79	0,57	0,55	0,57	0,56
8								0,59	0,60	0,88	0,72	0,67	0,67	0,70
9									0,49	0,51	0,53	0,43	0,57	0,55
10										0,58	0,60	0,63	0,80	0,66
11											0,71	0,67	0,70	0,66
12												0,87	0,77	0,74
13													0,72	0,76
14														0,69

Com escala	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0,79	0,77	0,80	0,73	0,71	0,67	0,72	0,69	0,69	0,72	0,66	0,75	0,85	0,68
2		0,92	0,78	0,88	0,77	0,75	0,86	0,74	0,72	0,72	0,76	0,82	0,81	0,79
3			0,78	0,91	0,84	0,79	0,88	0,72	0,77	0,75	0,85	0,80	0,81	0,85
4				0,76	0,76	0,76	0,74	0,76	0,72	0,80	0,74	0,76	0,84	0,73
5					0,80	0,83	0,83	0,69	0,83	0,80	0,85	0,78	0,79	0,83
6						0,68	0,85	0,79	0,66	0,69	0,84	0,85	0,76	0,84
7							0,67	0,66	0,72	0,70	0,74	0,61	0,79	0,78
8								0,74	0,67	0,78	0,82	0,84	0,75	0,85
9									0,53	0,61	0,71	0,69	0,71	0,75
10										0,82	0,74	0,73	0,70	0,72
11											0,80	0,78	0,73	0,78
12												0,81	0,77	0,87
13													0,76	0,78
14														0,77

Estatística

Sem escala^aCom escala^a95% IC^b R^2 (médias)

0,66 (0,12)

0,76 (0,06)

0,08 a 0,13

^a Média (desvio padrão); ^b Intervalo de confiança (IC) baseado em 10 000 combinações. Se os intervalos de confiança incluem 0, a diferença não é significativa ($p=0,05$).

4.4. DISCUSSÃO

Neste trabalho foi desenvolvida e validada uma escala diagramática para a ferrugem tardia da framboeseira (*P. americanum*). A escala diagramática desenvolvida é representativa, uma vez que se baseou em amostras de folhas naturalmente infectadas no campo. Além disso, todas as recomendações para a realização de uma validação de estudos de escalas diagramáticas foram seguidas (Del Ponte et al., 2017).

O desenvolvimento da escala para ferrugem tardia tem como importância servir como ferramenta nas avaliações da principal doença da framboeseira no Brasil. As escalas diagramáticas são amplamente utilizadas como ferramentas em outros patossistemas com ferrugens, como a ferrugem (*Puccinia velata*) em candeia (Pereira et al., 2019), a ferrugem (*Hemileia vastatrix*) em café (Belan et al., 2020) e a ferrugem (*Phakopsora pachyrhizi*) em soja (Godoy et al., 2006).

Na confecção da escala diagramática para a ferrugem tardia, os intervalos utilizados entre as severidades foram propostos por uma função logarítmica em relação ao menor e ao maior valor de severidade da doença encontrada no campo (Beck et al., 2018). Os oito níveis de severidade definidos entre 0,2% e 43,2% mostraram-se adequados para melhor estimar a quantidade da ferrugem tardia. Segundo Yadav et al. (2013) poucas escalas podem comprometer a precisão e confiabilidade dos valores estimados pelos avaliadores e um número excessivo de escalas pode afetar a eficiência da avaliação, especialmente em condições de campo. O menor valor de severidade, definido em 0,2%, representa o aparecimento das primeiras pústulas nas folhas de framboeseira. Foram consideradas porcentagens de severidade adicionais entre 0,2% e 11,5%, para evitar medidas superestimadas pelos avaliadores em decorrência do tamanho pequeno das lesões (Del Ponte et al., 2017; Lima Filho et al., 2019).

O limite superior da escala proposta não ultrapassou o valor máximo observado no campo, de 43,2%, valor próximo ao observado no cultivo de framboesiras no México, de 50% (Cortéz et al., 2019). No campo, a maior ocorrência da ferrugem acontece em temperaturas entre 18 e 26 °C e alta umidade, e a variação de severidade da doença também pode estar relacionada ao uso de cultivares resistentes e práticas culturais (Hall et al., 2009, Dolan et al., 2018). As estimativas da severidade da ferrugem tardia da framboeseira com o uso da escala diagramática foram mais próximas da severidade real, quando comparada com aquelas realizadas sem auxílio da escala. Mesmo que o uso de parâmetros de regressão linear para a validação de escalas esteja sendo substituído pelo uso de análise de concordância de

Lin (Yadav et al., 2013; Schwanck & Del Ponte, 2014; Del Ponte et al., 2017), ambos os métodos demonstraram que o uso da escala melhorou a acurácia, precisão e confiabilidade na estimativa visual da severidade da doença.

De forma geral, os avaliadores tenderam a superestimar suas avaliações tanto sem quanto com o uso de escalas diagramáticas. No entanto, quando a escala foi utilizada, esta superestimação foi drasticamente reduzida. Além disso, o erro absoluto das estimativas foi consideravelmente melhorado a partir de 5%, indicando que as avaliações foram mais acuradas. A superestimação da severidade pelos avaliadores quando a escala não foi utilizada também tem sido relatada em outros estudos (Kranz, 1988; Santos & Spósito, 2018; Fantin et al., 2018; Lima Filho et al., 2019; Perina et al., 2019; Braga et al., 2020). Algumas características de lesões foliares podem influenciar a quantificação da severidade, como tamanho, formato e número de lesões (Pereira et al., 2019). Bock et al. (2010) associou a superestimação da severidade ao fato das lesões serem numerosas e pequenas, que podem influenciar o avaliador erroneamente. Deficiências nutricionais que causam sintomas de clorose também podem levar a superestimativas (Belan et al., 2020). Logo, o uso de escalas diagramáticas para padronização de tais características é particularmente importante para a maioria das doenças causadas por ferrugens (Pereira et al., 2019).

O método de regressão linear, para estimar a precisão e acurácia de avaliadores na validação de escalas, é comumente utilizado (Capucho et al. 2010; Godoy et al. 2006; Braga et al., 2020). Entretanto, o coeficiente de correlação concordante de Lin vem sendo utilizado na avaliação do nível de concordância entre os avaliadores e precisão com o uso da escala (Bardsley & Ngugi 2013; Dolinski et al. 2017; Fantin et al. 2018; Braga et al., 2020). Segundo Boch (2010) e Madden et al. (2007) o uso da análise de regressão possui desvantagens quando os dados estão muito dispersos, dificultando a quantificação da precisão, por não detectar o desvio da interceptação 0 e declive 1. No estudo realizado, os resultados de ambos os métodos se mostraram similares, demonstrando melhora nas avaliações de severidade com o uso da escala diagramática.

Todos os parâmetros do método Lin para as avaliações com o uso da escala foram melhores e apresentaram diferenças estatísticas em comparação ao não uso da escala. O coeficiente de correlação concordante de Lin (ρ_c), baseado na combinação entre precisão (r) e acurácia (C_b), foi duas vezes maior quando a escala foi utilizada. Os parâmetros avaliados via regressão linear, a e b , também demonstraram aumento da acurácia e da precisão com o uso da escala diagramática. O uso da escala também maximizou a confiabilidade entre os avaliadores, de acordo com o incremento dos valores de R^2 e de ICC e na diferença estatística

com os valores sem o uso de escala. Estes resultados indicam que o uso da escala diagramática aprimorou a precisão das avaliações realizadas por diferentes avaliadores, característica também observada em validação de escalas diagramáticas para outros patossistemas (Santos & Spósito, 2018; Araújo et al., 2019; Pereira et al., 2019). Estes são resultados adequados para garantir a uniformidade entre múltiplos avaliadores quando estimam uma doença utilizando escalas diagramáticas (Correia et al., 2017).

Diante do exposto, a escala diagramática desenvolvida para quantificação da severidade da ferrugem tardia em framboeseiras apresenta-se como uma valiosa ferramenta para estudos epidemiológicos e de monitoramento desta doença, bem como para comparação de resistência genética entre genótipos em programas de melhoramento.

4.5. CONCLUSÕES

A escala diagramática para a ferrugem tardia, elaborada e validada neste estudo, mostra-se efetiva para quantificação da severidade da doença em folhas de framboeseiras.

As análises de regressão linear e de concordância de Lin mostraram-se similares, evidenciando a melhora da acurácia e precisão dos avaliadores na determinação da severidade da ferrugem da framboeseira, com auxílio da escala diagramática.

REFERÊNCIAS

- Amorim L, Bergamin Filho A (2018) Fenologia, patometria e quantificação de danos. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 499-518.
- Anderson HW (1956) Diseases of Fruit Crops. **McGraw-Hill**, New York 326-327.
- Araújo ER, Resende RS, Krezanoski CE, Duarte HS (2019) A standard area diagram set for severity assessment of botrytis leaf blight of onion. **European Journal of Plant Pathology** 153(1):273-277.
- Arthur JC (1929) Plant Rust. **F. H. Gibson Co** 346-347.
- Barbosa CMA, Martins MMV, Spósito MB (2019) Panorama das Exportações e Importações Brasileiras de Framboesas e Amoras-Pretas in natura. In: X Seminário Brasileiro sobre Pequenas Frutas, Vacaria. Anais do X Seminário Brasileiro sobre Pequenas Frutas, v.1.

- Bardsley SJ, Ngugi HK (2013) Reliability and accuracy of visual methods to quantify severity of foliar bacterial spot symptoms on peach and nectarine. **Plant Pathology** 62(2):460–474.
- Beck HE, Zimmermann NE, McVicar TR, Vergopolan N, Berg A, Wood EF (2018) Present and future Köppen-Geiger climate classification maps at 1-km resolution. **Scientific Data** 5(1):180214.
- Belan LL, Belan LL, Rafael AdM, Gomes CAG, Alves FR, de Jesus Junior WC, Moraes WB (2020) Standard area diagram with color photographs to estimate the severity of coffee leaf rust in *Coffea canephora*. **Crop Protection** 130(105077):1–9.
- Bock CH, Hotchkiss MW, Wood BW (2016) Assessing disease severity: accuracy and reliability of rater estimates in relation to number of diagrams in a standard area diagram set. **Plant Pathology** 65(2):261-272.
- Bock CH, Poole GH, Parker PE, Gottwald TR (2010) Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. **Critical Reviews in Plant Sciences** 29(2):59–107.
- Braga K, Fantin LH, Roy JMT, Canteri MG, Custódio AAdP (2020) Development and validation of a diagrammatic scale for the assessment of the severity of bacterial leaf streak of corn. **European Journal Plant Pathology** 157:367–375.
- Campbell CL, Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. New York: Wiley-Interscience, John Wiley & Sons.
- Capucho AS, Zambolim L, Duarte HSS, Parreira DF, Ferreira PA, Lanza FE, Costa RV, Casela CR, Cota LV (2010) Influence of leaf position that correspond to whole plant severity and diagrammatic scale for white spot of corn. **Crop Protection** 29(9):1015–1020.
- Connors IL (1967) An annotated index of plant diseases in Canada. **Canada Department of Agriculture** 1251: 3.
- Correia KC, de Queiroz JVJ, Martins RB, Nicoli A, Del Ponte EM, Michereff SJ (2017) Development and evaluation of a standard area diagram set for the severity of phomopsis leaf blight on eggplant. **European Journal of Plant Pathology** 149(2):269-276.
- Cortéz FAM, Chan-Cupul W, Nava MTB, Hernández-Ortega HA, Manzo-Sánchez G, Velasco EG (2019) Biological control of late leaf rust disease [*Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arthur] in raspberry (*Rubus idaeus* L.) using two biological products: *Bacillus subtilis* (Fungizard®) and *Larrea tridentata* botanic extract (CleanCrop®) under screenhouse conditions. **Idesia** 37(1):125-133.

- Del Ponte E, Pethybridge SJ, Bock C, Michereff SJ, Machado FJ, Spolti P (2017) Standard area diagrams for aiding severity estimation: Scientometrics, pathosystems and methodological trends in the last 25 years. **Phytopathology** 107:1161–1174.
- Dodge O (1923) Morphology and host reactions of *Pucciniastrum americanum*. **Journal Agricultural Research** 24: 885-894.
- Dolan A, MacFarlane S, Jennings SN (2018) Pathogens in Raspberry and Other *Rubus* spp. In: Graham J, Brennan R. Raspberry: breeding, challenges and advances. **Springer** 41-61.
- Dolinski MA, Duarte HSS, da Silva JJB, May De Mio LL (2017) Development and validation of a standard área diagram set for assessment of peach rust. **European Journal of Plant Pathology** 148(4):817–824.
- Draper NR, Smith H (1998) Applied Regression Analysis. John Wiley & Sons 3.ed.
- Fantin LH, Braga K, Canteri MG, Dias AR, Borges EP (2018) Development and validation of diagrammatic scale to assess target spot severity in cotton. **Australasian Plant Pathology** 47(5):491–497.
- FAO (2020) FAOSTAT: Agricultural data. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 28 Outubro 2020.
- Gamer M, Lemon J, Fellows I (2012) Irr: various coefficients of interrater reliability and agreement. R package version 0.84. Internet resource: <http://CRAN.R-project.org/package=irr>.
- Godoy CV, Koga LJ, Canteri MG (2006) Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira** 31:063-068.
- Hall HK, Hummer K, Jamieson AJ, Jennings SN, Weber CA (2009) Raspberry breeding and genetics. **Plant Breeding Reviews** 32:1–290.
- Horsfall JC, Barratt RW (1945) An improved grading system for measuring plant diseases. **Phytopathology** 35:665.
- Horsfall JG, Cowling EB (1978) Pathometry: the measurement of plant disease. In: How disease develops in populations. **Elsevier** 119–136.
- Kranz J (1988) Measuring plant disease. In: Kranz J, Rotem J. Experimental techniques in plant disease epidemiology. Springer, 35-50.
- Lima Filho FAS, Leite ÍCHL, Capucho AS, Michereff SJ, Freitas-Lopes RL, Lopes UP (2019) Accuracy and efficiency of assessments of cassava brown leaf spot aided by standard area diagram sets based on whole compound leaves or single central leaflets. **European Journal of Plant Pathology** 153(2):627-638.

- Lin L (1989) A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics** 45(1):255–268.
- Lin L, Hedayat AS, Sinha B, Yang M (2002) Statistical methods in assessing agreement. **Journal of the American Statistical Association** 97(457):257–270.
- Luffman M, Buszard D (1989) A note on the susceptibility of six red raspberry cultivars and Tayberry to fruit infection by late yellow rust. **Phytoprotection** 71:93-95.
- Madden LV, Hughes G, Van Den Bosch F (2007) The study of plant disease epidemics. **St. Paul: The American Phytopathological Society Press.**
- Maffia LA, Mizubuti ESG, Alfenas AC, Mafia RG (2016) Quantificação de doenças em planta. In: Alfenas AC, Mafia RG. (ed.) Métodos em fitopatologia. 2ª ed. Atual. e Ampl. Viçosa (MG); Ed. UFV 171-186.
- Martins MC, Guerzoni RA, Câmara GM, de S, Mattiazzi P, Lourenço AS, Amorim L (2004) Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira** 29:179-184.
- Nickerson NL (1991) Late leaf rust. In: Ellis MA, Converse RH, Williams R.N, Williamson B (Ed.). Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects. Saint Paul, **APS Press** 30-32.
- Nita M, Ellis MA, Madden LV (2003) Reliability and Accuracy of Visual Estimation of Phomopsis Leaf Blight of Strawberry v.93.
- Nutter Junior FW, Schultz PM (1995) Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. **Canadian Journal of Plant Pathology** 17:174–184.
- Pereira RCM, Laignier Filho CdA, de Melo LA, Alozen PC, Mafia RG, Barros AF, Ferreira MA (2019) Diagrammatic scale for severity evaluation of the *Eremanthus erythropappus*–*Puccinia velata* pathosystem. **Journal of Phytopathology** 00:1–9.
- Perina FJ, Belan LL, Moreira SI, Nery EM, Alves E, Pozza EA (2019) Diagrammatic scale for assessment of alternaria brown spot severity on tangerine leaves. **Journal of Plant Pathology** 101:981–990.
- RStudio Team (2018) RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA <http://www.rstudio.com/>.
- Santos RF, Spósito MB (2018) Improving assessments of anthracnose severity on grapevine leaves through the development of a standard area diagram set. **Australasian Plant Pathology** 47:357–364.

- Schwanck AA, Del Ponte EM (2014) Accuracy and reliability of severity estimates using linear or logarithmic disease diagram sets in true colour or black and white: a study case for rice brown spot. **Journal of Phytopathology** 162(10):670-682.
- Stevenson M, Nunes T, Heuer C, Marshall J, Sanchez J, Thornton R (2017) epiR: Tools for the analysis of epidemiological data. R package.
- Teng OS (1981) Validation of computer models of plant disease epidemics: a review of philosophy and methodology. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz** 88:455-459.
- Tovar-Soto A, Hernandez-Martínez M, Cristóbal-Alejo J, Romero-Hijo R, Mora-Aguilera G (2002) Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en chirimoyo (*Annona cherimola* Mill). **Revista Mexicana de Fitopatología** 20(1):103-109.
- Vale FXR, Fernandes-Filho EI, Liberato JR (2003) QUANT. A software for plant disease severity assessment. In Roy E. 8th International Congress of Plant Pathology, Christchurch New Zeland 105.
- Yadav NVS, de Vos SM, Bock CH, Wood BW (2013) Development and validation of standard area diagrams to aid assessment of pecan scab symptoms on fruit. **Plant Pathology** 62:325–335.

5. INTERFERÊNCIA DA FERRUGEM TARDIA ASSOCIADA AO DÉFICIT HÍDRICO NO METABOLISMO PRIMÁRIO DE FRAMBOESEIRAS

RESUMO

Estresses abióticos estão cada vez mais recorrentes em áreas agrícolas devido mudanças climáticas. A framboeseira (*Rubus ideaus*) tem como principal doença foliar no Brasil a ferrugem tardia (*Pucciniastrum americanum*). A associação entre estresse abiótico e biótico pode apresentar respostas diferentes em plantas em relação a ocorrência de somente um tipo de estresse. Com o objetivo de determinar a interferência de estresse abiótico, pela limitação hídrica, na intensidade da ferrugem tardia em framboeseiras, foram avaliados parâmetros epidemiológicos da doença, de trocas gasosas e de crescimento de plantas inoculadas e não inoculadas e sob manejo hídrico controlado. Plantas sob déficit hídrico tiveram menor crescimento da parte aérea, menor intensidade da ferrugem tardia e redução dos parâmetros de trocas gasosas relacionados. Plantas sem estresse hídrico tiveram redução da taxa fotossintética relacionada ao aumento da severidade de doença. Não ocorreu sinergismo entre estresse biótico e abiótico para a ferrugem tardia em framboeseiras.

Palavras-chave: Fotossíntese; Epidemiologia; Déficit hídrico; *Pucciniastrum americanum*; *Rubus ideaus*

ABSTRACT

Abiotic stresses are increasingly recurrent in agricultural areas due to climate change. Raspberry trees (*Rubus ideaus*) have late leaf rust (*Pucciniastrum americanum*) as their main leaf disease in Brazil. The association between abiotic and biotic stress can present different plant responses in relation to the occurrence of only one type of stress. In order to determine the interference of abiotic stress, by water limitation, on the intensity of late leaf rust in raspberries, epidemiological parameters of the disease, gas exchange and plant growth of inoculated and non-inoculated plants under controlled water management were evaluated. Plants under water deficit had reduced growth in the aerial part, lower intensity of late leaf rust and reduction of related gas exchange parameters. Plants without water stress had reduced photosynthetic rate related to increased disease severity. There was no synergism between biotic and abiotic stress for late leaf rust in raspberries.

Keywords: Photosynthesis; Epidemiology; Water deficit; *Pucciniastrum americanum*; *Rubus ideaus*

5.1. INTRODUÇÃO

A ferrugem tardia, causada pelo fungo *Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arthur (Dodge, 1923; Arthur, 1929; Nickerson 1991; Cortéz et al., 2019), é a principal doença da framboeseira (*Rubus idaeus*) no Brasil (Caminiti et al., 2016). O patógeno penetra em folhas da framboeseira somente por estômatos, que se localizam na face abaxial. O período de incubação da ferrugem tardia é de sete dias, quando é possível observar a formação de pústulas e de uma massa de urediniósporos de cor amarela (Nelson, 2011). Quando a severidade da doença é intensa, pode ocorrer a redução da área fotossinteticamente ativa e levar a perdas de 30 a 100% da produção (Dolan et al., 2018; Cortéz et al., 2019). A redução da fotossíntese causada por fungos biotróficos ocorre nas áreas da folha onde estão as pústulas e na região adjacente a essas, denominadas de lesão visível e lesão virtual, respectivamente (Bastiaans, 1991).

A redução da fotossíntese é diretamente proporcional ao aumento da severidade da doença nas folhas (McGrath & Pennypacker, 1989; Scholes & Farrar, 1987). A quantificação da severidade de doenças, baseada na proporção de áreas lesionadas do tecido em relação à área sadia do hospedeiro, tem como função, entre outras, comparar diferentes manejos de controle, avaliar a composição dessas populações de plantas doentes e medir o impacto da doença na fisiologia da planta (Bergamin Filho et al., 2018; Amorim & Bergamin Filho, 2018). A avaliação de curvas de progresso da doença e a comparação das áreas abaixo dessas curvas permitem avaliar a suscetibilidade de hospedeiros em relação a doenças no tempo, em determinados manejos da cultura ou em diferentes condições de ambientes em que estas se encontram (Spósito et al., 2004; Silva et al., 1998).

Estresses abióticos, como os causados por déficit hídrico, interferem na fisiologia das plantas que respondem com mecanismos específicos e complexos, que lhes permitem conservar energia para seu crescimento e reprodução (Atkinson & Urwin, 2013; Zandalinas et al., 2018). A cultura da framboeseira possui uma tolerância moderada ao déficit hídrico a curto prazo, entretanto quando submetida a um estresse prolongado pode resultar na redução do crescimento da planta e da sua produção (Morales et al., 2013; Wang & Frei, 2011), assim como, aumentar a sua suscetibilidade ao ataque de patógenos (Medeiros et al., 2007; Ramakrishna & Ravishankar, 2011).

A combinação de estresses abióticos e bióticos, normalmente induz na planta uma resposta diferente da apresentada quando há somente um tipo de estresse (Rasmussen et al.,

2013). Apesar de se conhecer o efeito que estresses abióticos exercem na fisiologia da framboeseira (Morales et al., 2013; Percival et al., 1998), não há trabalhos sobre a interação entre estresse abiótico e biótico no patossistema *Pucciniastrum americanum* – *Rubus ideaus*. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a fisiologia da framboeseira submetida a combinação do déficit hídrico e da ferrugem tardia, causada por *P. americanum*.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e manutenção do isolado de *Pucciniastrum americanum*

O experimento foi conduzido utilizando isolado urediniospórico monopustular de *Pucciniastrum americanum* obtido de *Rubus ideaus* procedente de Piracicaba, SP. O isolado monopustular foi caracterizado geneticamente e multiplicado inoculando plantas de framboesiras cv. Heritage, mantidas em casa de vegetação, para a manutenção do inóculo.

Framboesiras submetidas ao déficit hídrico

Mudas de framboesa cv. Heritage foram transplantadas para vasos de 7 litros contendo substrato esterilizado com granulometria de 10% de argila e 70% de areia. A limitação hídrica submetida as framboesiras foi aplicada pela porcentagem da capacidade de água disponível para a planta (CAD), calculada por meio da diferença entre as massas dos vasos nas condições de capacidade de vaso (CV) e de ponto de murcha permanente (PMP) (Frizzone, 2017). Para a determinação da CV, os vasos foram colocados para saturar o substrato por 24 horas em uma caixa d'água contendo um volume de água no nível da altura de substrato dentro do vaso. Para a obtenção da capacidade de vaso (CV), após o período de saturação do substrato, os vasos foram colocados para drenar livremente até atingir uma massa constante, em, aproximadamente, 72 horas (Casaroli & Van Lier, 2008). Para determinar a densidade do substrato, amostras de volume conhecido do substrato foram retiradas, pesadas e colocadas para secar em estufa a 60 °C por 72 horas. Para a obtenção do PMP, amostras do substrato foram retiradas e colocadas em câmara de pressão de Richards (Richards, 1947). Com base nos dados coletados foi possível estimar a massa do vaso em condição de PMP, e assim calcular a CAD de cada vaso.

A determinação da limitação hídrica desejada foi realizada por meio de um ensaio prévio, com base nos dados de limitação hídrica para a cultura da framboesa de Funt & Ross (2013). Para o experimento estipulou-se valores 60% da CAD para o tratamento sem déficit

hídrico e 30% da CAD para o tratamento com déficit hídrico. O acompanhamento da umidade do solo foi feito durante toda a duração dos experimentos por meio de pesagens diárias dos vasos e sua correlação com a CAD necessária em cada tratamento, irrigando a quantidade exata em cada vaso (Lago et al., 2011). O procedimento de determinação da massa dos vasos nas condições de CAD pré-determinadas foi realizado utilizando cinco mudas modelos, que apresentavam as mesmas condições e pesagens das plantas utilizadas no experimento, sendo utilizadas para estimar a reposição diária de água para as plantas do experimento em si.

Combinação do estresse biótico e abiótico

Após 12 dias em limitação hídrica, parte das plantas de framboeseiras submetidas a 60% e 30% da CAD, foram inoculadas com *P. americanum*, utilizando uma suspensão de esporos na concentração de 10^5 urediniósporos ml^{-1} de água destilada, com auxílio de um borrifador, até o ponto de escorrimento. Após inoculação as plantas foram mantidas por 24 horas no escuro, em câmara úmida a 23 °C, e depois levadas para a casa de vegetação. Para a verificação da viabilidade dos esporos utilizados na inoculação, foi realizado um teste *in vitro* de germinação, depositando 3 gotas da suspensão de esporos em 3 placas de Petri, e após 24 horas de incubação, foi adicionada em cada gota lactoglicerol, e realizada a contagem de esporos germinados em 100 esporos aleatórios por gota. Uma avaliação *in vivo* também foi realizada com o objetivo de verificar a viabilidade dos esporos por meio da deposição de gotas da suspensão de esporos na parte abaxial de uma folha destacada da cv. Heritage. Essa folha foi mantida por 24 horas no escuro, em câmara úmida a 23 °C, e depois as porções em que houve o depósito das gotas foram recortadas, tratadas e observadas em microscópio eletrônico de varredura, em que foi realizada a avaliação da porcentagem de germinação em 100 esporos.

Desta maneira, o experimento foi conduzido com quatro tratamentos: **60% F:** plantas em 60% da CAD (sem estresse hídrico) e inoculadas (com ferrugem tardia); **60% S:** plantas com 60% da CAD (sem estresse hídrico) e não inoculadas (sem doença); **30% F:** plantas com 30% da CAD (com estresse hídrico) e inoculadas (com ferrugem tardia); e **30% S:** plantas com 30% da CAD e não inoculadas (sem doença). Foram utilizadas para cada tratamento 5 repetições (vasos), sendo utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, e o experimento foi conduzido duas vezes de maneira independente.

Quantificação dos componentes monocíclicos da ferrugem tardia associada ao estresse hídrico

Nos experimentos foram analisados parâmetros do monociclo, por meio de avaliações diárias, desde a inoculação até a estabilização da severidade da doença. Foram avaliados a frequência relativa de infecção (número de pústulas por cm² de folha), o período de latência (período de tempo entre a inoculação até o aparecimento de 50% de lesões), a incidência (presença de sintomas da doença por folha inoculada) e a severidade da doença (porcentagem de área foliar lesionada).

Para a avaliação da frequência relativa de infecção, em duas folhas inoculadas de cada muda, foram desenhados 3 quadrados de 1 cm² de forma aleatória, e sempre no interior destes quadrados, 3 vezes por semana, com o auxílio de uma lupa, foram contados o número de pústulas formadas. A partir dos dados da frequência relativa de infecção calculou-se o período de latência para cada tratamento (60% F, 60% S, 30% F e 30% S). As avaliações de incidência e severidade também foram realizadas 3 vezes por semana em todas as folhas inoculadas de cada muda. Para a avaliação da severidade foi utilizada escala diagramática para a ferrugem tardia (Capítulo 2). Ao final do experimento mediu-se a altura da planta e a massa seca da parte aérea, após cortada e levada para estufa a 55 °C por 7 dias.

Os dados da severidade e incidência da ferrugem tardia foram analisados por meio de regressões não lineares e ajustados ao modelo monomolecular ($Y=b_1*(1-b_2*\exp(-r*t))$), em que Y é a variável analisada, b1 a assíntota máxima, b2 é a constante de integração igual a 1-y0 (y0= inóculo inicial), r é a taxa de progresso da doença e t o tempo (Campbell & Madden, 1990; Bergamin Filho & Amorim, 1996; Spósito et al., 2004). Os parâmetros obtidos foram comparados pelo teste t a 5% de significância.

Interferência da ferrugem tardia associada ao estresse hídrico no metabolismo primário da framboeseira

A avaliação da eficiência fotossintética de plantas de framboesiras submetidas aos tratamentos (60% F, 60% S, 30% F e 30% S), foi realizada, semanalmente, em uma área de 2 cm² de uma folha do terço médio da planta por planta. A área de avaliação corresponde ao tamanho da câmara do analisador portátil de gás infravermelho (Li-6400 XT, LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA). Para as medições de trocas gasosas, a configuração do aparelho referente a taxa de fluxo de ar foi mantida em 500 ml min⁻¹, a pressão parcial de CO₂ dentro da câmara

de avaliação de $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de ar, radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e irradiância saturante de $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Nas áreas amostradas foram avaliadas a assimilação líquida de CO_2 (A), a condutância estomática (g_s), a concentração intercelular de CO_2 (C_i), a taxa de transpiração (E) e a eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{PSII}). Com base nesses parâmetros foi possível calcular a eficiência do uso da água (A/E) e a eficiência aparente de carboxilação (A/C_i). As medições foram realizadas no período do dia entre as 9 e 10 horas, cerca de 1 hora após a reposição de água das plantas. Em cada avaliação, as áreas das folhas selecionadas foram fotografadas e as imagens digitais foram processadas com o auxílio do software QUANT (Vale et al., 2003) para estimar a severidade da doença. Foi considerada como área doente, a área das pústulas e as áreas necrosadas próximas às pústulas. Os dados de severidade da doença foram correlacionados com os parâmetros fotossintéticos.

A lesão virtual foi avaliada de acordo com o modelo de Bastiaans (1991): $P_x / P_o = (1 - x)^\beta$, em que P_x é o valor do parâmetro fotossintético avaliado de uma folha com severidade x e P_o é a média do parâmetro fotossintético avaliado de folhas saudáveis. O valor β corresponde ao efeito da severidade da doença na área da folha verde adjacente à pústula. Os valores de assimilação líquida de CO_2 correlacionados com a severidade da doença foram ajustados ao modelo exponencial negativo ($Y = a \cdot \exp(-b \cdot x)$), em que Y é o valor do parâmetro fotossintético, a é o valor do parâmetro fotossintético para severidade igual a zero, b é a inclinação do gradiente e x a severidade da doença. Os dados avaliados foram estimados com o auxílio do software Statistica 7 (Statsoft, 2004). Os gráficos referentes aos parâmetros avaliados foram plotados com o auxílio do software SigmaPlot 14.5 (Systat Software, San Jose, CA, USA). Com os valores obtidos ao longo do tempo foram calculadas a área abaixo da curva, referente aos dados obtidos após a inoculação, que foram submetidos a análise de variância (ANOVA) utilizando o software SAS (Statistical Analysis System), e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

5.3. RESULTADOS

Quantificação dos componentes monocíclicos da ferrugem tardia associada ao estresse hídrico

A viabilidade dos urediniosporos de *Pucciniastrum americanum* avaliados *in vitro* foi de 65 e 51% para o primeiro e segundo experimento, respectivamente. Os urediniosporos

avaliados por microscópio eletrônico de varredura apresentaram germinação de 86% para o primeiro experimento e 76% para o segundo experimento.

Os dados de frequência relativa de infecção de *P. americanum* inoculado em plantas de framboeseiras submetidas a diferentes condições hídricas, com estresse (30% da CAD) e sem estresse hídrico (60% da CAD), foram ajustados ao modelo monomolecular (Figura 1).

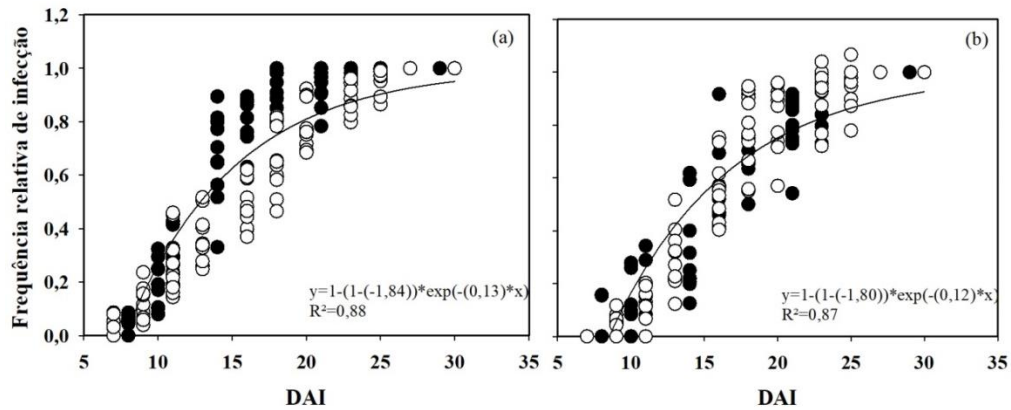


Figura 1. Frequência relativa de infecção de ferrugem tardia (*P. americanum*) em framboeseira cv. Heritage sem déficit hídrico, 60% da CAD (a) e com déficit hídrico, 30% da CAD (b). Os círculos pretos representam dados do primeiro experimento e os círculos brancos representam dados do segundo experimento. Os dados foram ajustados ao modelo monomolecular ($y=1*(1-b_2*\exp(-r*t))$).

As plantas sem déficit hídrico apresentaram maior taxa de progresso da doença quando comparada as plantas com déficit hídrico (Tabela 1). O período de latência da ferrugem tardia foi de 12 dias em plantas sem déficit hídrico e de 14 dias em plantas de framboeseiras com déficit hídrico (Figura 1). Portanto, framboeseiras sem estresse hídrico apresentam um período de latência menor e uma taxa de progresso da ferrugem tardia maior quando comparadas a framboeseiras com estresse hídrico.

Tabela 1. Parâmetros do modelo monomolecular ($y=1*(1-b_2*\exp(-r*t))$) obtidos pelo ajuste dos dados de frequência relativa de infecção de ferrugem tardia em framboeseiras cv. Heritage sobre diferentes condições hídricas. O parâmetro b_2 representa o inóculo inicial e r é a taxa de progresso da doença.

Tratamentos	Parâmetros do modelo monomolecular	
	b_2	r
Sem déficit hídrico (60% CAD)	- 1,85 (0,15) a	0,14 (0,005) a
Com déficit hídrico (30% CAD)	- 1,79 (0,15) a	0,12 (0,004) b

Valores da coluna seguidos pela mesma letra não diferem significativamente (Teste t, $P < 0,05$). Erro em parênteses.

Assim como para a frequência relativa de infecção, os dados da incidência de ferrugem tardia em plantas com e sem déficit hídrico, inoculadas com *P. americanum*, foram ajustados ao modelo não linear monomolecular (Figura 2). O inóculo inicial não diferiu entre as plantas inoculadas, com e sem déficit hídrico, entretanto, a taxa de progresso da doença foi maior em plantas de framboeseiras que não foram submetidas ao déficit hídrico (Tabela 2).

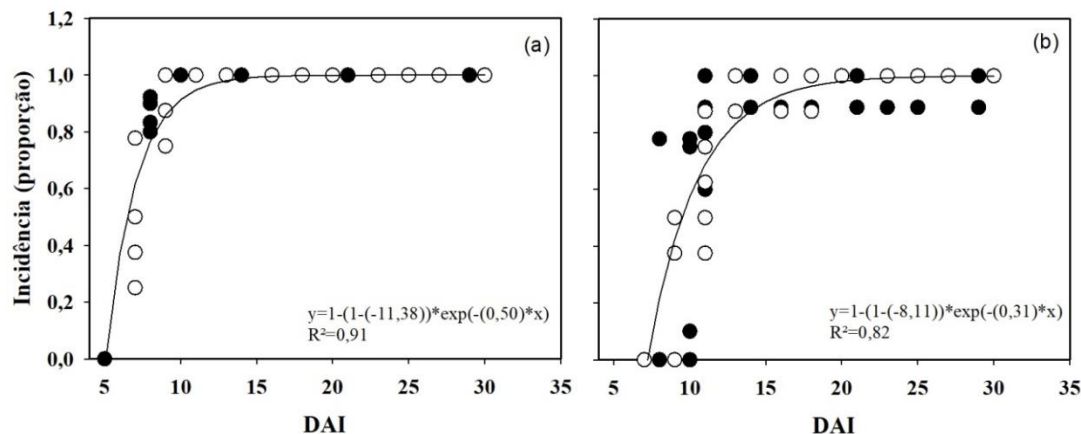


Figura 2. Incidência de ferrugem tardia (*P. americanum*) na framboeseira cv. Heritage sem déficit hídrico (a) e com déficit hídrico (b). Os círculos pretos representam dados do primeiro experimento e os círculos brancos representam dados do segundo experimento. Os dados foram ajustados ao modelo monomolecular ($y=1*(1-b2*\exp(-r*t))$).

Tabela 2. Parâmetros do modelo monomolecular ($y=1*(1-b2*\exp(-r*t))$) obtidos pelo ajuste dos dados de incidência de ferrugem tardia em framboeseiras cv Heritage sobre diferentes condições hídricas. O parâmetro b2 representa o inóculo inicial e r é a taxa de progresso da doença.

Tratamentos	Parâmetros do modelo monomolecular	
	b2	r
Sem déficit hídrico (60% CAD)	- 11,38 (1,89) a	0,50 (0,03) a
Com déficit hídrico (30% CAD)	- 8,111 (2,01) a	0,31 (0,03) b

Valores da coluna seguidos pela mesma letra não diferem significativamente (Teste t, $P < 0,05$). Erro em parênteses.

Os valores de severidade ao longo do tempo, para plantas de framboeseiras com e sem estresse hídrico, inoculadas com *P. americanum*, foram ajustados ao modelo monomolecular (Figura 3).

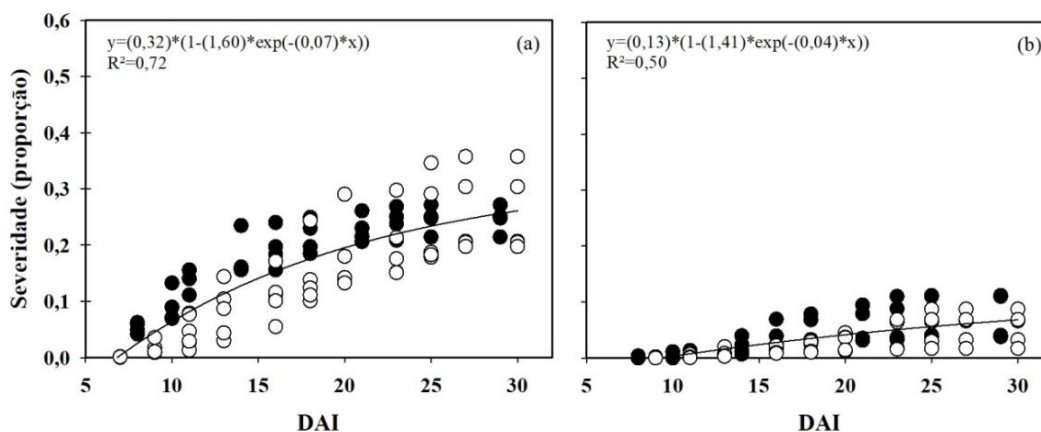


Figura 3. Severidade de ferrugem tardia (*P. americanum*) na framboeseira cv. Heritage sem déficit hídrico (a) e com déficit hídrico (b). Os círculos pretos representam dados do primeiro experimento e os círculos brancos representam dados do segundo experimento. Os dados foram ajustados ao modelo monomolecular ($y=b1*(1-b2*exp(-r*t))$).

Pelos dados de severidade ajustados ao modelo monomolecular, pode-se ver que a taxa de progresso da doença, assim como o inóculo inicial foi igual em plantas submetidas ao estresse hídrico e sem o estresse hídrico (Tabela 3). Entretanto, para a severidade da ferrugem tardia, a assíntota máxima (b1) que representa o máximo de severidade, ajustado pelo modelo, foi 2,5 vezes maior em plantas sem o déficit hídrico quando comparada as plantas submetidas ao déficit hídrico (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros do modelo monomolecular ($y=b1*(1-b2*exp(-r*t))$) obtidos pelo ajuste dos dados de severidade de ferrugem tardia em framboesiras cv. Heritage sobre diferentes condições hídricas. O parâmetro b1 representa a assíntota máxima, b2 é o inóculo inicial e r é a taxa de progresso da doença.

Tratamentos	Parâmetros do modelo monomolecular		
	b1	b2	r
Sem déficit hídrico (60% CAD)	0,33(0,05) a	1,60(0,31) a	0,07(0,02) a
Com déficit hídrico (30% CAD)	0,13(0,09) b	1,41(0,52) a	0,04(0,04) a

Valores da coluna seguidos pela mesma letra não diferem significativamente (Teste t, $P < 0,05$). Erro em parênteses.

Para os dados de altura de haste (cm) e massa seca da parte aérea (g), quando levou-se em consideração somente o estresse abiótico, as plantas quando submetidas ao déficit hídrico apresentaram menores valores quando comparados as plantas sem o déficit hídrico, para ambos os parâmetros avaliados (Figura 4). Quando considerou-se somente a presença ou não da doença, a altura da haste e a massa seca da parte aérea foram semelhantes, mostrando que a

presença da ferrugem não alterou o crescimento das plantas, sendo este dependente do regime hídrico (Figura 4).

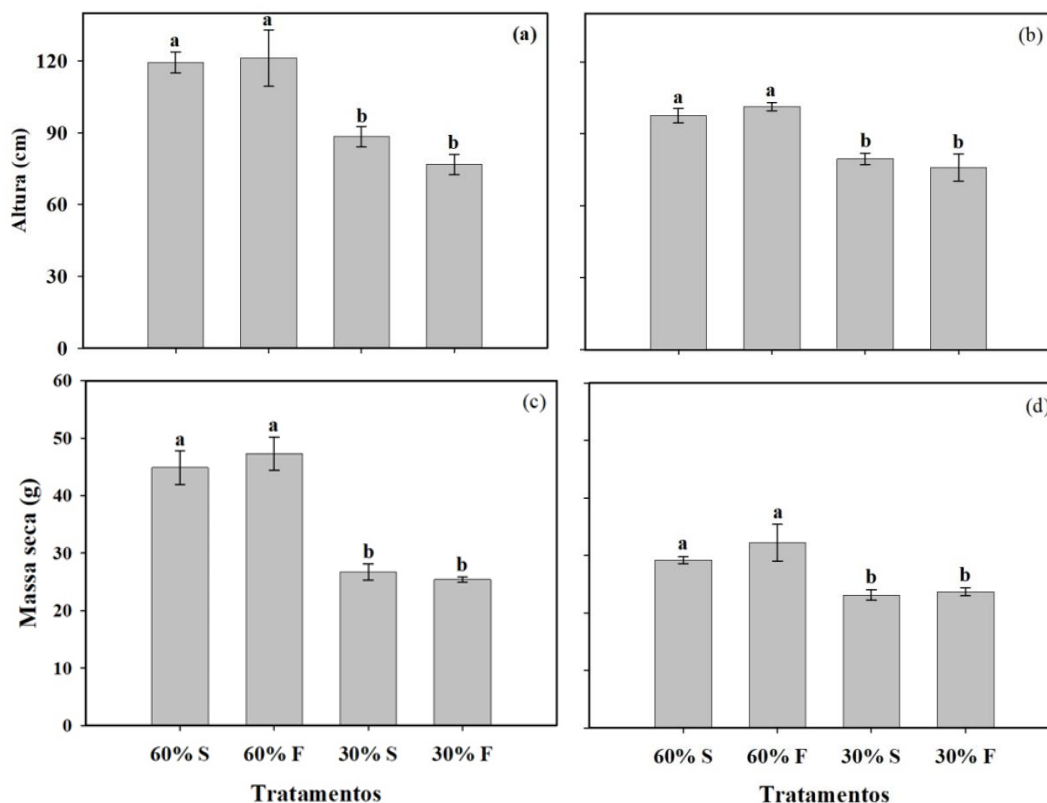


Figura 4. Altura da haste e massa seca da parte aérea nos experimentos 1 (a, c) e 2 (b, d) em framboeseira cv. Heritage com diferentes tratamentos: sem déficit hídrico e sadia (60% S); sem déficit hídrico e inoculada com *P. americanum* (60% F); com déficit hídrico e sadia (30% S); com déficit hídrico e inoculada com *P. americanum* (30% F). As barras de erro correspondem ao erro padrão médio. Letras iguais não diferem significativamente (Scott-Knott, $P < 0,05$).

Interferência da ferrugem tardia associada ao estresse hídrico no metabolismo primário da framboeseira

A assimilação líquida de CO_2 (A), em plantas sadias sem déficit hídrico (60% S) variou entre 17 e 9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, no primeiro experimento e entre 13 e 9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, no segundo experimento, ao longo dos 40 dias dos experimentos (Figura 5). No dia em que foi feita a inoculação (12 dias), as plantas sem e com estresse hídrico apresentavam diferenças em A (Figura 5). Após a inoculação do patógeno, nas plantas sem estresse hídrico, ocorreu uma queda acentuada de A nas plantas inoculadas em relação as não inoculadas. Essa diferença não foi observada entre as plantas em déficit hídrico, inoculadas e não inoculadas (Figura 5).

Os dados da taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E), eficiência do uso da água (A/E), eficiência quântica do fotossistema II

(*PhiPS2*) e da eficiência aparente de carboxilação (A/Ci), em dois experimentos, foram coletados ao longo de 40 dias, com o analisador portátil de gás infravermelho IRGA, em plantas de framboeseiras sem estresse hídrico e sem inoculação (60% S), sem estresse hídrico e inoculadas com *P. americanum* (60% F), sob estresse hídrico sem inoculação (30% S) e sob estresse hídrico e inoculadas com *P. americanum* (30% F) (Figura 5).

Para analisar a interferência do estresse abiótico e estresse biótico em plantas de framboeseiras, em um período de 28 dias, desde a época de inoculação do patógeno, calculou-se a área abaixo da curva, integralizando os dados no tempo, da taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E), eficiência do uso da água (A/E), eficiência quântica do fotossistema II (*PhiPS2*) e da eficiência aparente de carboxilação (A/Ci), obtidos em cada tratamento.

Pela área abaixo da curva da taxa fotossintética pode-se verificar que as plantas sadias (60% S) foram as que apresentaram maiores taxas diferindo dos demais tratamentos (Tabela 4). Para os dados da condutância estomática, as plantas sadias (60% S) foram as que apresentaram os maiores valores. As plantas que estavam sob estresse hídrico, inoculadas ou não inoculadas, 30% F e 30% S, respectivamente, foram as que apresentaram os menores valores de condutância estomática, ao longo do experimento (Tabela 4).

Sobre a taxa de transpiração, ao longo do experimento, as plantas sem estresse hídrico apresentaram maiores valores quando comparadas com as plantas sob estresse hídrico, independentemente de terem a doença ou não (Tabela 4). O tratamento sem estresse hídrico e com a doença (60% F) foi o que apresentou o menor valor para a eficiência do uso da água. As plantas sem doença apresentaram maior eficiência quântica do fotossistema II, quando comparado as plantas com ferrugem tardia, independentemente de estarem com ou sem estresse hídrico (Tabela 4). Quanto a eficiência aparente de carboxilação, as plantas sem estresse hídrico e biótico (60% S) foram as que apresentaram os maiores valores ao longo do experimento.

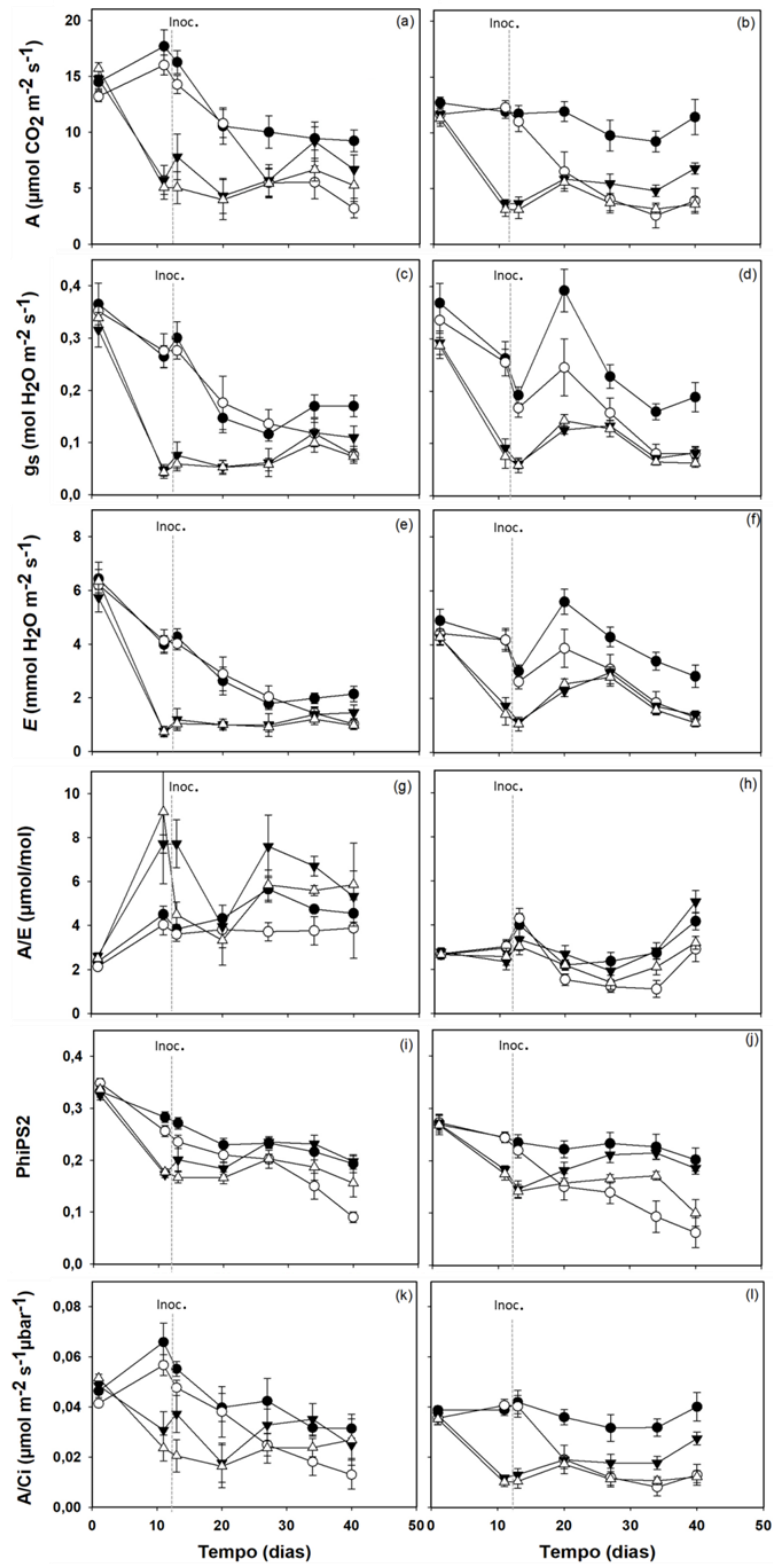


Figura 5. Taxa fotossintética líquida (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E), eficiência do uso da água (A/E), eficiência quântica do fotossistema II (Φ_{PS2}) e eficiência aparente de carboxilação (A/C_i) nos experimentos 1 (a, c, e, g, i, k) e 2 (b, d, f, h, j, l) em folhas de framboeseira cv. Heritage. Os tratamentos correspondem: sadia e sem déficit hídrico, 60% S (●); inoculada e sem déficit hídrico, 60% F (○); sadia e com déficit hídrico, 30% S (▼); e inoculada e com déficit hídrico, 30% F (△). As barras de erro correspondem ao erro padrão médio. Inoc.= momento da inoculação com *P. americanum*.

Tabela 4. Valores da área abaixo das curvas da taxa fotossintética líquida (A), da condutância estomática (g_s), de taxa de transpiração (E), da eficiência do uso da água (A/E), da eficiência quântica do fotossistema II ($PhiPS2$) e da eficiência aparente de carboxilação (A/C_i) em framboeseiras cv. Heritage sobre diferentes regimes hídricos (60% e 30% da CAD), sem e inoculadas com *P. americanum* (S: sem inoculação e F: com ferrugem tardia).

Tratamento	Área abaixo da curva					
	A	g_s	E	A/E	$PhiPSII$	A/C_i
60% S	12,49 a	243073,8 a	3813,43 a	4398,52 a	6,18 a	0,043 a
60% F	7,96 b	182541,4 b	2944,55 a	3293,59 b	4,37 b	0,026 b
30% S	6,89 b	106484,1 c	1890,78 b	5269,30 a	5,45 a	0,027 b
30% F	5,40 b	99192,8 c	1788,61 b	4164,80 a	4,37 b	0,020 b

Valores da coluna seguidos pela mesma letra não diferem significativamente (Scott-Knott, $P < 0,05$).

Relações entre a severidade da ferrugem tardia e trocas gasosas

As áreas das folhas, com 2 cm², de plantas com ferrugem tardia, conduzidas sem e com estresse hídrico, onde foram feitas as medições relacionadas a trocas gasosas, foram fotografadas e com o uso do software Quant, foi quantificada a severidade da doença, ao longo do experimento (Figura 6).

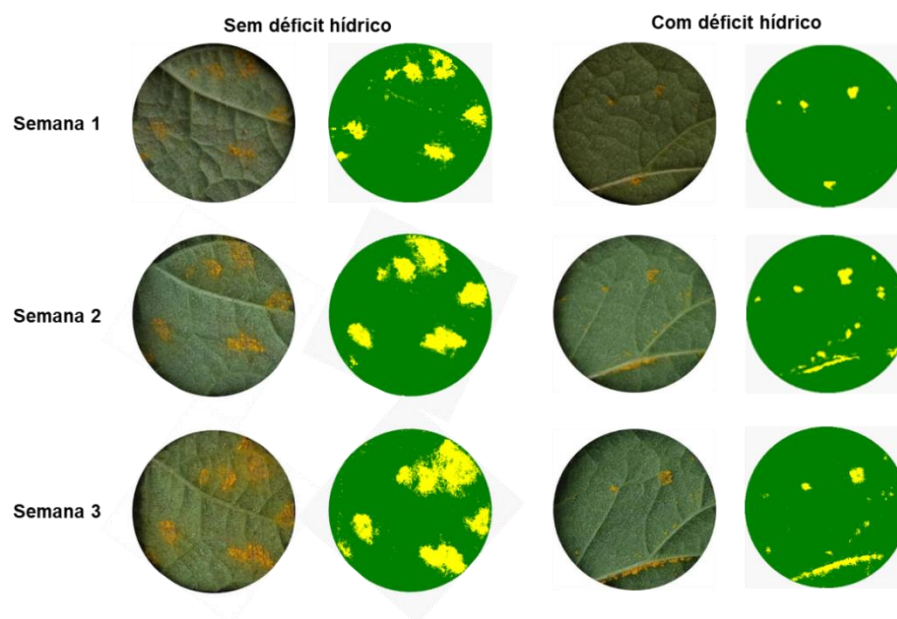


Figura 6. Imagens digitalizadas semanalmente de folhas sintomáticas de framboeseiras cv. Heritage dos tratamentos sem e com déficit hídrico, com área de 2 cm² utilizadas na avaliação dos parâmetros fotossintéticos e na quantificação da severidade de ferrugem tardia pelo software QUANT.

Os dados da taxa fotossintética (A) em relação a severidade de ferrugem tardia da framboeseira, para os tratamentos com plantas conduzidas com e sem estresse hídrico, foram ajustados ao modelo exponencial negativo ($P < 0,05$) (Figura 7).

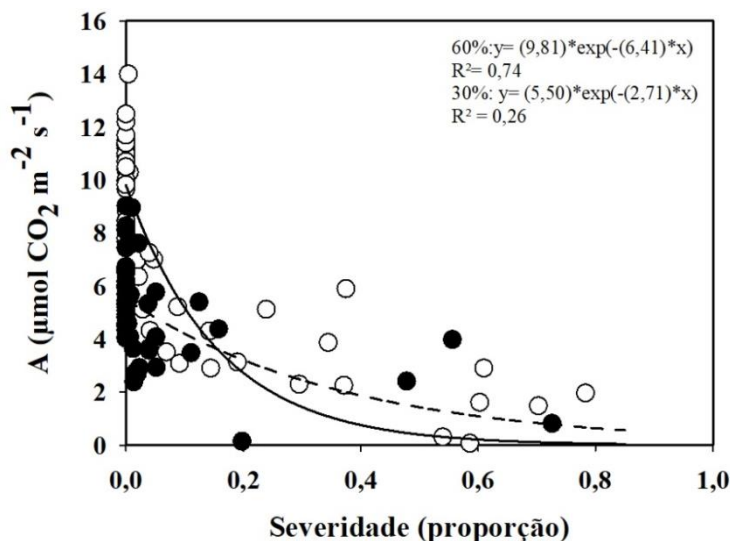


Figura 7. Taxa fotossintética ajustada ao modelo exponencial negativo ($y = a \cdot \exp(-b \cdot x)$) em relação a severidade de ferrugem tardia (*P. americanum*) em framboeseira cv. Heritage sem déficit hídrico, 60% CAD (○) e com déficit hídrico, 30% CAD (●). A linha cheia representa o ajuste modelo para os dados do tratamento sem déficit hídrico e a linha tracejada para o ajuste do modelo para os dados do tratamento com déficit hídrico. Os valores são de dois experimentos.

A taxa fotossintética em folhas assintomáticas foi superior em plantas sem déficit hídrico quando comparada às plantas conduzidas com estresse hídrico (Figura 7, Tabela 5). O estresse hídrico reduziu a taxa fotossintética das plantas conduzidas sem a ferrugem tardia. A inclinação da curva da taxa fotossintética em relação ao aumento da severidade da ferrugem tardia, obtida pelo modelo exponencial negativo, foi mais acentuada em plantas sem déficit hídrico, quando comparadas as plantas com estresse hídrico (Figura 7, Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros do modelo exponencial negativo ($y = a \cdot \exp(-b \cdot x)$) obtidos pelo ajuste dos dados da taxa fotossintética em relação à severidade de ferrugem tardia em framboeseiras cv. Heritage sobre diferentes condições hídricas. O parâmetro a representa o valor da taxa fotossintética em folhas assintomáticas e b é a inclinação da curva.

Tratamentos	Parâmetros do modelo exponencial negativo	
	a	b
Sem déficit hídrico 60% CAD	9,81(0,30) a	6,42(1,12) a
Com déficit hídrico 30% CAD	5,50(0,22) b	2,71(0,97) b

Valores da coluna seguidos pela mesma letra não diferem significativamente (Teste t, $P < 0,05$). Erro em parênteses.

A condutância estomática em função da severidade de ferrugem tardia foi menor em plantas assintomáticas conduzidas em déficit hídrico quando comparada a plantas conduzidas sem estresse hídrico (Figura 8). Os valores de severidade da ferrugem tardia para o tratamento com estresse hídrico são inferiores aos do tratamento sem o déficit, o que pode ser observado pelo acúmulo de pontos no quadrante inferior esquerdo do gráfico, com baixa condutância estomática e baixa severidade. Para o tratamento sem déficit hídrico, os valores de condutância estomática se tornam mais baixos à medida que a severidade aumenta (Figura 8).

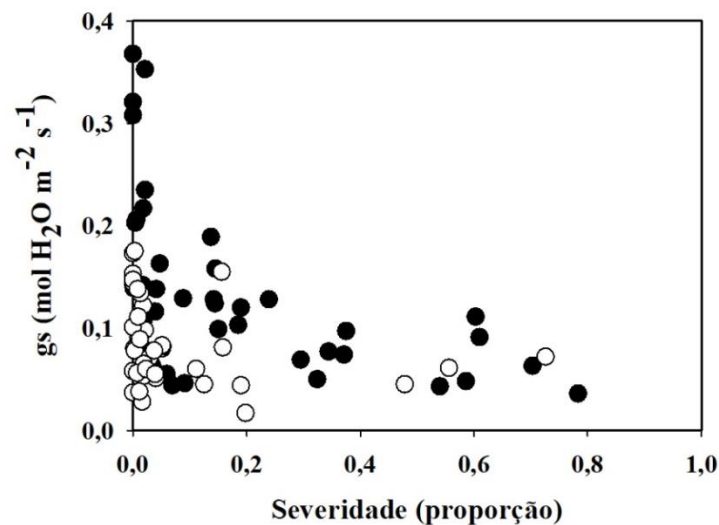


Figura 8. Condutância estomática (g_s) em relação a severidade de ferrugem tardia (*P. americanum*) na framboeseira cv. Heritage sem déficit hídrico (●) e com déficit hídrico (○). Os valores são de ambas as repetições do experimento.

A ferrugem tardia afetou a assimilação de CO₂ não só no tecido com sintomas aparente, mas também ao redor das pústulas. Plantas conduzidas sem déficit hídrico apresentaram a área de lesão virtual 7,86x maior que a do sintoma aparente. Em plantas com déficit hídrico a lesão virtual foi 3,58x maior do que a do sintoma aparente (Figura 9). A lesão virtual em plantas conduzidas sem o déficit hídrico foi maior que em plantas com déficit hídrico, o que permite observar uma maior interferência da doença nas áreas adjacentes as pústulas em folhas neste tratamento. Apesar de apresentar um baixo coeficiente de determinação no tratamento sob déficit hídrico, os valores foram significativos ($P < 0,05$) em ambos os tratamentos (Figura 9).

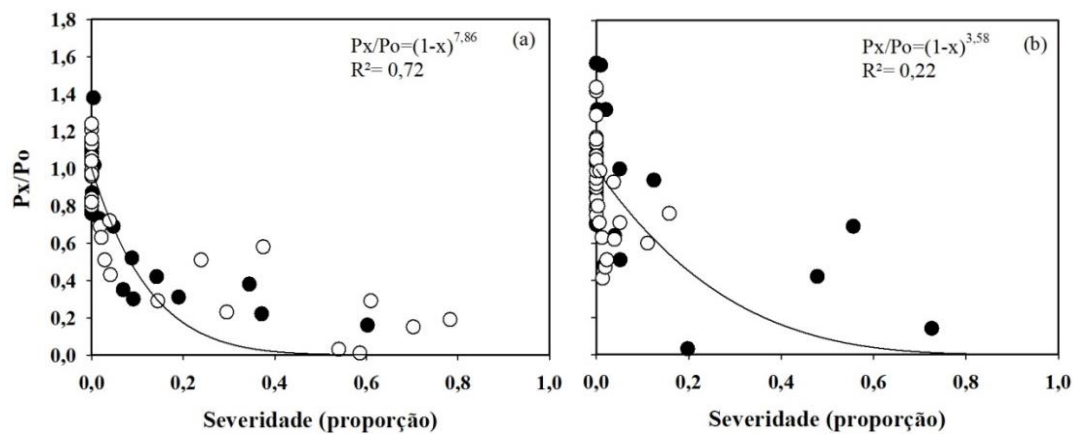


Figura 9. Taxa fotossintética relativa (P_x/P_o) em relação a severidade de ferrugem tardia (*P. americanum*) na framboeseira cv. Heritage sem déficit hídrico (a) e com déficit hídrico (b). Os círculos pretos representam dados do primeiro experimento e os círculos brancos representam dados do segundo experimento. Os dados foram ajustados ao modelo de Bastiaans ($P_x/P_o=(1-x)^\beta$).

5.4. DISCUSSÃO

Em estudos com patossistemas, avalia-se a inter-relação entre a planta, o patógeno e o ambiente (Amorim & Bergamin Filho, 2018). Contudo, as mudanças climáticas antropogênicas vêm causando modificações nessa inter-relação (Ghini et al., 2011). Previsões de ocorrência de doenças de plantas requerem não apenas cenários confiáveis das mudanças climáticas, mas também a caracterização da resposta dos patógenos e da planta a essas modificações (Garret et al., 2011; Vallavieille-Pope et al., 2018).

A framboeseira (*R. idaeus*) é uma planta nativa de clima temperado, assim como o patógeno *P. americanum*, agente causal da ferrugem tardia. Essa doença ocorre no Brasil em diferentes regiões e condições climáticas, causando danos significativos à cultura. Isto demonstra a plasticidade do patógeno em se adaptar as condições ambientais. Entretanto, a mudança do ambiente também modifica a fisiologia da planta que pode mostrar-se mais ou menos suscetível à doença.

Quando as plantas foram expostas a diferentes regimes hídricos (60 e 30% da CAD), o período de incubação foi de 7 e 8 dias para os tratamentos sem e com déficit hídrico, respectivamente. Os mesmos valores foram encontrados por Luffman & Buszard (1989), em experimento conduzido no Canadá. Contudo, pode-se observar que a frequência relativa de infecção, ou seja, o número de pústulas formadas no tempo seguiu o mesmo padrão que os dados para a incidência da doença, em que as plantas sem estresse hídrico (60% da CAD) apresentaram maiores taxas quando comparadas com plantas sob estresse hídrico. Em plantas sem estresse, a velocidade de produção de pústulas foi mais rápida, portanto apresentaram

uma maior taxa de progresso. A taxa de progresso da doença, no caso estimada pelo modelo monomolecular, corresponde a inclinação da curva, assim, a medida que o nível de doença aproxima-se do máximo, de modo aparentemente linear, a curva de progresso gradualmente desacelera e forma um platô (Bergamin Filho, 2018). As perdas causadas pela doença ocorrem em função de seu progresso, assim uma menor taxa significa uma menor expressão de sintomas (Bergamin Filho & Amorim, 2002), que no caso do experimento está associada a presença do déficit hídrico.

A severidade da doença, estimada pelo modelo monomolecular, foi de 33% em plantas sem estresse hídrico e de 13% em plantas submetidas ao estresse abiótico. Em ambos os tratamentos, a taxa de progresso da ferrugem tardia foi semelhante. A elevada severidade da ferrugem está relacionada ao aumento da área lesionada causada por aumento do número de pústulas. O crescimento da lesão é típico de ferrugens, como a ferrugem do café causada por *Hemileia vastatrix*, que pode atingir 80% da área foliar, e ferrugens causadas por *Austropuccinia psidii*, com severidade máxima de 37,3%, em eucalipto (Coutinho et al., 1998; Salustiano et al., 2007; Capucho et al., 2011; Borges et al., 2019).

O déficit hídrico prolongado afetou a intensidade da ferrugem tardia, reduzindo a severidade da doença em framboeseiras, assim como reduziu o crescimento da framboeseira. O crescimento de plantas é afetado pela redução da disponibilidade de água (Farquhar & Sharkey, 1982; Schulze et al., 1987). Uma das primeiras respostas ao déficit hídrico é a inibição da expansão celular (Morales et al., 2013). No experimento foi observada uma menor altura da haste e menor massa seca da parte aérea das plantas em estresse hídrico, quando comparadas às plantas sem esse estresse, com e sem a presença da doença. Em experimentação, costuma-se isolar fatores, como a presença de doenças ou estresses abióticos, para entender melhor o efeito desse fator isolado. A experimentação com múltiplos fatores requer uma análise mais ampla para avaliar a possível sinergia, ou não, entre eles, no progresso da doença.

Danos no desenvolvimento de plantas ocasionados por patógenos são comumente utilizados em modelos de simulação para avaliar quantitativamente a interação entre doença e crescimento da cultura (Willoquet et al., 2008; Savary & Willocquet, 2014). A relação entre presença do patógeno e desenvolvimento da planta ocorre devido a redução da área fotossinteticamente ativa e a ocorrência de desfolha em alguns patossistemas (Kumudini et al., 2008). Em plantas de trigo inoculadas com *Puccinia triticina* a redução do crescimento da planta foi de mais de 50% (Robert et al., 2004). Para a ferrugem da soja (*P. pachyrhizi*), em

que ocorre a desfolha das plantas, a redução do desenvolvimento e da produção é intensa, atingindo 80% (Hartman et al., 1991; Dorrance et al., 2005; Kumudini et al., 2008). No caso do experimento realizado, o estresse abiótico afetou o crescimento da planta mais do que a doença, uma vez que não ocorreu redução da massa seca da parte aérea das plantas em relação à presença da ferrugem tardia. Entretanto, alterações fisiológicas ocorreram nas plantas em que o déficit hídrico foi imposto, visto que as medidas de trocas gasosas apresentaram valores inferiores. Resultados semelhantes foram observados em framboesiras da cv. Heritage associados ao déficit hídrico (Morales et al., 2013; Percival et al., 1998).

Segundo Privé & Janes (2003), o monitoramento da condutância estomática e fotossíntese são as melhores maneiras de se detectar precocemente o estresse hídrico em plantas. No momento da inoculação, a condutância estomática das plantas sob déficit hídrico era 3 vezes menor que nas plantas sem o déficit. A redução da condutância estomática ocorre devido ao fechamento estomático, e é o fator determinante da redução de fotossíntese sobre condições de estresse (Chaves, 1991; Grimmer et al., 2012; Medrano et al., 2002). Muitas ferrugens utilizam a abertura estomática como via de acesso para penetração no hospedeiro, como os gêneros *Puccinia*, *Uromyces* e *Hemileia* (Amorim & Pascholati, 2018). A ferrugem da haste do trigo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) (Solanki et al., 2019) e a ferrugem do feijoeiro (*Uromyces appendiculatus*) (Staples et al., 1985) são exemplos de penetração por estômatos. No caso da ferrugem tardia da framboesira, a penetração de *P. americanum* ocorre somente via estômato (Nelson, 2011). Portanto, no experimento realizado, o fechamento estomático ocorrido devido ao déficit hídrico, provavelmente impediu a entrada do patógeno, o que resultou em uma menor incidência e severidade da doença, quando comparado às plantas em que não havia déficit hídrico e os estômatos estavam mais abertos.

Apesar da redução da condutância estomática estimular uma maior eficiência do uso da água como resposta da planta para evitar a desidratação (Grimmer et al., 2012), o experimento não apresentou uma maior eficiência devido a presença de déficit hídrico, e sim quanto a presença do patógeno, mostrando que as plantas com elevada severidade da doença apresentam uma menor eficiência do uso da água. Por outro lado a transpiração não foi afetada pela presença do patógeno, como é esperado que ocorra devido a ruptura da epiderme com a formação das pústulas (Shtienberg, 1992). Bassanezi et al. (2001) em estudos da ferrugem do feijão também não observou alteração na transpiração em plantas inoculadas.

A taxa fotossintética foi afetada pela ferrugem tardia em framboesiras sem estresse hídrico. Em plantas com estresse hídrico, a taxa fotossintética foi similar entre plantas doentes e não doentes. Em videira inoculada com *P. meliosmae-myrianthae* a taxa fotossintética

líquida diminui 52% em relação a plantas saudáveis, e plantas de soja com ferrugem (*Phakopsora pachyrhizi*) reduz em 19% a taxa fotossintética (Primiano & Amorim, 2020). Elevada redução da fotossíntese é mais frequente em patógenos necrotróficos ou hemibiotróficos que produzem toxinas para acessar recursos, destruindo o tecido do hospedeiro (Bassanezi et al., 2001; Newton et al., 2010). Isto, normalmente, não ocorre em patógenos biotróficos, que se alimentam de células hospedeiras vivas e, em geral, não causam danos colaterais (Newton et al., 2010).

Alterações na taxa fotossintética podem estar ligadas a alterações nos processos fotoquímicos, que podem ser identificadas pela redução da eficiência quântica do fotossistema II (Moriondo et al., 2005). Os parâmetros fotoquímicos das plantas dos tratamentos inoculados foram afetados pela presença do patógeno. A redução da eficiência quântica do fotossistema II interfere no transporte aparente de elétrons para o fotossistema I (ETR) e conseqüentemente pode afetar a regeneração da ribulose 1,5-bifosfato (RuBP) no Ciclo de Calvin (Raven et al., 1992). A eficiência aparente de carboxilação representa o quanto a Rubisco está carboxilando, e sua redução ocorre devido à diminuição da atividade ou da quantidade da enzima. A redução da atividade da Rubisco é observada em patossistemas de patógenos biotróficos, como as ferrugens (Bassanezi et al., 2002; Scholes et al., 1994).

A elevada severidade da doença no tratamento sem o déficit hídrico resultou em uma acentuada queda dos parâmetros de trocas gasosas, reduzindo em 4 vezes o valor de assimilação de CO₂ entre o momento da inoculação e o final do experimento. Os patógenos podem causar reduções na taxa fotossintética das folhas em diversas intensidades, dependendo do tipo de patógeno e hospedeiro (Erickson et al., 2003; Shtienberg, 1992). Em patógenos biotróficos, normalmente a redução na fotossíntese é correlacionada com o aumento da severidade (Shtienberg, 1992). Folhas de trigo com 9% de ferrugem tiveram uma redução de 38,7% da sua taxa fotossintética (McGrath & Pennypacker, 1989). Para a ferrugem do feijão (*U. appendiculatus*) a redução da fotossíntese possui relação com o aumento da severidade (Bassanezi et al., 2001). No experimento, a interferência da severidade da ferrugem tardia na taxa fotossintética ocorreu no tratamento sem déficit hídrico, acompanhando os resultados obtidos de severidade, incidência e frequência de infecção que também foram superiores neste tratamento. Em plantas com estresse hídrico, a intensidade da doença foi menor e taxa fotossintética foi similar em plantas com e sem a ferrugem tardia. Nesse caso não houve sinergismo entre o estresse abiótico e estresse biótico.

Para a condutância estomática a redução foi de 4 vezes entre o momento da inoculação e o final do experimento no tratamento sem o déficit hídrico. Plantas de videira, feijoeiro e trigo com sintomas de ferrugem não apresentaram interferência na condutância estomática pela severidade do patógeno (Nogueira, 2016; Carretero et al., 2011; Bassanezi et al., 2002). Na relação entre condutância estomática e severidade no tratamento sob déficit hídrico houve um acúmulo de folhas com baixa condutância estomática e baixa severidade, enquanto que no tratamento sem déficit hídrico a redução da condutância estomática ocorreu com o aumento da severidade da doença. O fechamento estomático pode ocorrer devido a ação do patógeno e a reação do hospedeiro (Raven et al., 1992). Ferrugens podem inibir a abertura estomática, como feijoeiros infectados com *U. phaseoli* (Duniway & Durbin, 1971) ou com *U. appendiculatus* (Menge et al., 2014). No trabalho realizado por Zhao et al. (2011), com ferrugem amarela da cana-de-açúcar, houve uma relação linear entre a condutância estomática e a severidade da doença quando as medidas foram feitas nas áreas lesionadas da folha.

Intensas reduções na taxa fotossintética sugerem efeitos negativos do patógeno na área foliar verde restante das folhas doentes, enquanto reduções mais brandas podem estar associadas a um aumento da fotossíntese na área verde remanescente das folhas doentes, compensando a perda nas áreas afetadas pela doença (Carretero et al., 2011). A área da lesão virtual observada nos tratamentos sem o déficit hídrico foi elevada, correspondendo a 7,8x maior que a área da lesão visível. Valores de lesões virtuais encontrados para ferrugem normalmente são menores, como de 2,1x maior para a ferrugem do feijoeiro (Bassanezi et al., 2001) e de 3,5x maior para a ferrugem do trigo (Carretero et al., 2011), devido ao fato de serem patógenos biotróficos e que precisam manter o hospedeiro vivo para a sua sobrevivência. Doenças causadas por patógenos necrotróficos possuem uma lesão virtual maior que patógenos biotróficos (Gruber et al., 2012). Contudo, a ferrugem da videira apresenta um comportamento semelhante ao da ferrugem tardia da framboeseira, apresentando um valor de 5,7x maior que a lesão visível, valores semelhantes a alguns patógenos necrotróficos, como na mancha foliar da cerejeira (*Blumeriella jaapii*), 6,57x (Nogueira, 2016; Gruber et al., 2012; Bassanezi et al., 2001). No tratamento sob déficit hídrico o valor da lesão virtual foi de 3,5x maior, próximo ao observado nas demais ferrugens e menos agressiva que no tratamento sem o déficit, devido a ocorrência de uma menor severidade.

5.5. CONCLUSÕES

Framboeseiras sob estresse hídrico apresentam menos ferrugem tardia do que plantas sem o estresse hídrico. Essa diferença pode estar relacionada ao fechamento estomático imposto pela condição de estresse hídrico e pela penetração de *Pucciniastrum americanum* ocorrer exclusivamente por estômatos.

Em plantas sem estresse hídrico a ferrugem tardia reduz a eficiência fotossintética das folhas. Em plantas com estresse hídrico a eficiência fotossintética das folhas é reduzida exclusivamente pelo estresse abiótico.

A severidade da doença reduz a taxa fotossintética nas áreas lesionadas e verdes adjacentes às lesões, em maior grau nas plantas sem estresse hídrico.

Não há sinergia entre estresse biótico e abiótico. No caso, não há aumento da intensidade da ferrugem tardia ou redução da eficiência fotossintética, em folhas de plantas com estresse hídrico comparadas a de plantas sem estresse hídrico.

REFERÊNCIAS

- Amorim L, Bergamin Filho A (2018) Fenologia, patometria e quantificação de danos. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 499-518.
- Amorim L, Pascholati SF (2018) Ciclo de relações patógeno-hospedeiro. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 45-70.
- Arthur JC (1929) Plant Rust. **F. H. Gibson Co** 346-347.
- Atkinson NJ, Urwin PE (2012) The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. **Journal of Experimental Botany** 63:3523–3543.
- 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, Amorim L, Bergamin Filho A, Berger RD (2002) Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. **Journal of Phytopathology** 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.
- Bergamin Filho A, Amorim L (1996) Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico. Ceres.
- Bergamin Filho A, Amorim L (2002) Doenças com período de incubação variável em função da fenologia do hospedeiro. **Fitopatologia Brasileira** 27(6):561-565.
- Bergamin Filho (2018) Análise temporal de epidemias. In: Amorin L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 519- 530.
- Bergamin Filho A, Amorim L, Willocque, L, Savary S (2018) Epidemiologia de doenças de plantas. In: Amorin L, Rezende JAM, Bergamin Filho A. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. v.1. 5a Ed., 70-83.
- Borges LS, Rios JÁ, Aucique-Pérez CE, Belisário R, Duarte HSS, Furtado GQ (2019) Standard area diagram set to assess rust severity on eucalyptus leaves. **Forest Pathology** 49:1-4.
- Caminiti A, Silveira CAP, Antunes LEC, Potes ML, Pagot E (2016) Técnicas de produção de framboesa e mirtilo. Brasília: **Embrapa Clima Temperado**.
- Campbell CL, Madden LV (1990) Introduction to plant disease epidemiology. New York: Wiley-Interscience, John Wiley & Sons.
- Capucho AS, Zambolim L, Duarte HSS, Vaz GRO (2011) Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in Coffea arabica and C. canephora. **Plant Pathology** 60(6):1144-1150.
- Carretero R, Bancal dMO, 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** 35:237-246.
- Casaroli D, Van Lier QJ (2008) Critérios para determinação da capacidade de vaso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 32:59-66.
- Chaves M. (1991) Effects of water deficit on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany** 42:1–16.
- Cortéz FAM, Chan-Cupul W, Nava MTB, Hernández-Ortega HA, Manzo-Sánchez G, Velasco EG (2019) Biological control of late leaf rust disease [*Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arthur] in raspberry (*Rubus idaeus* L.) using two biological products: *Bacillus subtilis* (Fungizard®) and *Larrea tridentata* botanic extract (CleanCrop®) under greenhouse conditions. **Idesia** 37(1):125-133.

- Coutinho TA, Wingfield MJ, Alfenas AC, Crous PW (1998) Eucalyptus rust: A disease with the potential for serious international implications. **Plant Disease** 82:819–825.
- Diniway JM, Durbin RD (1971) Some effects of *Uromyces phaseoli* on the transpiration rate and stomatal response of bean leaves. *Phytopathol.* 61:114-119.
- Dodge O (1923) Morphology and host reactions of *Pucciniastrum americanum*. **Journal Agricultural Research** 24: 885-894.
- Dolan A, MacFarlane S, Jennings SN (2018) Pathogens in Raspberry and Other *Rubus* spp. In: Graham J, Brennan R. Raspberry: breeding, challenges and advances. **Springer** 41-61.
- Dorrance AE, Draper MA, Hershman DE (2005) Using foliar fungicides to manage soybean rust: Economic importance of soybean rust. *Land Grant Universities Cooperating* 504.
- 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, Sharkey T (1982) Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology** 33, 317–345.
- Frizzone JA (2017) Necessidade de Água para Irrigação. 56.
- Funt RC, Ross DS (2013) Soil and water management. In: Funt RC, Hall HK. ed. Raspberries. *Crop Production Science in Horticulture series* 23. **CAB International** 103-119.
- Garrett KA, Forbes GA, Savary S, Skelsey P, Sparks AH, Valdivia C, van Bruggen AHC, Willocquet L, Djurle A, Duveiller E, Eckersten H, Pande S, Vera Cruz C, Yuen J (2011) Complexity in climate-change impacts: an analytical framework for effects mediated by plant disease. **Plant Pathology** 60(1):15-30.
- Ghini R, Hamada E, Bettiol W (2011) Impacto das mudanças climáticas sobre as doenças de plantas. In: Ghini R, Hamada E, Bettiol W. Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente.
- Grimmer MK, Foulkes MJ, Paveley ND (2012) Foliar pathogenesis and plant water relations: a review. **Journal of Experimental Botany** 63(12):4321-4331.
- Gruber BR, Kruger EL, McManus OS (2012) Effects of Cherry Leaf Spot on Photosynthesis in Tart Cherry ‘Montmorency’ Foliage. **Phytopathology** 102(7):657-661.
- Hartman GL, Wang TC, Tschanz AT (1991) Soybean rust development and the quantitative relationship between rust severity and soybean yield. **Plant Disease** 75:596–600.
- Kumudini S, Godoy CV, Board JE, Omielan J, Tollenaar M (2008) Mechanisms involved in soybean rust-induced yield reduction. **Crop Sci.** 48:2334–2342.

- Lago I, Streck NA, Bisognin DA, De Souza AT, Da Silva MR (2011) Transpiração e crescimento foliar de plantas de mandioca em resposta ao déficit hídrico no solo. **Pesquisa agropecuária brasileira** 46:1415-1423.
- Luffman M, Buszard D (1989) Susceptibility of primocanes of six red raspberry cultivars to late yellow rust [*Pucciniastrum americanum* (Farl.) Arth.]. **Canadian Plant Disease Survey** 69(2):117-119.
- McGrath M T, Pennypacker S P (1989) Alteration of physiological processes in wheat flag leaves caused by stem rust and leaf rust. **Ecology and Epidemiology** 80(8):677-686.
- Medeiros JF de, Santos SCL, Câmara MJT, Negreiros MZ de (2007) Produção de melão Cantaloupe influenciado por coberturas do solo, agrotêxtil e lâminas de irrigação. **Revista Horticultura Brasileira** 25.
- Medrano H, Escalona JM, Bota J, Gulias J, Flexas J (2002) Regulation of photosynthesis in C3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. **Annals of Botany** 89:895–905.
- Menge DMS, Makobe M, Monda EO, Okemo PO (2014) Effects of crude extracts on some selected physiological parameters of French beans (*Phaseolus vulgaris*) infected with rust (*Uromyces appendiculatus*). **African Journal of Plant Science** 8(7):356-363.
- Morales CG, Pino MT, del Pozoc A (2013) Phenological and physiological responses to drought stress and subsequent rehydration cycles in two raspberry cultivars. **Scientia Horticulturae** 162:234-241.
- Moriondo M, Orlandini S, Giuntoli A, Bindi M (2005) The effect of downy and powdery mildew on grapevine (*Vitis vinífera* L.) leaf gas exchange. **Journal of Phytopathology** 153:350-357.
- Newton AC, Fitt BDL, Atkins SD, Walters DR, Daniell TJ (2010) Pathogenesis, parasitism and mutualismo in the trophic space of microbe–plant interactions. **Trends in Microbiology** 18(8):365–373.
- Nickerson NL (1991) Late leaf rust. In: Ellis MA, Converse RH, Williams R.N, Williamson B (Ed.). Compendium of Raspberry and Blackberry Diseases and Insects. Saint Paul, **APS Press** 30-32.
- Nogueira Júnior AF (2016) Quantificação e modelagem de mecanismos de danos causados por *Phakopsora euvitis* e *Plasmopara vitícola* em videira *Vitis labrusca* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Nelson S (2011) Raspberry late leaf rust in Hawaii caused by *Pucciniastrum americanum*. **Plant Disease** 5.

- Percival DC, Proctor JTA, Privé J-P (1998) Gas exchange, stem water potential and leaf orientation of *Rubus idaeus* L. are influenced by drought stress. **Journal of Horticultural Science** 73, 831–840.
- Primiano IV, Amorim L (2020) Comparative study on the monocycle of *Phakopsora meliosmae-myrianthae* and *Phakopsora pachyrhizi*. **European Journal of Plant Pathology** 157:151–162.
- Privé JP, Janes D (2003) Evaluation of plant and soil moisture sensors for the detection of drought stress in raspberry. **Acta Horticulturae** 618:391–396.
- Ramakrishna A, Ravishankar GA (2011) Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signalling & Behavior** 6: 1720-1731.
- Rasmussen S, Barah P, Suarez-Rodriguez MC, Bressendorff S, Friis P, Costantino P, Bones AM, Nielsen HB, Mundy J (2013) Transcriptome responses to combinations of stresses in *Arabidopsis*. **Plant Physiology** 161:1783–1794.
- Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE (1992) Photosynthesis. In: *Biology of Plants*. 5. Ed. Worth Publishers 728.
- Richards LA (1947) Pressure membrane apparatus, construction, and use. **Agricultural Engineering** 28:451-54.
- Robert C, Bancal MO, Nicolas P, Lannou C, Ney B (2004) Analysis and modelling of effects of leaf rust and *Septoria tritici* blotch on wheat growth. **Journal of Experimental Botany** 55(399):1079-1094.
- Salustiano ME, Pozza EA, Ferraz Filho AC, Souza PE (2007) Expansão da pústula da ferrugem em três cultivares do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira** 32(2)-146–149.
- Savary S, Willocquet L (2014) Simulation modeling in botanical epidemiology and crop loss analysis. **The Plant Health Instructor**.
- 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.
- 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.
- Schulze ED, Robichaux RH, Grace J, Rundel PW, Ehleringer JR (1987) Plant water balance. **Bioscience** 37:30–37.

- Shtienberg D (1992) Effects of foliar diseases on gas exchange processes: A comparative study. **Phytopathology** 82:760-765.
- Silva MB, Vale FXR, Zambolim L, Paula JR.T.J (1998) Caracterização da curva de progresso da ferrugem do feijão em diferentes épocas de plantio em Viçosa-MG. **Fitopatologia Brasileira** 23:139-142.
- Solanki S, GazalaAmeen, Borowicz P, Brueggeman RS (2019) Shedding light on penetration of cereal host stomata by wheat stem rust using improved methodology. **Nature** 9:7939.
- Spósito MB, Bassanezi RB, Amorim L (2004) Resistência à mancha preta dos citros avaliada por curvas de progresso da doença. **Fitopatologia Brasileira** 29(5):532-537.
- Staples RC, Hoch HC, Epstein L, Laccetti L, Hassouna S (1985) Recognition of host morphology by rust fungi: responses and mechanisms. **Canadian Journal of Plant Pathology** 7:314-322.
- de Vallavieille-Pope C, Bahri B, Leconte M, Zurfluh O, Belaid Y, Maghrebi E, Huard F, Huber L, Launay M, Bancal MO (2018) Thermal generalist behaviour of invasive *Puccinia striiformis* f. sp. tritici strains under current and future climate conditions. **Plant Pathology** 67(6):1307-1320.
- Vale FXR, Fernandes Filho EIF, Liberato JR (2003) QUANT—a software for plant disease severity assessment. In: Proceedings of the 8th International Congress of Plant Pathology. Christchurch, NZ 105.
- Wang Y, Frei M (2011) Stressed food – The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 141: 271-286.
- Wilocquet L, Aubertot 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.
- Zandalinasa I, Mittlerb R, Balfagóna D, Arbona V, Cadenas AG (2018) Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia Plantarum** 162: 2–12.
- 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.