

Métodos de inoculação de *Phakopsora euvitis* Ono em *Vitis labrusca* L.

Inoculation methods of *Phakopsora euvitis* Ono in *Vitis labrusca* L.

Erbs Cintra de Souza Gomes^I Luciana Cordeiro do Nascimento^{II} Jane Oliveira Perez^{III}
Rodrigo Pereira Leite^{IV} Fábio Júnior Araújo Silva^{IV}

- NOTA -

RESUMO

A ferrugem é uma das principais doenças da videira, com ocorrência registrada em diversas regiões produtoras. Neste trabalho, foram avaliados três métodos de inoculação de *Phakopsora euvitis* em mudas de videira 'Isabel' com o objetivo de selecionar um método para determinação da patogenicidade. Mudas oriundas de bacelos de videira foram inoculadas com esporos de *P. euvitis* e mantidas sob temperatura entre 25±4°C e UR 85±10% durante 13 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 10 repetições. Os tratamentos foram compostos por: T1 - pincelamento de esporos; T2 - pulverização com suspensão de esporos com 2,7x10³ esporos mL⁻¹; T3 - discos de folhas de videira com sintomas afixados em cinco folhas por planta; e T4 - Testemunha. O método do pincelamento de esporos foi o mais eficiente, com início dos sintomas a partir do quinto dia e, após 13 dias, 100% das folhas apresentavam sinais do patógeno.

Palavras-chave: germinação de uredíniosporos, infecção, teste de patogenicidade.

ABSTRACT

Rust is one of the most important diseases in grapevine, with occurrence recorded in many production areas. In this research it was evaluated three methods of

Phakopsora euvitis inoculation on grapevine seedlings cv. 'Isabel' with the objective of selecting an inoculation method for rapid pathogenicity determination. Grapevine seedlings were inoculated with *P. euvitis* and maintained under conditions of 25±4°C and UR 85±10% for 13 days. The experimental design was completely randomized, with 10 replications. The treatments were: T1 - brush of pathogen spores; T2 - spores suspension spraying (2.7x10³ spores mL⁻¹); T3 - disks of grapevine leaves with symptoms stuck in five leaves per plant and T4 - control. The spore brushing method was the most efficient, showing early symptoms at five days, and 100% of the leaves showing pathogen symptoms 13 days after treatment.

Key words: infection, uredíniosporos germination, pathogenicity test.

A ferrugem da videira (*Vitis labrusca* L.), causada por *Phakopsora euvitis* Ono, é uma doença foliar de grande expressão econômica evidenciada pelos constantes prejuízos causados nas regiões onde já foram identificados registros do patógeno (TESSMANN et al., 2004; BAYER & COSTA, 2006). Os primeiros relatos de ocorrência do patógeno foram identificados na Ásia, na América Central e na América

^IPrograma de Pós-graduação em Agronomia (PPGA), Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia, PB, Brasil.

^{II}Laboratório de Fitopatologia, UFPB, CP 66, 58397-000, Areia, PB, Brasil. E-mail: luciana.cordeiro@cca.ufpb.br. Autor para correspondência.

^{III}Laboratório de Produção Vegetal, Instituto Federal do Sertão Pernambucano (IF SERTÃO – PE), Petrolina, PE, Brasil.

^{IV}CCA, UFPB, Areia, PB, Brasil.

do Norte (PEARSON & GOHENN, 1988), em Darwin, Território do Norte da Austrália (WEINERT et al., 2003), e no Brasil (TESSMANN et al., 2004). Porém, existem controvérsias sobre sua recente introdução na Austrália e no Brasil, em razão das evidências de que o fungo já estaria nessas regiões bem antes da sua descoberta, sobrevivendo em outras espécies da família Vitaceae (CHATASIRI & ONO, 2008).

No Brasil, há relatos da ocorrência de ferrugem da videira em alguns municípios dos Estados do Paraná e de São Paulo (TESSMANN et al., 2004), Rio Grande do Sul (BAYER & COSTA, 2006), Mato Grosso (SOUZA, 2004) e Santa Catarina (SÔNIGO et al., 2005). É provável que *P. euvitidis* não seja o agente causal da doença, detectada no Brasil em 2001 no Estado do Paraná (CHATASIRI & ONO, 2008). Para os autores supracitados, no continente americano, a ocorrência da doença seria causada por *P. uva* ou *P. muscadinae* ou ainda por ambos.

Os principais sintomas provocados pela ferrugem são o aparecimento de pústulas amareladas com uredíniosporos nas superfícies inferior e superior da folha. Nas áreas correspondentes às pústulas, ocorre necrose do tecido (PEARSON & GOHEEN, 1988). Em caso de infecções severas, ocorre desfolha precoce, queda da produção e comprometimento dos ciclos seguintes. Folhas maduras são as mais afetadas, apresentando sintomas e sinais poucos dias após a infecção (NARUZAWA et al., 2006).

O desenvolvimento de metodologias de inoculação que visem a uma avaliação precoce da resistência de materiais vegetais a patógenos consiste numa importante etapa na seleção de genótipos superiores em programas de melhoramento (SIVIERO et al., 2002). Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo selecionar um método inoculação de *P. euvitidis* em mudas de videira para a determinação da patogenicidade.

Bacelos de videira 'Isabel' provenientes do manejo de poda mista foram plantados em sacos plásticos contendo mistura de terra, areia e esterco bovino na proporção 2:1:1. As mudas foram mantidas sob temperatura entre $25\pm 4^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar $85\pm 10\%$, durante 13 dias. As plantas foram inoculadas com suspensão de esporos e discos de colônia de *P. euvitidis* três horas após a coleta do material infectado em campo. O inóculo foi obtido em plantios de videira localizados no Município de Natuba, Paraíba, cujas coordenadas geográficas compreendem latitude $7^{\circ} 38' \text{S}$, longitude $35^{\circ} 33' \text{W}$ e altitudes que variam de 180 a 400m.

Foram utilizados quatro tratamentos: T1 - mudas borrifadas com água destilada e deposição de

esporos; T2 - suspensão de esporos com $2,7 \times 10^3$ esporos mL^{-1} ; T3 - mudas borrifadas com água destilada e deposição de discos (10mm) de folhas de videira com sintomas que foram fixados com fita adesiva (dois na face abaxial e um na face adaxial); e T4 - testemunha (mudas borrifadas com água destilada).

A inoculação foi realizada quando as mudas atingiram 50cm de altura e apresentaram no mínimo cinco folhas expandidas. Após a inoculação, as mudas foram mantidas em câmara úmida e envolvidas por sacos de polietileno transparentes, por 24 horas, sendo avaliados o período entre inoculação e aparecimento dos primeiros sintomas e sinais da doença e o número de folhas sintomáticas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos e 10 repetições, sendo uma planta por repetição. As avaliações foram realizadas diariamente, contabilizando-se o número de folhas com sinais e sintomas de ferrugem. Para o cálculo do percentual de infestação segundo os métodos de inoculação, foi contabilizado o número total de folhas infestadas, dividido pelo número total de folhas por planta. Os dados observados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P=0,05$) (FERREIRA, 2000).

No tratamento T1, observou-se o aparecimento dos sintomas, tanto nas folhas jovens, como nas folhas maduras aos oito e cinco dias após a inoculação, compreendendo 8 e 6% de infecção, respectivamente (Tabela 1). Nos tratamentos T2 e T3, observou-se o surgimento dos sintomas aos 10 e 11 dias após a inoculação, respectivamente, e somente nas folhas maduras, com formação de pústulas amarelas características da sintomatologia da doença. O mesmo período para o aparecimento dos primeiros sinais e sintomas de ferrugem foi relatado por BAYER & COSTA (2006). As plantas borrifadas apenas com água destilada (T4) não apresentaram sinais e sintomas ao longo do experimento.

Todas as folhas jovens pinceladas com esporos de *P. euvitidis* apresentaram pústulas (face abaxial) e necrose dos tecidos infectados (face adaxial) entre oito e 11 dias após a inoculação. Segundo TESSMANN et al. (2007), embora mais rara de ser observado no campo, o patógeno infecta também folhas jovens em condições controladas. No que se refere ao método de inoculação com suspensão de esporos (T2) e discos de folhas com esporos (T3), CLAYTON & RIDINGS (1970) também constataram o aparecimento de lesões de ferrugem causada por *Physopella ampelopsidis* de 10 a 14 dias após a inoculação. A presença de uredíniosporos pode ser observada nas folhas das plantas submetidas aos

Tabela 1 – Incidência (%) dos sintomas de *Phakopsora euvitis* Ono em mudas de videira 'Isabel' submetidas a diferentes métodos de inoculação. T1 - Pincelamento de esporos; T2 - Suspensão de esporos; T3 - Discos de folhas com esporos; e T4 - Testemunha.

Tratamentos	Dias após a inoculação*												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Pincelamento	-	-	-	-	6 a	16 a	26 a	42 a	54 a	56 a	76 a	94 a	100 a
Suspensão	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8 b	24 b	48 b	62 b
Discos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16 c	30 c	50 c
Testemunha	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Médias de incidência de *P. euvitis* seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey (P=0,05).

tratamentos T1, T2 e T3. Através da visualização de lâminas em microscopia óptica e por meio da comparação com a literatura específica (AGRIOS, 2005), confirmou-se a presença de *P. euvitis*, agente causal da ferrugem da videira no Brasil.

O método do pincelamento de esporos foi o mais eficiente na inoculação de *P. euvitis* em mudas de videira, propiciando o aparecimento dos primeiros sintomas a partir do quinto dia após a inoculação e 100% de infecção após o 13º dia. Assim, esse método pode ser utilizado de forma eficiente em testes de patogenicidade e em programas de melhoramento de plantas visando à resistência no patossistema *P. euvitis* x *V. labrusca*.

AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Bolsa de Mestrado do autor E. C. S. Gomes.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5.ed. San Diego, California: Elsevier Academic, 2005. 948p.

BAYER, T.M.; COSTA, I.F.D. Ocorrência de *Phakopsora euvitis* Ono em Santa Maria, Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1307-1308, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782006000400042&script=sci_arttext>. Acesso em: 24 mar. 2010. doi: 10.1590/S0103-84782006000400042.

CHATASIRI, S.; ONO, Y. Phylogeny and taxonomy of the Asian grapevine leaf rust fungus *Phakopsora euvitis*, and its allies (Uredinales). **Mycoscience**, v.49, p.66-74, 2008. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/4t68028682116p3q/fulltext.pdf?page=1>>. Acesso em: 24 mar. 2010. doi: 10.1007/s10267-007-0390-4.

CLAYTON, C.N.; RIDINGS, W.H. Grape rust, *Physopella ampelopsidis*, on *Vitis rotundifolia* in North Carolina. **Phytopathology**, v.60, p.1022-1023, 1970. Disponível em: <http://www.apsnet.org/phyto/PDFs/1970/Phyto60n06_1022.PDF>. Acesso em: 24 mar. 2010. doi: 10.1094/Phyto-60-1022.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** Florianópolis: UFSCar, 2000. p.255-258.

NARUZAWA, E.S. et al. Estudos epidemiológicos e controle químico de *Phakopsora euvitis*. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, n.1, p.41-45, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-41582006000100007&script=sci_arttext>. Acesso em: 24 mar. 2010. doi: 10.1590/S0100-41582006000100007.

PEARSON, R.G.; GOHEEN, A.C. **Compendium of grape diseases**. St. Paul: APS, 1988. 93p.

SIVIERO, A. et al. Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* em plântulas e plantas jovens de citros. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, n.6, p.574-580, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-41582002000600003>. Acesso em: 24 mar. 2010. doi: 10.1590/S0100-41582002000600003.

SÔNIGO, O.R. et al. **Ferrugem da videira no Brasil**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. 3p. (Circular Técnica, 62).

SOUZA, N.S. Ocorrência de ferrugem em videira em Mato Grosso. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.3, p.226, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-41582004000200021&script=sci_arttext>. Acesso em: 24 mar. 2010. doi: 10.1590/S0100-41582004000200021.

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.

TESSMANN, D.J. et al. Doenças e seu manejo. In: KISHINO, A.S. et al. (Ed.). **Viticultura tropical: o sistema de produção do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2007. Cap.10, p.255-304.

WEINERT, M.P. et al. First record of grapevine leaf rust in the Northern Territory, Australia. **Australian Plant Pathology**, v.32, p.117-118, 2003. Disponível em: <<http://era.deedi.qld.gov.au/160/1/Weinert.pdf>>. Acesso em 24 mar. 2010. doi: 10.1071/AP02060.