

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**AVALIAÇÃO *in vitro* DA RESISTÊNCIA DE DIFERENTES
GENÓTIPOS DE VIDEIRA À FERRUGEM**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ANDRIO SPILLER COPATTI

**ITAQUI, RS, BRASIL
2011**

ANDRIO SPILLER COPATTI

**AVALIAÇÃO *in vitro* DA RESISTÊNCIA DE DIFERENTES
GENÓTIPOS DE VIDEIRA À FERRUGEM**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenharia Agrônoma**.

Orientador: Prof. Leocir José Welter

Itaqui, RS, Brasil
2011

COPATTI, Andrio Spiller.
Avaliação *in vitro* de diferentes genótipos de videiras à ferrugem / Andrio Spiller Copatti. 22/12/2011.

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia)
Universidade Federal do Pampa, 22/12/2011. Orientação: Prof.
Dr. Leocir José Welter.

1. Ferrugem da videira. 2. Produção vitivinícola. 3. Resistência genética. I. WELTER, Leocir José. Avaliação *in vitro* de diferentes genótipos de videiras à ferrugem.

ANDRIO SPILLER COPATTI

**AVALIAÇÃO *in vitro* DA RESISTÊNCIA DE DIFERENTES
GENÓTIPOS DE Videira À FERRUGEM**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Agronomia da Universidade Federal do
Pampa (UNIPAMPA), como requisito
parcial para obtenção do grau de
Engenharia Agrônômica.

Trabalho de Conclusão de Curso, defendido e aprovado em:
21 de dezembro de 2011.
Banca examinadora:

Prof. Dr. Leocir José Welter
Orientador
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Prof. Dr. Clevison Luiz Giacobbo
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Prof^a. Dr^a. Luciana Zago Ethur
Curso de Agronomia - UNIPAMPA

Dedico este trabalho aos meus amados pais, Ademir Antonio Copatti e Ivone Spiller Copatti, maiores incentivadores e fontes inesgotáveis de apoio, amor e compreensão. Em especial a meu pai, por ser meu maior exemplo de profissional para a escolha do curso de agronomia.

AGRADECIMENTO

Ao Prof. Dr. Leocir José Welter pela orientação e pelo apoio e estímulo transmitido durante toda a realização desta monografia.

Ao Prof. Dr. Clevison Luiz Giacobbo, pelo suporte técnico e pelo espaço cedido na casa de vegetação

A todos os professores minha gratidão, pela forma de conduzir o curso em todo seu decorrer.

Ao Centro Nacional de Pesquisa da Uva e do Vinho – EMBRAPA Uva e Vinho, em especial aos pesquisadores Dr. Luiz Fernando Revers e Dr. João Dimas Garcia Maia, por terem disponibilizado parte do material vegetal utilizado.

A professora “Tuca”, fitopatologista da Pontifícia Universidade Católica, PUC – RS, Campus Uruguaiana, pelas plantas cedidas.

A todos os colegas de curso pelo convívio e pelos momentos de amizade. É um agradecimento especial aos colegas que colaboraram desde o plantio das videiras até a conclusão do trabalho.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.

“Os que desprezam os pequenos acontecimentos nunca farão grandes descobertas. Pequenos momentos mudam grandes rotas”.

Augusto Cury

RESUMO

AVALIAÇÃO *in vitro* DA RESISTÊNCIA DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE VIDEIRA À FERRUGEM

Autor: Andrio Spiller Copatti

Orientador: Prof. Dr. Leocir José Welter

Local e data: Itaquí, 22 de dezembro de 2011.

A ferrugem da videira (*P. euvitis*) surgiu no Brasil, inicialmente, infectando plantas de uvas de mesa no norte do estado do Paraná, sendo registrado seu aparecimento, inicialmente, no ano de 2001. Posteriormente, houve registros da presença da doença também em parreirais dos estados de Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio Grande do Sul, Mato Grosso e recentemente em Santa Catarina. Devido, a ferrugem não ocorrer em regiões vitivinícolas tradicionais do mundo, as informações sobre a resistência genética à *P. euvitis* são escassas. As buscas por genótipos com maiores graus de resistência a doença são relevantes e necessárias para programas de melhoramento genético. Objetivou-se com o presente trabalho, avaliar o nível de resistência de diferentes genótipos de videira, visando identificar resistência genética à ferrugem (*P. euvitis*). Os estudos foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UNIPAMPA/Campus Itaquí. Utilizaram-se 24 genótipos representando diferentes espécies de videira, dos quais, foram recortados discos foliares de 14 mm e depositados em placas de Petri sobre papel germitest®, previamente, umedecido com a parte abaxial virada para cima. Os discos foram inoculados com uma suspensão de uredinósporos de *P. euvitis*, com concentração de 2×10^3 esporos.mL⁻¹. As placas de Petri foram, posteriormente, armazenados em câmara BOD, com temperatura constante de 24 °C ± 2 e fotoperíodo de 16 horas de luz. As avaliações realizadas foram: determinação do período latente; contagem do número de pústulas; determinação da esporulação e definição de uma escala de resistência. Todos os genótipos avaliados apresentaram sintomas da ferrugem da videira, ou seja, nenhum deles possui resistência genética completa contra a doença. Os genótipos *V. candicans*, *V. longii*, *V. caribea*, *V. amurensis*, Gropel e IAC-572 apresentaram grau moderado de resistência à doença, enquanto que os genótipos Baco 10, *V. thumbergii*, *V. slavinii* e *V. vulpina* foram os mais suscetíveis. Estes dados possuem grande importância, visto que, podem ser utilizados como suporte a programas de melhoramento genético que visem à diminuição das perdas que podem ser causadas pela doença. Faz-se necessária a realização de novas pesquisas, na busca por genótipos com maiores graus de resistência genética ao ataque do fungo.

Palavras-chave: Ferrugem da videira, produção vitivinícola, resistência genética, *P. euvitis*.

ABSTRACT

EVALUATION OF RESISTANCE *in vitro* OF DIFFERENT GENOTYPES GRAPE RUST

Author: Andrio Spiller Copatti

Supervisor: Leocir José Welter

Itaqui, December 22, 2011.

Grapevine leaf rust - GLR (*Phakopsora euvitidis* ONO) was firstly identified in Brazil in the North of Paraná in 2001. After that, the pathogen was also detected in Mato Grosso do Sul, São Paulo, Rio Grande do Sul, Mato Grosso and, more recently, in Santa Catarina. Due GLR does not cause major losses at traditional wine growing regions of the world, there are only few investigations involving the disease. The assessment of genotypes resistant to *P. euvitidis* is extremely relevant and necessary for grapevine breeding programs. The present investigation aimed the evaluation of the level of resistance to *P. euvitidis* from different grapevine genotypes. The investigation was performed at the Laboratory of Microbiology and Phytopathology of the Unipampa/Campus Itaqui. Twenty four different genotypes, belonging to different grapevine species, were evaluated. Leaves were cut into discs, placed on moist filter paper with the under (abaxial) surface facing upwards and sealed individually in Petri dishes. Leaf discs were inoculated on the under surface with a spore suspension containing 2×10^3 spores.mL⁻¹. The Petri dishes were stored in BOD, under temperature of 24 °C ± 2 and photoperiod of 16 hours light. The parameters evaluated were: determination from the latent period; quantification of the number of pustules per disc; quantification of the sporulation and determination of a resistance scale based on the number of pustules. None of the 24 grapevine genotypes evaluated was symptomless to GLV, i.e. none of the grapevine genotypes evaluated possesses major resistance genes to the disease. The genotypes *V. candicans*, *V. longii*, *V. caribea*, *V. amurensis*, Gropel and IAC-572 revealed a moderate resistance to the disease, while the genotypes Baco 10, *V. thumbergii*, *V. slavinii* and *V. vulpine* are the most susceptible. These findings are very important for the grapevine breeding, because they can be used for the development of strategies to avoid or to reduce the damages caused by the GLR. However, further investigations are required in order to find genotypes more resistant to the disease.

Keywords: Grape Rust, wine production, genetic resistance, *P. euvitidis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Genótipos utilizados para os estudos de resistência à <i>P. euvitis</i>	16
Figura 2 Multiplicação de urediniósporos em folhas destacadas e videiras Niágara rosada.....	17
Figura 3 (A) Corte dos discos; (B) Discos foliares cortados; (C) Discos dispostos nas placas de Petri; (D) Deposição de gota de suspensão de urediniósporos.....	18
Figura 4 (A) Disco foliar em ependorf com solução de água destilada e Tween 0,01%; (B) Contagem de urediniósporos em Câmara de Neubauer com auxílio de microscópio óptico; (C) Centrifugação dos disco foliares; (D) Tubos ependorf contendo suspensão de esporos.....	21
Figura 5 Necroses causadas na face adaxial de discos foliares de folhas de videiras.....	21
Figura 6 Urédias de <i>P. euvitis</i> observadas em estereoscópio óptico (aumento: 20x).....	25
Figura 7 Genótipos utilizados nas avaliações, sintomas causados por <i>P. euvitis</i> visíveis em todos os tratamentos.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Genótipos de <i>Vitis spp.</i> avaliados quanto a resistência à ferrugem da videira.....	15
Tabela 2. Escala de notas para quantificação de níveis de resistência a ferrugem da videira em discos foliares de 14 mm de diâmetro.....	20
Tabela 3. Aparecimento de sintomas (período latente) de <i>P. euvitis</i> em dias após a inoculação, nos diferentes genótipos estudados.....	23
Tabela 4. Número médio de pústulas presentes em cada disco foliar.....	24
Tabela 5. Quantificação da esporulação dos diferentes genótipos avaliados.....	26
Tabela 6. Médias de notas atribuídas a cada genótipo, de acordo com a quantidade de pústulas presentes na face abaxial dos discos foliares.....	28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	15
2.1 MATERIAL VEGETAL.....	15
2.2 BIOENSAIOS.....	16
2.2.1 OBTENÇÃO DO INÓCULO	16
2.2.2 PREPARO DA SUSPENSÃO DE UREDINIÓSPOROS.....	16
2.2.3 PREPARO DO MATERIAL VEGETAL PARA OS TESTES.....	17
2.2.4 INOCULAÇÃO DE <i>P. Euvitis</i>	19
2.3 AVALIAÇÕES E ANÁLISE DOS DADOS.....	19
2.3.1 APARECIMENTO DOS SINTOMAS DA DOENÇA (PERÍODO LATENTE).....	19
2.3.2 NÚMERO DE PÚSTULAS	19
2.3.3 ESCALA DE RESISTÊNCIA	19
2.3.4. INTENSIDADE DE ESPORULAÇÃO	20
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
3.1 PERÍODO LATENTE.....	22
3.2 NÚMERO DE PÚSTULAS POR DISCO	24
3.4 INTENSIDADE DE ESPORULAÇÃO.....	25
3.3 ESCALA DE RESISTÊNCIA.....	26
3.4 INTEGRAÇÃO DOS PARÂMETROS AVALIADOS.....	28
4 CONCLUSÕES	30
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

A ferrugem da videira (*Phakopsora euvitis* ONO) foi relatada no Brasil pela primeira vez no norte do Paraná, no ano de 2001, infectando videiras de mesa da variedade Itália (TESSMANN et al. 2004). Posteriormente, sua presença foi relatada em videiras de vários outros estados das regiões Sul, Sudeste, Centro-oeste e Nordeste do País (TESSMANN & VIDA, 2005).

O agente etiológico da ferrugem da videira (*P. euvitis*) é um fungo, parasita obrigatório, que coloniza obrigatoriamente tecidos vivos da planta (SÔNEGO, et al., 2005). Pertence ao filo Basidiomycota, estando inserido na ordem dos Uredinales e família dos Phakopsoraceae (MENDES & FREITAS, 2005).

De acordo com o Parecer Técnico N° 30/DPC/CPD do MAPA, de maio de 2002, a ferrugem da videira é classificada como praga quarentenária A2, possuindo importância econômica potencial, já estando presente no Brasil, porém, não amplamente distribuída no território nacional (SÔNEGO et al., 2005).

A principal maneira de se identificar os sintomas da doença é pelo surgimento de pústulas amareladas, com a presença de urediniósporos na face abaxial das folhas, e a ocorrência de necroses, com manchas de tamanhos e formas variadas, de coloração castanho-avermelhadas na face adaxial das folhas (GOMES et al., 2010). Quando o ataque de *P. euvitis* ocorre com maior severidade, pode ocasionar desfolha precoce, prejudicando o amadurecimento dos frutos, refletindo em perdas de produção e qualidade dos mesmos, bem como reduzindo o acúmulo de reservas nutricionais, comprometendo o vigor da planta e pondo em risco safras futuras (MAGALHÃES et al., 2008).

Nas condições climáticas brasileiras, a doença pode ocorrer de duas maneiras: 1) em regiões de climas tropicais e subtropicais a ocorrência da doença se dá durante todo o ano devido à presença de folhas, ocorrendo desde o início do ciclo da cultura. 2) em regiões de climas temperados, onde as temperaturas são mais amenas, a doença tem sido observada principalmente no final do ciclo das videiras (SÔNEGO et al., 2005).

O potencial de infecção do fungo é favorecido por condições de alta umidade e períodos prolongados de molhamento foliar (MAGALHÃES et al., 2008). A temperatura ótima para a germinação dos urediniósporos é de 24°C. Nestas

condições as pústulas podem ser visualizadas cinco a seis dias após a inoculação (SÔNIGO et al., 2005). Em geral, *P. euvitis* se desenvolve em uma ampla faixa de temperatura, que determina o período de latência até o surgimento do processo infeccioso (MAGALHÃES et al., 2008).

A ferrugem da videira que ocorre no Brasil, e é causada por *P. euvitis* está ausente na Europa. No Brasil, sua dispersão é altamente negativa, visto que, afetaria exportações de produtos derivados da vitivinicultura, devido a possíveis barreiras quarentenárias impostas pela União Européia (MENDES & FREITAS, 2005).

Possivelmente, devido a não ocorrência da doença em regiões vitivinícolas tradicionais do mundo, as informações sobre resistência genética a ferrugem da videira são limitadas. No entanto, a expansão da vitivinicultura para novas regiões, podem aumentar a importância econômica da doença (ANGELOTTI et al., 2008). Além disso, as mudanças climáticas previstas podem alterar o clima de tal forma que favoreçam o desenvolvimento da doença. Deste modo, de forma preventiva, é de extrema relevância o desenvolvimento de estudos mais detalhados, buscando formas de controle da doença.

A resistência genética é uma estratégia desejável do ponto de vista econômico e ambiental. Deste modo, a identificação de genótipos resistentes a ferrugem é desejável e necessária. Estes podem então ser utilizados em programas de melhoramento da videira para o desenvolvimento de variedades resistentes à doença. O nível de resistência a doença é expressa através da combinação de diversas características, tais como, frequência de infecções, tamanho de pústulas, quantidade de esporos produzidos e período de latência (ANGELOTTI, et al., 2008).

Selecionando os genótipos com características de resistência superiores, tendo em vista o uso dos dados obtidos em posteriores programas de melhoramento genético, que auxiliem na prevenção ou diminuição do aparecimento dos sintomas e prejuízos causados pela ferrugem da videira.

Objetivou-se com o presente trabalho, avaliar o nível de resistência de várias espécies de videira, visando identificar resistência genética à ferrugem (*P. euvitis*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal

Os 24 (vinte e quatro) genótipos utilizados nos tratamentos foram produzidos através de sarmentos provenientes de plantas do Centro Nacional de Pesquisa da Uva e do Vinho (EMBRAPA Uva e Vinho) de Bento Gonçalves - RS, além de plantas buscadas junto a Pontificae Universidae Católica, PUC – RS, Campus Uruguaiiana (Tabela 1).

A multiplicação dos sarmentos deu-se através da preparação de estacas lenhosas de duas a três gemas que, posteriormente, foram imersas em hormônio enraizador (ácido indolbutírico – AIB) na concentração de 2000 ppm, durante um período de 10 segundos. Após o tratamento as estacas foram plantadas em embalagens plásticas para mudas de 500 cm³ contendo substrato. O substrato foi preparado na proporção (1:1:2:2) substrato comercial Turfa Fertil®, areia de rio, casca de arroz carbonizada e composto vegetal.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação com irrigação constante desde o plantio até a realização dos ensaios de resistência (Figura 1).

Tabela 1. Genótipos de *Vitis spp.* avaliados quanto a resistência à ferrugem da videira.

Genótipos	Genótipos
<i>V. giardiana</i>	<i>V. andersoni</i>
<i>V. caribea</i>	Syrah (<i>V. vinifera</i>)
<i>V. candicans</i>	<i>V. yeshanensis</i>
IAC 572 (<i>V. tiliifolia</i> x 101-14 Mgt)	<i>V. betulifolia</i>
Niagara rosada (<i>V. labrusca</i>)	<i>V. thunbergi</i>
<i>V. longii</i>	Jaques (<i>V. aestivalis</i> x <i>V. vinifera</i>)
<i>V. slavinii</i>	IAC 766 (<i>V. tiliifolia</i> x 106-8 Mgt)
<i>V. doaniana</i>	<i>V. shuttleworthii</i>
<i>V. vulpina</i>	Gropel (<i>V. Bourquina</i>)
Violeta (<i>V. labrusca</i>)	<i>V. amurensis</i>
<i>V. monticola</i>	Cab. Sauvignon (<i>V. vinifera</i>)
Baco1 (<i>V. riparia</i> x <i>V. labrusca</i>)	Paulsen 1103



Fonte: COPATTI, 2011.

Figura 1. Genótipos utilizados para os estudos de resistência à *P. euvitis*.

2.2 Bioensaios

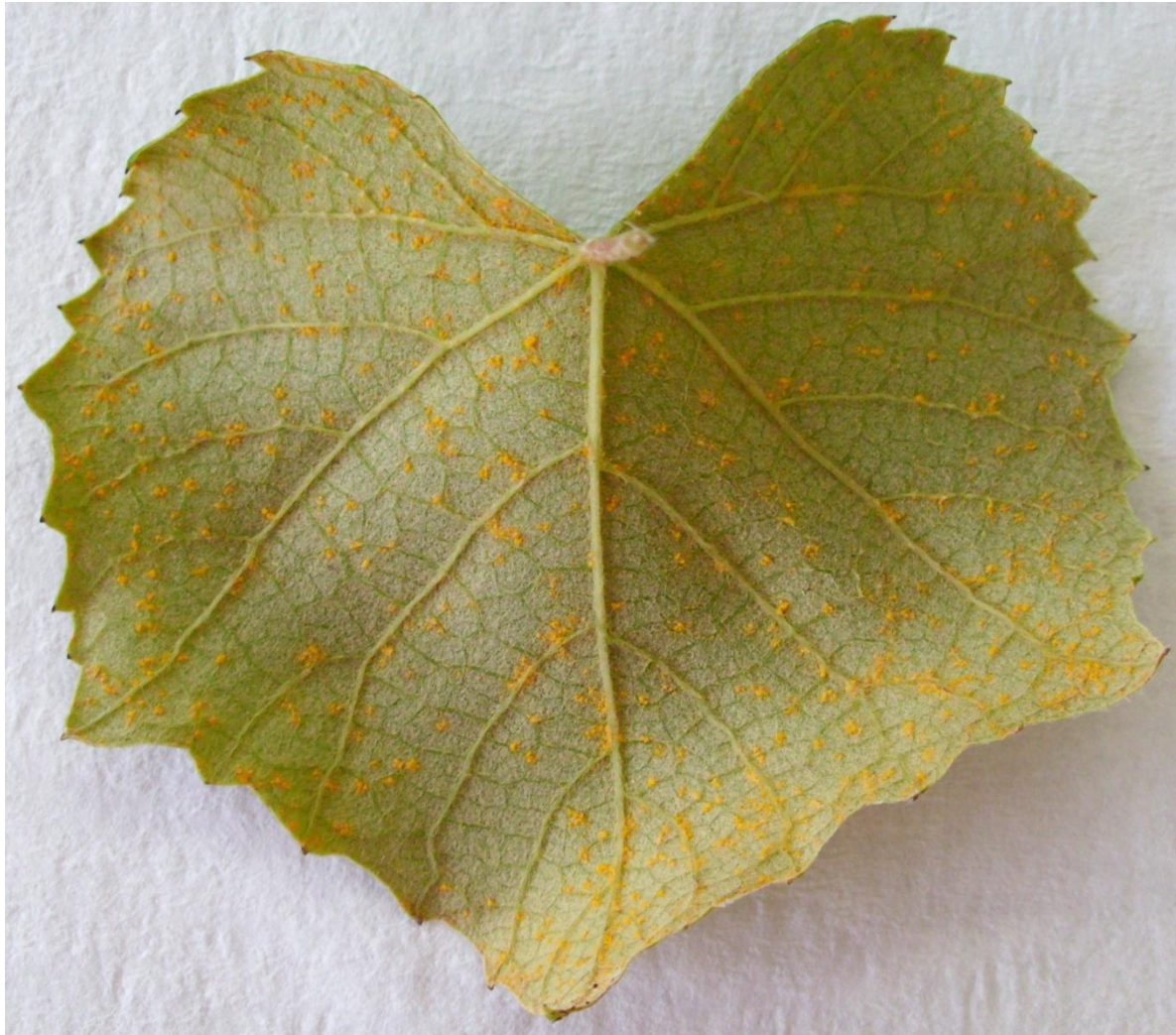
As avaliações foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA, Campus Itaqui, RS.

2.2.1 Obtenção do Inóculo

O inóculo foi obtido a partir da multiplicação *in vitro* de urediniósporos armazenados em freezer $-18^{\circ}\text{C} \pm 2$, coletados durante o ciclo vegetativo 2010/2011, em folhas de videira *V. labrusca* var. Niágara rosada. A multiplicação foi realizada em placas de Petri contendo em seu interior papel Germitest® umedecidos, sobre o qual foi disposta uma folha de videira por placa, com a parte abaxial voltada para cima. As folhas foram pulverizadas com solução de esporos de *P. euvitis* com concentração de 10^5 esporos.mL⁻¹ e mantidas por 12 dias em Câmara Climatizada Tipo BOD (demanda bioquímica de oxigênio), com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $24^{\circ}\text{C} \pm 2$. até o completo desenvolvimento das pústulas (Figura 2).

2.2.2 Preparo da Suspensão de Urediniósporos

Preparou-se a solução de urediniósporos a partir de inóculos previamente produzidos *in vitro* (item 2.2.1). A suspensão de urediniósporos foi calibrada com auxílio de câmara de Neubauer à 2×10^3 esporos.mL⁻¹ e mantidas por um período de uma hora em geladeira à $5^{\circ}\text{C} \pm 2$.



Fonte: COPATTI, 2011.

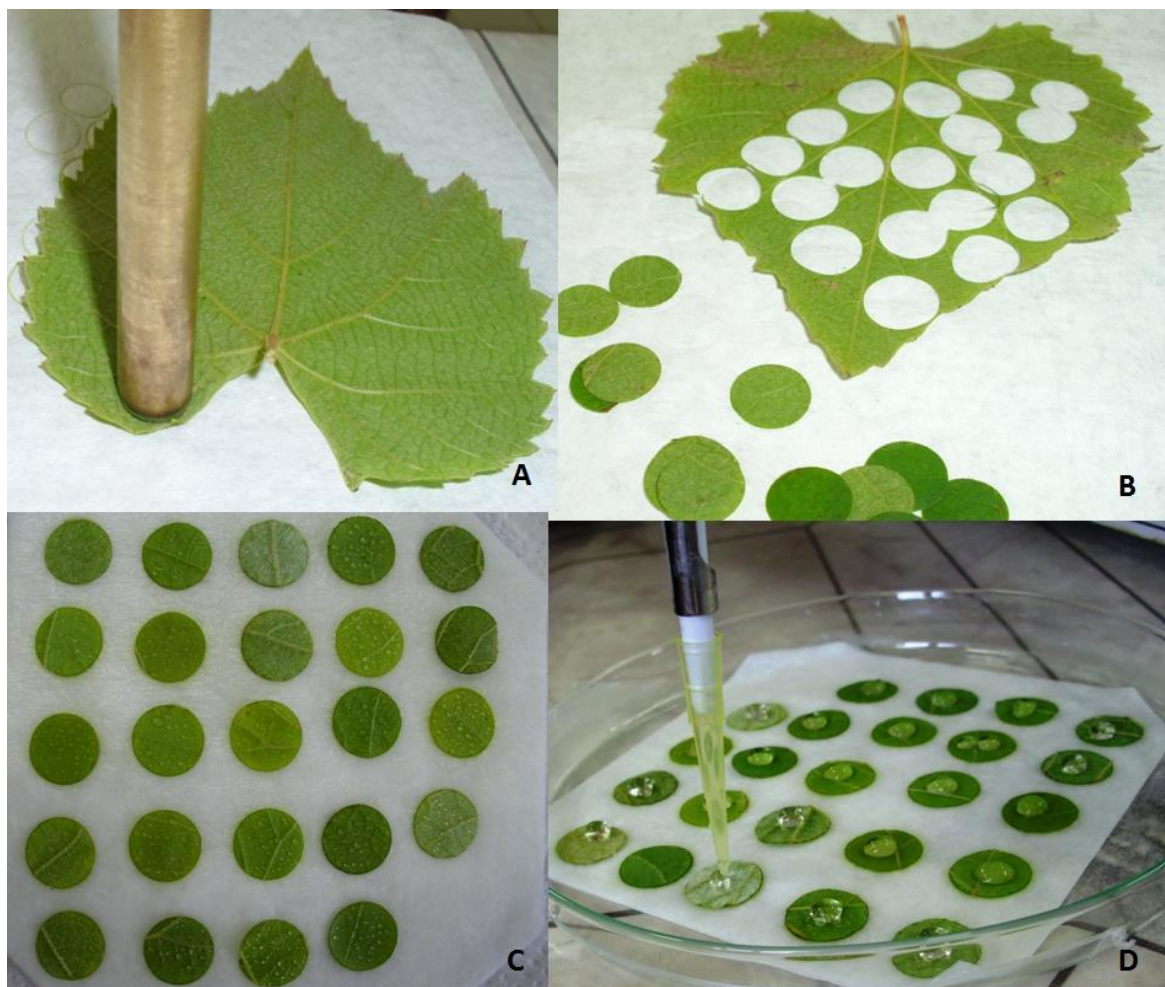
Figura 2. Multiplicação de urediniósporos em folhas destacadas de videiras Niágara rosada.

2.2.3 Preparo do Material Vegetal Para os Testes

Para a condução dos experimentos realizou-se a coleta de folhas dos genótipos à serem estudados. Estas foram coletadas contando-se da segunda gema da base em direção ao ápice do sarmento (folhas maduras). Após coletadas as folhas foram colocadas em sacos plásticos, identificadas e armazenadas em caixa de poliestireno expandido (isopor®) para que não desidratassem até o preparo dos tratamentos.

Para os tratamentos foram preparadas oito placas de Petri de 14 cm de diâmetro, cada uma delas contendo quatro camadas de papel Germitest® umedecidos com água destilada. Com o auxílio de um furador de rolhas de 14 mm

de diâmetro, foram cortados discos das folhas coletadas de cada genótipo (Figura 3 A e B). Os discos foram acondicionados sobre o papel Germitest® com a parte abaxial voltada para cima. Cada placa de Petri continha um disco de cada genótipo, totalizando 24 discos por placa (Figura 3C). As oito placas de Petri representaram oito repetições biológicas, das quais, quatro foram utilizadas para a determinação do período latente e esporulação e as outras quatro para a quantificação do número de pústulas e escala de notas.



Fonte: COPATTI, 2011.

Figura 3. Corte dos discos foliares (A); Discos cortados (B); Discos dispostos nas placas de Petri sobre papel filtro umedecido (C); Deposição de gota de suspensão de urediniósporos sobre os discos foliares (D).

2.2.4 Inoculação de *P. euvitis*

Foi depositada uma gota de 50 µL da suspensão de urediniósporos (2×10^3 esporos.mL⁻¹), sobre cada disco dos diferentes genótipos contidos nas placas de petri (Figura 3D). Após a inoculação as placas foram identificadas e acondicionadas em câmara BOD com temperatura controlada de 24 °C ± 2. Nas primeiras 24 horas o ambiente foi mantido sem iluminação e, após, utilizou-se fotoperíodo de 16 horas de iluminação diária.

A umidade no interior das placas foi mantida através do umedecimento do papel germitest® com o auxílio de uma piceta contendo água destilada sempre que necessário. A disposição das placas de Petri na câmara BOD deu-se de forma inteiramente casualizada.

2.3 Avaliações e Análise dos Dados

As avaliações de severidade do ataque do agente causador da ferrugem iniciaram-se com o surgimento das primeiras pústulas amareladas nos discos dos diferentes genótipos estudados. A partir deste momento, realizou-se a fotodocumentação diária dos tratamentos.

Foram analisadas às seguintes variáveis para determinar o grau de resistência dos 24 genótipos estudados:

2.3.1 Aparecimento dos Sintomas da Doença (Período Latente)

O aparecimento dos sintomas foi avaliado tendo-se como base o tempo percorrido desde a inoculação da suspensão de urediniósporos nos discos foliares até o aparecimento dos sintomas da doença.

2.3.2 Número de Pústulas

A contagem do número de pústulas foi realizada 10 dias após a inoculação. Contou-se o número total de pústulas presentes nos discos foliares em quatro repetições biológicas.

2.3.3 Escala de Resistência

Para avaliar o nível de resistência dos genótipos à ferrugem desenvolveu-se uma escala de resistência. Para tal, foi definida uma escala de notas, adaptada de

Hennessy, Daly & Hearnden (2007), variando de 1 a 5, baseada no número de pústulas detectadas, como descrito na Tabela 2.

Tabela 2. Escala de notas para quantificação de níveis de resistência a ferrugem da videira em discos foliares de 14 mm de diâmetro.

Notas	Descrição
1	Resistente
2	Moderadamente resistente: até 10 pústulas por disco
3	Moderadamente suscetível: 10 a 20 pústulas por disco
4	Suscetível: 20 a 40 pústulas por disco
5	Altamente suscetível: acima de 40 pústulas por disco

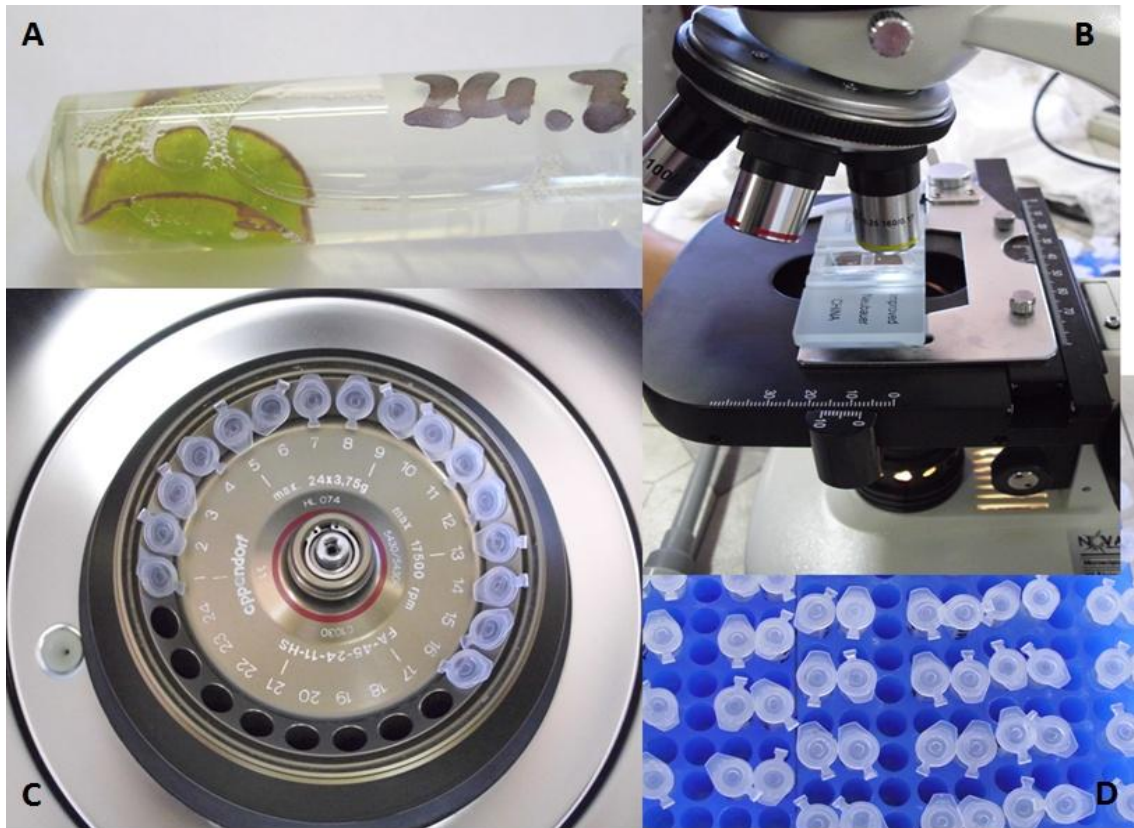
Adaptado de: Hennessy, Daly & Hearnden (2007).

2.3.4 Intensidade de Esporulação

Realizou-se a coleta dos urediniósporos presentes nos discos foliares. Para a coleta dos esporos os discos foram distribuídos em microtubos de 1,5 mL de solução de água destilada e 1 μ L de Tween 50. Os esporos foram coletados através de centrifugação (10.000 rpm por 1,5 min.). A quantificação dos esporos foi realizada com o auxílio de Câmara de Neubauer®. Foram realizadas duas contagens para cada repetição, para os 24 genótipos testados, para se obterem dados mais precisos, totalizando 96 contagens (Figura 4).

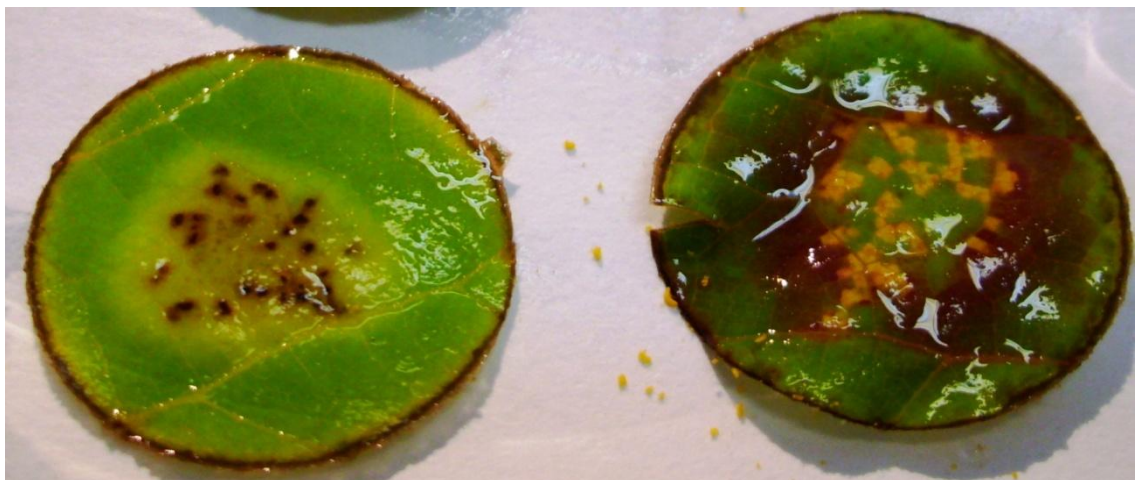
2.3.5 Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo programa estatístico 'ASSISTAT 7.6 Beta', (Silva, 2011) onde apresentaram variação significativa ao nível de 5% de probabilidade, demonstrando haver diferentes níveis de resistência nos genótipos avaliados;



Fonte: COPATTI, 2011.

Figura 4. (A) Disco foliar em ependorf com solução de água destilada e Tween 0,01%; (B) Contagem de urediniósporos em Câmara de Neubauer com auxílio de microscópio óptico; (C) Centrifugação dos discos foliares; (D) Tubos ependorf contendo suspensão de esporos.



Fonte: COPATTI, 2011.

Figura 5. Necroses causadas na face adaxial de discos foliares de folhas de videiras, aparentando reações de hipersensibilidade do tecido atacado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi utilizado um método *in vitro*, baseado na inoculação artificial de discos foliares, para avaliar o nível de resistência à ferrugem (*P. euvitis*) de diferentes genótipos de videira. A estratégia utilizada foi a de maximizar o número de espécies estudadas, no intuito de identificar fontes de resistência à doença. O método *in vitro* foi utilizado visando uma avaliação rápida e eficaz. Segundo SILVEIRO et al. (2002), citado por GOMES, et al. (2010), o desenvolvimento de metodologias que visem uma avaliação precoce da resistência de genótipos à patógenos consiste numa etapa importante na seleção de genótipos superiores para posterior utilização em programas de melhoramento.

As inoculações realizadas *in vitro* resultaram no aparecimento dos sintomas típicos da ferrugem da videira, assim como ocorrem a campo, demonstrando a eficácia do método. Deste modo, o método foi utilizado para classificar os diferentes genótipos de videiras quanto à resistência a doença.

Segundo Parlevliet (1985), citado por Angelotti (2008), a resistência quantitativa ou parcial contra a ferrugem da videira atua por meio da redução da taxa de infecção, diminuição da produção de esporos, redução no tamanho das pústulas, número de esporos produzidos por pústulas e aumentando o período latente. Sendo assim, no presente trabalho foram estudadas as seguintes variáveis: aparecimento dos sintomas (período latente); quantidade de pústulas por disco foliar, esporulação por disco foliar, além do desenvolvimento de uma escala de resistência. Para estes parâmetros, diferenças significativas foram encontradas entre os genótipos estudados, evidenciando, que há diferentes graus de resistência parcial nos genótipos estudados.

3.1 Período Latente

A avaliação do aparecimento dos sintomas foi realizada a partir das imagens obtidas diariamente. O aparecimento dos sintomas variou de sete a nove dias após a inoculação (DAI) (Tabela 3). Dos 24 genótipos testados, doze, oito e quatro, apresentaram aparecimento dos sintomas nove, oito e sete dias após a inoculação (DAI) respectivamente. GOMES et al. (2010), constatou que tanto em folhas jovens,

como em folhas maduras, o aparecimento dos sintomas se deu do quinto ao oitavo dia após a inoculação.

Os genótipos *V. caribea*, *V. candidans*, IAC 572 (Híbrido), *V. longii*; *V. slavinii*, *V. doaniana*, Violeta (*V. labrusca*), *V. andersoni*, Syrah (*V. vinifera*), Gropel (*V. Bourquina*), *V. amurensis*, Paulsen 1103 apresentaram período latente de nove dias, sugerindo que estes apresentam algum mecanismo de resistência à doença. As variedades *V. vulpina*, *V. yeshanensis*, *V. betulifolia* Baco 10 (*V. riparia* x *V. labrusca*) apresentaram período latente de sete dias, indicando maior suscetibilidade à doença. Os demais genótipos apresentaram período latente de oito dias.

Tabela 3. Período latente de *P. euvitis*, nos diferentes genótipos estudados, em dias após a inoculação,

Genótipos	DAÍ
<i>Vitis. Caribea</i>	9
<i>V. candidans</i>	9
IAC 572 (<i>V. tiliifolia</i> x 101-14 Mgt)	9
<i>V. longii</i>	9
<i>V. slavinii</i>	9
<i>V. doaniana</i>	9
Violeta (<i>V. labrusca</i>)	9
<i>V. andersoni</i>	9
Syrah (<i>V. vinifera</i>)	9
Gropel (<i>V. Bourquina</i>)	9
<i>V. amurensis</i>	9
Paulsen 1103	9
<i>V. giardiana</i>	8
<i>V. monticola</i>	8
<i>V. thunbergi</i>	8
Jaques (<i>V. aestivales</i> x <i>V. vinifera</i>)	8
IAC 766 (<i>V. tiliifolia</i> x 106-8 Mgt)	8
<i>V. shuttleworthii</i>	8
Cab. Sauvignon (<i>V. vinifera</i>)	8
Niagara rosada (<i>V. labrusca</i>)	8
<i>V. vulpina</i>	7
Baco10 (<i>V. riparia</i> x <i>V. labrusca</i>)	7
<i>V. yeshanensis</i>	7
<i>V. betulifolia</i>	7

3.2 Número de Pústulas por Disco

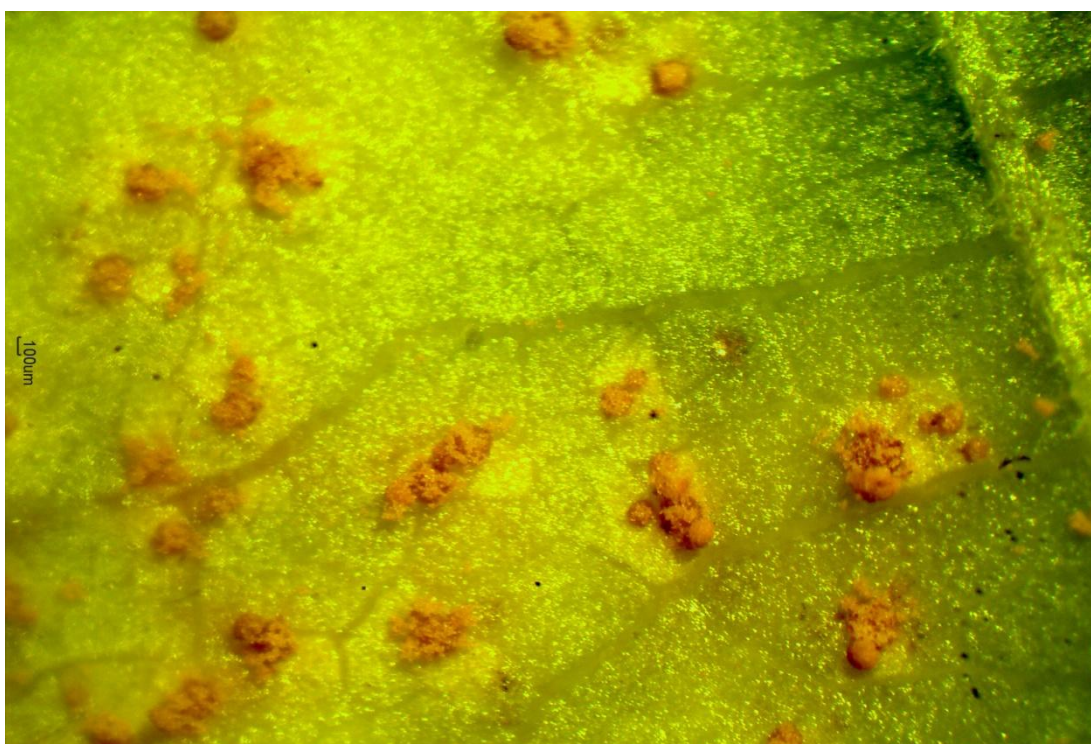
A contagem do número de pústulas presentes em cada disco foliar deu-se a partir das imagens obtidas aos dez dias após a inoculação da ferrugem (Figura 5). Foi realizada a contagem total do número de pústulas presentes em cada disco foliar. Os dados foram submetidos à análise de variância, onde apresentaram variação significativa ao nível de 5% de probabilidade, demonstrando haver diferentes níveis de resistência nos genótipos avaliados. Sendo assim, aplicou-se o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 4).

Tabela 4. Número médio de pústulas presentes em cada disco foliar.

Genótipo	Média	
Niagara rosada (<i>V. labrusca</i>)	2,00	e
<i>V. candicans</i>	3,25	e
<i>V. longii</i>	3,50	e
IAC 572 (<i>V. tiliifolia</i> x 101-14 Mgt)	3,75	e
Gropel (<i>V. bourquina</i>)	6,00	e
<i>V. caribea</i>	9,25	de
<i>V. amurensis</i>	9,75	de
Violeta (<i>V. labrusca</i>)	13,75	cd
<i>V. shuttleworthii</i>	14,25	cd
<i>V. monticola</i>	14,50	cd
Syrah (<i>V. vinifera</i>)	15,50	bc
Jaques (<i>V. aestivales</i> x <i>V. vinifera</i>)	16,00	bc
<i>V. doaniana</i>	17,00	bc
<i>V. giardiana</i>	17,25	bc
<i>V. andersoni</i>	17,25	bc
Paulsen 1103	18,00	bc
IAC 766 (<i>V. tiliifolia</i> x 106-8 Mgt)	21,25	bc
Cab. Sauvignon (<i>V. vinifera</i>)	21,00	bc
<i>V. yeshanensis</i>	28,00	bc
<i>V. vulpina</i>	29,25	bc
<i>V. betolifolia</i>	31,00	bc
<i>V. slavinii</i>	32,25	bc
<i>V. thunberguii</i>	34,25	b
Baco 10 (<i>V. riparia</i> x <i>V. labrusca</i>)	52,00	a
DMS = 30, 36		
CV%= 63, 35		MG= 17, 92

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Os genótipos Niágara rosada (*V. labrusca*), *V. candicans*, *V. longii*, IAC-572 (Híbrido), Gropel (*V. bourquina*), *V. caribea* e *V. amurensis* apresentaram o menor número médio de pústulas por disco. As duas últimas, porém, não diferiram significativamente dos genótipos Violeta (*V. labrusca*), *V. shuttleworthii* e *V. monticola*. A variedade Baco 10, foi a que apresentou o maior número de pústulas, tendo uma média de 52 pústulas por disco foliar. Os demais genótipos apresentaram número intermediário de pústulas.



Fonte: COPATTI, 2011.

Figura 6. Urédias de *P. euvitis* observadas em estereoscópico (aumento: 20x).

3.4 Intensidade de Esporulação

Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram encontradas na intensidade de esporulação. Os genótipos *V. andersoni*, *V. longii* e *V. yeshanensis*, apresentaram o menor nível de esporulação, sendo que a última não apresentou diferença significativa para Niágara rosada (Tabela 5). As espécies *V. giardiana* e *V. caribea* apresentaram esporulação mais elevada, sendo que a última não diferiu

estatisticamente dos genótipos *V. slavinii*, *V. thunbergi* e Syrah (*V. vinifera*) (Tabela 5). Os demais genótipos apresentaram níveis intermediários de esporulação.

Tabela 5. Quantificação da esporulação dos diferentes genótipos avaliados.

Genótipos	Urediniósporos. mL ⁻¹	
<i>V. andersoni</i>	1,3750	l
<i>V. longii</i>	1,2500	l
<i>V. yeshanensis</i>	1,6250	jl
Niagara rosada (<i>V. labrusca</i>)	2,0000	ij
<i>V. candicans</i>	2,6250	hi
Violeta (<i>V. labrusca</i>)	2,6250	hi
Cab. Sauvignon (<i>V. vinifera</i>)	2,7500	hi
Gropel (<i>V. Bourquina</i>)	3,0000	hi
<i>V. shuttleworthii</i>	3,1250	hi
<i>V. monticola</i>	3,5000	gh
Paulsen 1103	4,1250	fg
<i>V. doaniana</i>	4,1250	fg
<i>V. betulifolia</i>	4,3750	fg
<i>V. vulpina</i>	4,8750	fg
IAC 572 (<i>V. tiliifolia</i> x 101-14 Mgt)	4,6250	fg
<i>V. amurensis</i>	4,7500	fg
Jaques (<i>V. aestivales</i> x <i>V. vinifera</i>)	5,2500	ef
IAC 766 (<i>V. tiliifolia</i> x 106-8 Mgt)	6,3750	de
Baco10 (<i>V. riparia</i>)	6,7500	cd
<i>V. slavinii</i>	7,7500	bc
<i>V. thunbergi</i>	8,0000	bc
Syrah (<i>V. vinifera</i>)	9,2500	bc
<i>V. caribea</i>	10,375	ab
<i>V. giardiana</i>	12,125	a
DMS = 4,7348		
CV% = 36,3655		MG = 4,8594

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

3.3 Escala de Resistência

Para a elaboração da escala de resistência utilizou-se uma escala de notas adaptada de Hennessy, Daly & Hearnden (2007). O método consistiu em uma escala de notas a partir da qual realizou-se à quantificação do número de pústulas produzidas sobre a superfície dos discos foliares. A classificação foi realizada pelo

arredondamento das médias de quatro repetições biológicas. Nenhum dos genótipos foi classificado como resistente (nota 1), sete foram classificados como moderadamente resistentes (nota 2), 12 como moderadamente suscetíveis (nota3), uma como suscetível (nota 4) e quatro como altamente suscetíveis (nota 5) (Tabela 6).

Tabela 6. Médias de notas atribuídas a cada genótipo, de acordo com a quantidade de pústulas presentes na face abaxial dos discos foliares.

Genótipos	Média*	Classe/ grupo**
<i>V. longii</i>	1,5	2
<i>V. candidans</i>	1,75	2
Niagara rosada (<i>V. labrusca</i>)	1,75	2
Gropel (<i>V. Bourquina</i>)	1,75	2
IAC 572 (<i>V. tiliifolia</i> x 101-14 Mgt)	2,25	2
<i>V. monticola</i>	2,25	2
<i>V. shuttleworthii</i>	2,25	2
<i>V. caribea</i>	2,5	3
<i>V. amurensis</i>	2,5	3
<i>V. giardiana</i>	2,75	3
Violeta (<i>V. labrusca</i>)	2,75	3
<i>V. andersoni</i>	3	3
<i>V. yeshanensis</i>	3	3
<i>V. betulifolia</i>	3	3
Paulsen 1103	3	3
<i>V. doaniana</i>	3,25	3
Syrah (<i>V. Vinifera</i>)	3,25	3
IAC766 (Híbrido)	3,25	3
Cab. Sauvignon (<i>V. vinifera</i>)	3,25	3
<i>V. slavinii</i>	4	4
<i>V. vulpina</i>	4,5	5
<i>V. thunbergi</i>	4,5	5
Jaques (<i>V. aestivales</i> x <i>V. vinifera</i>)	4,5	5
Baco1 (<i>V. riparia</i>)	5	5
Media total	2,98	--

* Valores médios das notas obtidas de quatro repetições;

** Classe/grupo onde se enquadra cada genótipo estudado, obtido a partir do arredondamento das médias.

3.4 Integração dos Parâmetros Avaliados

Quando consideramos a interação de todas as variáveis estudadas, os resultados obtidos demonstram que nenhum dos genótipos testados apresentou resistência completa à *P. euvitis*. Mesmo que em pouca intensidade, todos os genótipos apresentaram esporulação do fungo (Figura 7). Em estudo realizado por Hennessy, Daly & Hearnden (2007), 411 genótipos de *Vitis* spp. foram testados e nenhum deles foi imune a doença, ou seja, todos apresentaram sintomas da doença.

Os genótipos *V. candicans*, *V. Longii* e Gropel demonstraram resultados superiores em todas as variáveis estudadas, sempre apresentando sintomas com menor intensidade (Figura 7). Vale ressaltar que a espécie *V. candicans* possui grande quantidade de pêlos na face abaxial da folha, assim como, a variedade Gropel, porém, esta em menor quantidade. Deste modo, a pilosidade pode estar atuando como barreira física (resistência mecânica), impedindo a penetração do patógeno. Já a espécie *V. longii*, não possui pelos em suas folhas, indicando que esta apresenta resistência genética ao patógeno, mesmo que estas defesas não sejam completamente eficazes.

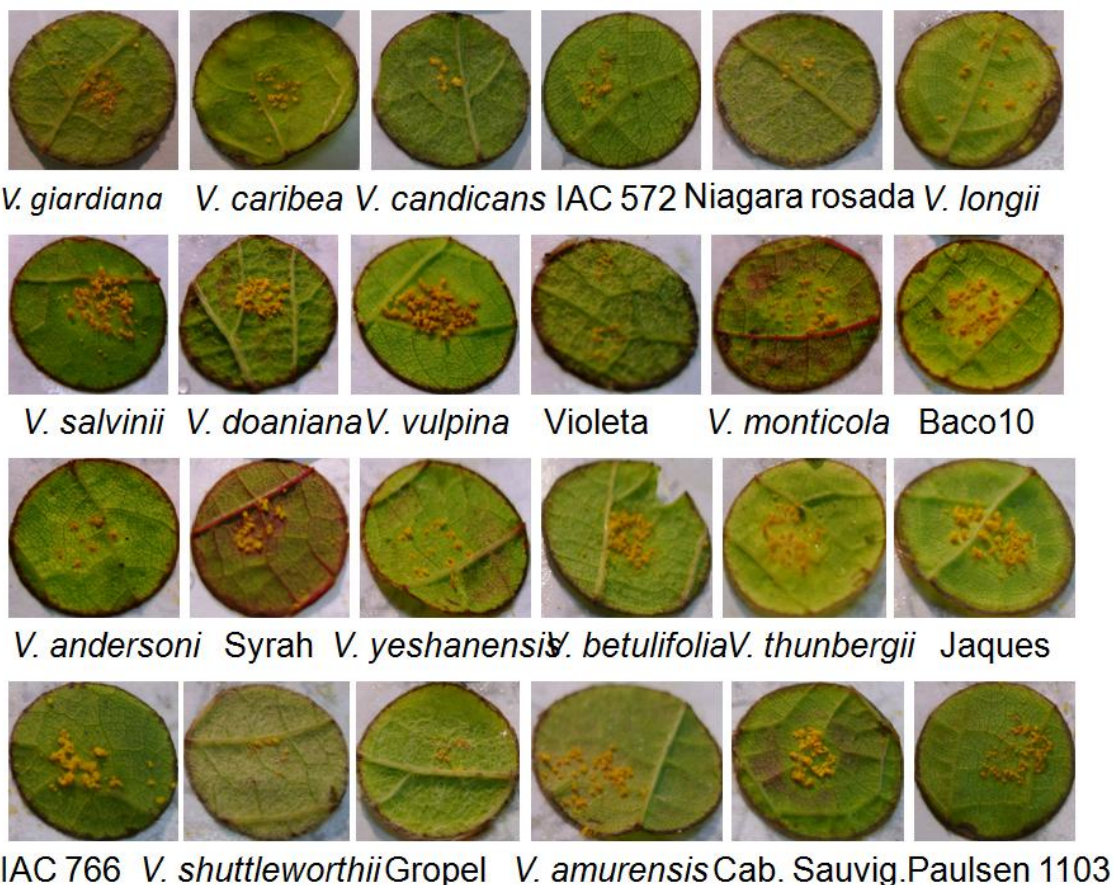
Os genótipos IAC 572, Niágara rosada, *V. caribea* e *V. amurensis* também se destacaram, porém, estas não obtiveram resultados satisfatórios em todas as variáveis analisadas. Em estudo realizado por Angelotti et al. (2008), o genótipo IAC-572 também apresentou o menor número de pústulas em relação à área foliar. Neste mesmo estudo, a variedade Niágara rosada foi classificada entre as plantas mais suscetíveis a doença. Supõem-se que a aparente resistência da Niágara rosada, detectada no presente estudo, é devido a presença de pêlos, que atuariam como uma barreira física a infecção do patógeno. Os genótipos IAC 572, *V. caribea* e *V. amurensis*, apresentam folhas com pouca ou nenhuma incidência de pêlos na face abaxial, por este motivo podemos destacá-las como tendo níveis de resistência genética mais elevada que os genótipos que obtiveram piores notas.

As avaliações realizadas externaram que o genótipo Baco 10, apresentou-se como altamente suscetível, sendo o que mais obteve presença de pústulas e esporulação dentre os tratamentos, além de um período latente menor, sendo seguido pelos genótipos *V. thumbergii*, *V. slavini* e *V. vulpina*.

Algumas incongruências foram observadas entre os parâmetros avaliados. Por exemplo, o genótipo *V. caribea* apresentou baixo número de pústulas, período

latente de nove dias, escala de resistência com nota (3), porém revelou alta esporulação.

Podemos salientar com o presente estudo a grande importância dos dados obtidos, visto que, podem ser utilizados como suporte a programas de melhoramento genético que visem à diminuição das perdas que podem ser causadas pela doença. Além disso, observamos fazer-se necessária a realização de novas pesquisas, na busca por genótipos com maiores graus de resistência genética ao ataque do fungo. Incluindo-se assim, mais genótipos e o aprimoramento ou criação de novos métodos de avaliação da resistência dos genótipos à ferrugem da videira



Fonte: COPATTI, 2011.

Figura 7. Genótipos utilizados nas avaliações, sintomas causados por *P. euvtis* visíveis em todos os tratamentos.

4 CONCLUSÕES

Todos os genótipos avaliados apresentaram sintomas da ferrugem da videira, entretanto, com diferenças significativas nos níveis de severidade da doença;

Nenhum dos genótipos possui resistência genética completa contra o ataque de *P. euvitis*;

Os genótipos *V. candicans*, *V. longii*, *V. caribea*, *V. amurensis*, Gropel, IAC-572 apresentaram grau moderado de resistência à doença;

Os genótipos Baco 10, *V. thumbergii*, *V. slavinii* e *V. vulpina* apresentam maior suscetibilidade à doença;

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELOTTI, F. et al. Avaliação da Ferrugem da Videira em Uvas de Vinho. **XX Congresso Brasileiro de Fruticultura. 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture** 12 a 17 de Outubro de 2008.

ANGELOTTI, F. et al. Resistência de genótipos de videira à ferrugem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n.9, p. 1129-1134. 2008.

ANGELOTTI, F., et al. Diagrammatic scale for assessment of grapevine rust. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 6, nov – dec, 2008. p. 439 – 443.

COSTA, A. et al. Avaliação Visual e do Potencial Fotossintético Para Quantificação da Ferrugem do Milheto Pérola e Correlações Com a Produção. **Tropical Plant Pathology**. 34 (5) September - October 2009.

GOMES, E. C. de S., et al. Métodos de inoculação de *Phakopsora euvitidis* Ono em *Vitis labrusca* L. **Ciência Rural**. v. 40, n. 4, p 983 – 985, Santa Maria, RS abril de 2010.

HENNESSY C., DALY A. & HEARNDEN M. Assessment of grapevine cultivars for resistance to *Phakopsora euvitidis*. **Australasian Plant Pathology**, v. 36, p. 313 – 317. 2007.

MENDES, M. A. S., FREITAS, V. M. de. **Espécies invasoras potenciais e atuais para a videira**. Brasília. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, setembro 2005. 8p (Embrapa Uva e Vinho Comunicado técnico 129).

NARUZAWA, E. S. et al. Estudos epidemiológicos e controle químico de *Phakopsora euvitidis*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, jan-fev, 2006. p. 41-45.

PATIL, S. G.; HONRAO, B. K.; KARKAMKAR, S. P. Reaction of some grape germplasm against the rust disease. **Journal of Maharashtra Agriculture University**, v. 23, p. 138-140, 1998.

SONEGO, O. R.; GARRIDO, L. da R.; GAVA, R. **Ferrugem da videira no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 4p (Embrapa Uva e Vinho Comunicado Técnico, 62).

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