

**RENATA MARRASCHI**

**CARACTERIZAÇÃO DE *Phaeomoniella chlamydospora* DE VIDEIRAS DO  
BRASIL**

**Botucatu**

**2019**



**RENATA MARRASCHI**

**CARACTERIZAÇÃO DE *Phaeomoniella chlamydospora* DE VIDEIRAS NO  
BRASIL**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção de título de Doutora em Agronomia – Proteção de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Furtado  
Coorientador: Dr. César Júnior Bueno

**Botucatu  
2019**

M358c	<p>MARRASCHI, RENATA</p> <p>Caracterização de <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> de videiras do Brasil / RENATA MARRASCHI. -- Botucatu, 2019</p> <p>93 p. : il., tabs., fotos</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu</p> <p>Orientador: Edson Luiz Furtado</p> <p>Coorientador: César Júnior Bueno</p> <p>1. Agronomia. 2. Fitopatologia. 3. Videira. I. Título.</p>
-------	---

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CARACTERIZAÇÃO DE *Phaeomoniella chlamydospora* DE VIDEIRAS DO BRASIL

**AUTORA: RENATA MARRASCHI**


**ORIENTADOR: EDSON LUIZ FURTADO**

**COORIENTADOR: CÉSAR JUNIOR BUENO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Pesquisador Dr. CÉSAR JUNIOR BUENO  
Instituto Biológico / Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA



Prof. Dr. MARCO ANTONIO TECCHIO  
Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP



Prof.ª Dr.ª ADRIANA ZANIN KRONKA  
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP



Dr.ª MARGARIDA FUMIKO ITO  
Fitopatologia / Instituto Agronômico de Campinas



Pesquisador Dr. IVAN HERMAN FISCHER  
Pesquisa e Desenvolvimento / Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - Pólo Regional Centro Oeste

Botucatu, 29 de maio de 2019



## OFEREÇO

A meus pais e meu irmão, bases da minha formação, caráter e essência. É um privilégio ter o DNA composto por vocês.

## DEDICO

A meu companheiro e amigo Alexandre Castelli, que acreditou e me apoiou em todas as etapas desse trabalho. Passar por tudo foi mais leve com você ao lado.



## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A minha **Família**, meu maior e mais sincero exemplo de amor. Obrigada por todo apoio e incentivo aos estudos e busca por conhecimento, e me mostrar toda e liberdade que ele nos proporciona.

À **FCA-UNESP** pela oportunidade.

Ao Programa de **Agronomia – Proteção de Plantas** e a todo **corpo docente** pelos ensinamentos.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Edson Luiz Furtado** pelo apoio, paciência e confiança.

Ao meu co-orientador **Dr. César Júnior Bueno** pelas orientações em todas as etapas deste estudo e pela confiança depositada em mim.

Ao **Instituto Biológico** e a toda equipe do laboratório de Controle Biológico, Fitopatologia e Bioquímica. Em especial: **Fabiana Brambatti** (amiga inspiradora), **Ana Paula dos Santos Bartels**, **Lucas Vítor**, **Carlos Albuquerque**, **Amanda de Oliveira**, **Nathalie Otoy Martínez** e **Alexsander Banguela**.

As minhas amigas **Ana Beatriz Monteiro Ferreira** e **Bruna Migotto**, companheiras de laboratório e agora partes da minha vida.

A minha companheira de curso e eterna amiga **Marcela Bergamini**, por todos os dias e noites estudando, sofrendo e comendo juntas. Você fez Botucatu valer a pena.

À **Roselaine Bueno**, querida amiga, exemplo de vida e parceira de bancada.

Ao **Dr. Ricardo Harakava**, por toda ajuda e auxílio nos testes moleculares.

**Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani** do Departamento de Bioestatística – UNESP, Botucatu / São Paulo.

Ao **Dr. Luís Garrigós Leite** pelo auxílio.

Ao **Dr. Marcus André Kurtz Almança** do IFRS (Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul), pela doação dos isolados de *P. chlamydospora* do Rio Grande do Sul.

Ao **Dr. Marco Antonio Dalbó** da EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina), pelo envio de materiais de videira para isolamento, do Estado de Santa Catarina.

Ao **Dr. Sami Jorge Michereff** da UFRPE (Universidade Federal Rural de Pernambuco), pela doação dos isolados de *P. chlamydospora* de Pernambuco.

Ao **Dr. João Dimas Garcia Maia** da Embrapa Uva e Vinho, pelo envio de materiais de videira para isolamento do Estado do Paraná e Goiás.

Ao **Dr. Willian Bucker Moraes** do CCA/UFES (Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal do Espírito Santo), pelo envio de material de videira para isolamento, do Estado de Espírito Santo.

Ao **Anderson Bays** da Prefeitura Municipal de Nova Mutum, pelo envio de material de videiras para isolamento, do Estado do Mato Grosso.

À **Mestra Ester Marques de Sousa**, pela ajuda no contato com produtores e envio de material de videira, para isolamento do Estado do Piauí.

Ao **Grupo Siamo de Teatro**, essencial para minha saúde mental nessa fase. Colegas que se transformaram em grandes amigos e me ensinaram o poder da arte, da união e da empatia. Em especial **Henrique Grasso**, pela ajuda com as formatações.

À **Khaleesi**, ao **Eros** e à **Odina**, meus gatinhos que me ensinaram a mais sutil e generosa forma de amor.

"Todas as vitórias ocultam  
uma abdicação"

Simone Beauvoir

"O conhecimento real é saber  
a extensão da própria  
ignorância"

Confúcio



## RESUMO

*Phaeomoniella chlamydospora* é considerado o fungo mais agressivo do complexo de patógenos, responsáveis por causar a doença de Petri em videira. Esse trabalho teve como objetivo caracterizar patologicamente, morfoculturalmente e molecularmente, uma população com 57 isolados de *P. chlamydospora*, oriundos de videiras de sete estados brasileiros. Todos os isolados foram molecularmente identificados como pertencentes à espécie *P. chlamydospora*, através da amplificação da região ITS e de partes do gene da beta tubulina ( $\beta$  Tubulin). Essa espécie já foi descrita ocorrendo nos estados de São Paulo, Pernambuco e Rio Grande do Sul. O presente estudo relata pela primeira vez a ocorrência deste fungo em videiras nos estados do Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais e Mato Grosso. Posterior aos estudos moleculares, realizaram-se os seguintes ensaios: caracterização cultural dos isolados em meio de cultura BDA (batata dextrose ágar) e MEA (extrato de malte); caracterização morfológica de conídios, conidióforos e clamidósporos em meio de cultura MEA e SNA (sintético nutriente ágar); crescimento dos isolados em temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C por 42 dias em meio BDA; e teste de patogenicidade em videiras 'Niágara Rosada' (incidência e agressividade). A análise de cultura identificou quatro características de colônia. Dessas, a mais comumente observada dentre os estados foi com o centro verde oliváceo com reentranças, e as bordas brancas de aspecto cremoso. A caracterização morfológica mostrou diferença significativa no crescimento das estruturas, quando crescidas em meio de cultura diferente, apontando maior desenvolvimento em meio de cultura MEA, quando avaliados os conídios e clamidósporos; e com maior crescimento no meio SNA, quando comparados os conidióforos. A faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento do patógeno está entre 20 a 25°C, enquanto que a temperatura de 5°C mostrou crescimento totalmente nulo. Ao expor os isolados mantidos em 5°C à temperatura de 25°C por 42 dias, estes apresentaram crescimento mais significativo comparado aos crescidos direto à temperatura de 25°C (efeito fungistático). Todos os isolados foram patogênicos para a videira 'Niágara Rosada'. Os isolados apresentaram reisolamento e agressividade diferentes. Agrupando os isolados por estado, observou-se diferença apenas no reisolamento, destacando-se os isolados de Pernambuco. Apesar de diferenças culturais e morfológicas entre isolados, concluiu-se que a população brasileira de *P. chlamydospora* apresenta baixa variabilidade genética. As suas características morfoculturais encontram-se dentro de padrões já descritos no mundo.

**Palavras-chave:** Doenças de tronco. Parreiras. Variabilidade. Controle.



## ABSTRACT

*Phaeomoniella chlamydospora* is considered the most aggressive of the pathogen complex responsible for causing a Petri disease in vines. The goal of this work was to illustrate, morphologically and molecularly, a population with 57 isolates of *Phaeomoniella* from vines of seven Brazilian states. All the isolates were identified as belonging to the *P. chlamydospora* species through the amplification of its area and parts of beta tubulina gene ( $\beta$  Tubulin). This series has already been carried out in the states of São Paulo, Pernambuco and Rio Grande do Sul. This was first reported in Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais and Mato Grosso. Later studies in the behavior of PDA (potato dextrose agar) and MEA (malt extract); morphological characterization of conidia, conidiophores and *chlamydospores* in the MEA and SNA culture medium (synthetic nutrient agar); growth of the substrates at temperatures of 5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35 ° C for 42 days in PDA medium; and pathogenicity test on Niagara Rosada vines (incidence and aggressiveness). A culture analysis identified 4 colony characteristics. Among these, the most commonly included in the states was with the green olive center with reentrances, and as white edges of creamy aspect. The morphological featurig was different in growth of structures when grown in medium culture, while the greater development in MEA medium culture when the conidia and *chlamydospores* were evaluated; and with higher growth in medium SNA when compared to the conidiophores. The ideal temperature range for the development of the pathogen is between 20 to 25°C, while the temperature of 5°C. By exposing the isolates kept from 5 ° C to 25 ° C for 42 days, they presented a more significant growth compared to those grown directly at 25 ° C (fungistatic effect). All the isolates were pathogenic to the 'Niagara Rosada' vine. The isolates showed different reisolation and aggressiveness. Putting the isolates together by state, a difference was noticed only in the reisolation, standing out the isolates of Pernambuco. Despite the cultural and morfological difference between the isolates, the conclusion is a Brazilian population of *P. chlamydospora* presents low genetic variability. Its morpho-cultural characteristics are within the standards already described in the world.

**Keywords:** Trunk diseases. Grapevine. Variability. Control.



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
2.1	Vitivinicultura .....	18
2.2	Doença de Petri .....	21
2.3	Controle da Doença de Petri.....	23
2.4	Caracterização de <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> .....	24
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
3.1	Obtenção, purificação e preservação dos isolados do fungo <i>Phaeomoniella</i> sp.....	27
3.2	Cultivo Monospórico de <i>Phaeomoniella</i> sp. ....	29
3.3	Identificação Molecular de <i>Phaeomoniella</i> sp. ....	30
3.4	Caracterização cultural de <i>Phaeomoniella</i> sp.....	31
3.5	Caracterização morfológica de <i>Phaeomoniella</i> sp.....	33
3.6	Crescimento dos isolados de <i>Phaeomoniella</i> sp. em diferentes temperaturas... ..	33
3.7	Teste de Patogenicidade de <i>Phaeomoniella</i> sp.....	34
3.8	Avaliação estatística dos dados.....	36
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>38</b>
4.1	Isolados de <i>Phaeomoniella</i> sp. obtidos .....	38
4.2	Identificação Molecular de <i>Phaeomoniella</i> sp. ....	40
4.3	Caracterização Cultural de <i>Phaeomoniella</i> sp.....	43
4.4	Caracterização Morfológica de <i>Phaeomoniella</i> sp.....	49

4.4.1	Conídios.....	49
4.4.2	Conidióforo de <i>Phaeomoniella</i> sp. ....	55
4.4.3	Clamidósporos de <i>Phaeomoniella</i> sp.....	61
<b>4.5</b>	<b>Crescimento dos isolados de <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> em meio de cultura BDA incubado em diferentes temperaturas.....</b>	<b>68</b>
<b>4.6</b>	<b>Teste de Patogenicidade .....</b>	<b>79</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>85</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>87</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em 2017, o Brasil produziu 1.592.242 toneladas de uva (IBGE, 2019), destacando-se o Estado do Rio Grande do Sul por ser o responsável por 50% da produção nacional.

Segundo Gasques (2018), a uva está inclusa nas frutas com maior aumento de produção nas projeções para 2028, podendo chegar a 29,2% de crescimento. Desta forma, a uva está entre os maiores focos para exportação. Porém, as ocorrências de doenças nas vinhas podem comprometer a produção, chegando a causar grandes perdas ou ocasionando até mesmo a morte de videiras (MAIA e CAMARGO, 2012; GIOVANNINI, 2014).

Dentre as doenças que ocorrem nas vinhas, encontra-se a doença de Petri. Essa doença é causada pela combinação de vários fungos, sendo o mais importante o fungo *Phaeomoniella chlamydospora* (MUGNAI et al., 1999; HALLEN et al., 2007; SCHECK et al., 1998). O sintoma mais comum da doença de Petri inclui o crescimento vegetativo reduzido, manifestando-se através de desfoliação repentina, declínio lento, clorose e necroses das folhas, murcha, queda de produtividade e redução de longevidade da cultura (PINTO, 2010).

O agente *P. chlamydospora* foi recentemente encontrado em videiras no Brasil, somente nos estados de Pernambuco, Rio Grande do Sul e São Paulo (CORREIA et al., 2013; ALMANÇA, 2013 e FERREIRA et al., 2017). Assim, um levantamento se faz necessário da ocorrência deste patógeno em videiras cultivadas nos estados produtores para saber o nível de sua ocorrência no país.

Sabendo-se da importância da videira na economia do país, da manutenção de empregos na cultura, do impacto potencial da doença de Petri na cultura, faz-se necessário conhecer a população do principal agente causal da doença, o fungo *P. chlamydospora*. Dessa forma, novos estudos poderão focar, tanto no controle do fungo, quanto no desenvolvimento de materiais de videira resistentes ao patógeno.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar morfoculturalmente e molecularmente isolados brasileiros da população de *P. chlamydospora* de videira.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Vitivinicultura

A origem paleontológica da videira *Vitis* spp. ocorreu na Groenlândia, há cerca de 300 mil anos, durante a Era Cenozóica, no Período Terciário. A videira, então, se dispersou em duas direções: américo-asiática e euro-asiática (GIOVANNINI, 2014).

A videira pertence ao grupo Cormófitas, divisão Spermatophyta, Classe Dicotyledoneae, ordem Rhamnales e família Vitacea. Hoje em dia, abrange cerca de 600 espécies (GIOVANNINI, 2014).

Dentre as várias espécies de videira, as que apresentam uma grande importância econômica na agricultura são *Vitis labrusca* e *Vitis vinifera*, tanto no consumo “in natura”, quanto na produção de vinhos. A primeira espécie tem origem Americana e apresenta características mais rústicas quanto à suscetibilidade às doenças, e a segunda é de origem Europeia, sendo responsável por mais de 90% dos vinhos que são fabricados no mundo (GIOVANNINI, 1999).

A Itália é o maior produtor mundial de uva, seguido da França e Espanha (COSTA, 2018). O Brasil ocupa, atualmente, o décimo segundo lugar no ranking mundial, apresentando uma produção de 1.592.242 toneladas de uva, com área plantada de 75.774 ha em 2018 (FAO, 2019; IBGE, 2019) (QUADRO 1).

A maior parte da produção de uva no País concentra-se no estado do Rio Grande do Sul. No ano de 2018, a produção foi de 822.689 toneladas em uma área plantada de 47.383 ha, representando 50% da produção nacional. Além disso, Pernambuco apresentou uma produção de 423.382 t em uma área de 8.976 ha, seguido por São Paulo com 133.261 t e 7.348 ha (TABELAS 1 e 2 e FIGURA 1) (IBGE, 2019).

**TABELA 1 - Produção de uvas no Brasil de 2016 a Junho de 2019, em toneladas.**

<b>Estado/Ano</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>
Rondônia	201	69	187	219
Piauí	240	240	51	192
Ceará	788	708	422	418
Paraíba	2.636	2.620	2.600	2.600
Pernambuco	242.967	390.300	423.382	421.202
Bahia	77.322	51.090	75.378	74.142
Minas Gerais	11.224	13.070	15.763	16.208
Espírito Santo	2.509	3.608	3.090	3.178
Rio de Janeiro	258	287	170	219
São Paulo	140.593	133.118	128.327	147.478
Paraná	52.198	56.295	54.000	48.000
Santa Catarina	33.245	65.800	61.256	59.858
Rio Grande do Sul	413.735	956.915	822.689	641.405
Mato Grosso do Sul	97	981	72	54
Mato Grosso	1.351	1.247	1.297	1.350
Goiás	3.729	1.974	2.121	1.775
Distrito Federal	1.386	1.700	1.425	1.235
<b>Brasil</b>	<b>984.451</b>	<b>1.680.020</b>	<b>1.592.242</b>	<b>1.419.545</b>

Fonte: IBGE (2019)

**TABELA 2 - Área plantada de uva no Brasil de 2016 a Junho de 2019, em hectares.**

<b>Estado/Ano</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>
Rondônia	27	10	25	30
Piauí	10	10	8	8
Ceará	38	37	23	18
Paraíba	132	132	130	130
Pernambuco	7.143	9.054	8.976	8.272
Bahia	2.877	2.229	2.154	2.069
Minas Gerais	911	907	1.212	1.122
Espírito Santo	183	246	250	199
Rio de Janeiro	16	16	22	22
São Paulo	7.741	7.431	7.233	8.034
Paraná	4.613	4.170	3.600	4.000
Santa Catarina	4.613	4.170	4.257	4.257
Rio Grande do Sul	50.044	48.830	47.383	47.179
Mato Grosso do Sul	9	56	8	5
Mato Grosso	56	50	53	55
Goiás	148	82	89	68
Distrito Federal	63	68	57	57
<b>Brasil</b>	<b>78.830</b>	<b>78.028</b>	<b>75.481</b>	<b>75.526</b>

Fonte: IBGE (2019)



O cultivo de 'Niagara Rosada' em áreas tropicais permite que haja uma safra (novembro até fevereiro) e uma safrinha (julho até setembro), tornando-a uma boa oportunidade de negócio (MAIA e KUNH, 2001).

Segundo Correia et al. (2013), na região nordeste do país têm se detectado em parreirais de videira e em viveiro, plantas com declínio. Nessas plantas, as espécies detectadas foram *Botryosphaeria mamane*, *Campylocarpon fasciculare*, *C. pseudofasciculare*, *Lasiodiplodia crassipora*, *L. parva*, *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae*, *Neofusicoccum parvum*, *Phaeoacremonium (Pm) minimum* (= *P. aleophilum*), *Pm. parasiticum* e *Phaeomoniella chlamydospora*.

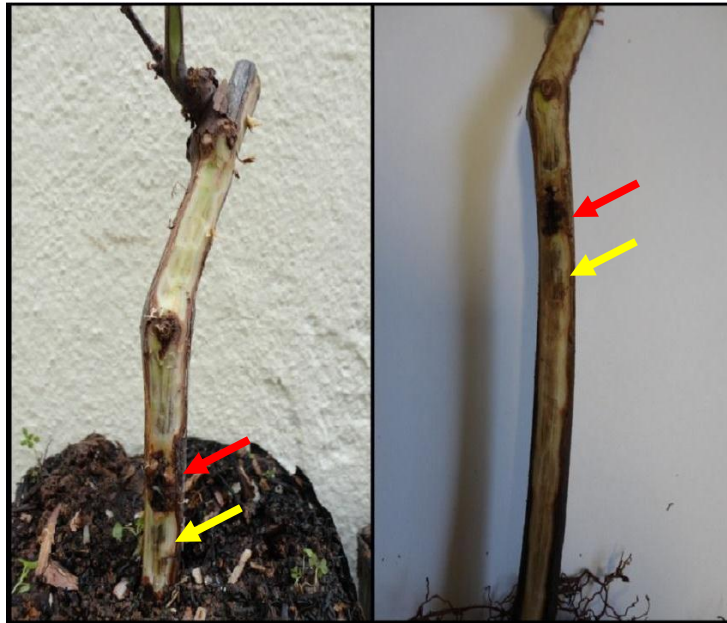
## 2.2 Doença de Petri

A doença de Petri é considerada grave, complexa e de difícil controle em videiras no mundo (SCHECK et al., 1998). Foi descoberta por Petri (1912), citado por Cavalcanti, Bueno e Almança (2013), que relatou na Sicília, Itália, no século XX, os primeiros sintomas dessa doença em videiras apresentando estrias castanhas no lenho.

Além dos sintomas relatados por Petri (1912), outros foram descritos, como desfoliação repentina, cloroses e necroses das folhas e murcha (declínio). A doença acomete principalmente vinhas jovens e causa grandes prejuízos (BERTELLI et al., 1998; SCHECK et al., 1998; FERREIRA et al., 1999; MUGNAI et al., 1999; MORTON, 2000; PASCOE e COTTRAL, 2000).

Os sintomas da doença de Petri também podem ser observados internamente através de cortes transversais ou longitudinais nos troncos e rebentos. Nestes cortes, observam-se pontuações negras (transversal) e estrias castanhas ou pretas nos tecidos do xilema (longitudinal) (FIGURA 2). Além disso, pode-se observar seiva negra saindo dos vasos colonizados (PINTO, 2010).

**FIGURA 2 - Detalhe de estrias escuras no vaso (seta amarela) a partir do ponto de inoculação (seta vermelha) em direção ao sistema radicular.**



**FONTE:** Ferreira, A. B. M. (2016)

Petri (1912) isolou dois fungos do gênero *Cephalosporium* e um do gênero *Acremonium* de videiras doentes. Posteriormente, com base na descrição de Petri (1912), estes fungos foram referidos como *Phaeoacremonium* (*Pm.*) *chlamydosporum* e *Pm. aleophilum*, respectivamente (MUGNAI et al., 1999). Atualmente, o primeiro fungo foi reclassificado como *Phaeomoniella chlamydospora* por CROUS e GAMS (2000).

A doença de Petri tem como agente causal uma combinação de vários fungos, sendo os mais importantes *Phaeomoniella chlamydospora* e várias espécies do gênero *Phaeoacremonium* (SCHECK et al., 1998).

Dezesseis espécies de *Phaeoacremonium* já foram relatadas colonizando videiras, sendo *P. minimum* (= *P. aleophilum*) a mais comumente encontrada. Entretanto, o patógeno *P. chlamydospora* tem sido o mais frequentemente associado aos sintomas típicos da doença de Petri (MUGNAI et al., 1999; GRAMAJE et al., 2015).

Os hifomicetos<sup>1</sup>: *Acremonium cf. charticola*, *A. cf. ochraceum*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Phialemonium cf. curvatum*, *Pleurostomophora richardsiae*,

<sup>1</sup> Classificação de fungos imperfeitos.

*Phaeoacremonium krajdenui*, *P. subulatum*, *P. venezuelense*, *P. viticola*, *P. aleophilum* e *P. chlamydospora*; foram recentemente isolados de tecido vascular, sintomático ou não, de plantas com doença de Petri na África do Sul. Mudanças, tanto em condições de casa de vegetação, quanto em campo, foram inoculadas com esses hifomicetos para comprovar a patogenicidade. Dentre eles, o fungo mais agressivo e frequentemente isolado foi *P. chlamydospora*. No entanto, em comparação com o controle negativo, todos os fungos recentemente isolados, foram capazes de infectar, colonizar e produzir lesões diferentes em videira (HALLEEN et al., 2007).

Os agentes causais da doença de Petri citados por Mugnai et al. (1999) e por Halleen et al. (2007) fazem jus à citação de Scheck et al. (1998), de que a doença de Petri é complexa. No entanto, tanto Mugnai et al. (1999), quanto Halleen et al. (2007), citam a importância do agente causal *P. chlamydospora* na doença de Petri, pois o mesmo é o mais frequentemente associado aos sintomas típicos da doença pelo fato de ser o mais agressivo e o mais frequentemente isolado das plantas doentes.

### **2.3 Controle da Doença de Petri**

Não há registros precisos dos níveis de danos econômico causados pelos fitopatógenos causadores da doença de Petri no Brasil, mas algumas pesquisas efetuadas nos últimos anos alertam para o crescimento dessa doença em áreas de produção vinícola, principalmente no Rio Grande do Sul (CAVALCANTI et al., 2013).

Até o presente momento, não há medidas curativas eficazes para controlar a doença depois de instalada no vinhedo. O que se tem é uma recomendação geral para conviver com essa doença de difícil controle, abordando várias formas de controle.

Uma dessas medidas é o controle físico que, segundo abordado por Pinto (2010), é realizado através da desinfecção das ferramentas utilizadas no manuseio da videira, principalmente durante a poda, a fim de evitar que uma planta saudável seja contaminada por meio da ferramenta utilizada na planta doente.

Outra medida que pode ser utilizada é o controle biológico que, segundo relato de Di Marco (2007), aumenta a tolerância de vinhas a *P. chlamydospora* quando tratada com *T. harzianum* nas raízes. O controle químico contra as doenças Esca e Petri estava reduzido até uns anos atrás, ao uso do arsenito de sódio, muito eficaz na redução da incidência e severidade destas doenças. Porém, os mesmos podem ser nocivos à saúde humana (PINTO, 2010).

Segundo Camargo e Bergamin Filho (1995), o emprego da resistência genética no controle de doenças vegetais representa um dos mais significativos avanços tecnológicos da agricultura. O uso de cultivares resistentes é o método de controle preferido pelos agricultores, por ser mais barato e de fácil utilização.

Com relação a potenciais fontes de resistência à doença de Petri, Gramaje e Armengol (2011) advertem que os principais porta-enxertos e copas de videira são suscetíveis aos fungos causadores da doença. No entanto, nos trabalhos envolvendo inoculação artificial dos patógenos da doença de Petri, detectaram-se contrastes entre tais suscetibilidades dos principais porta-enxertos e copas de videira, com destaque para as menores suscetibilidades do genótipo 161-49 Couderc e cruzamentos entre *V. riparia* x *V. berlandieri* (GRAMAJE et al., 2010).

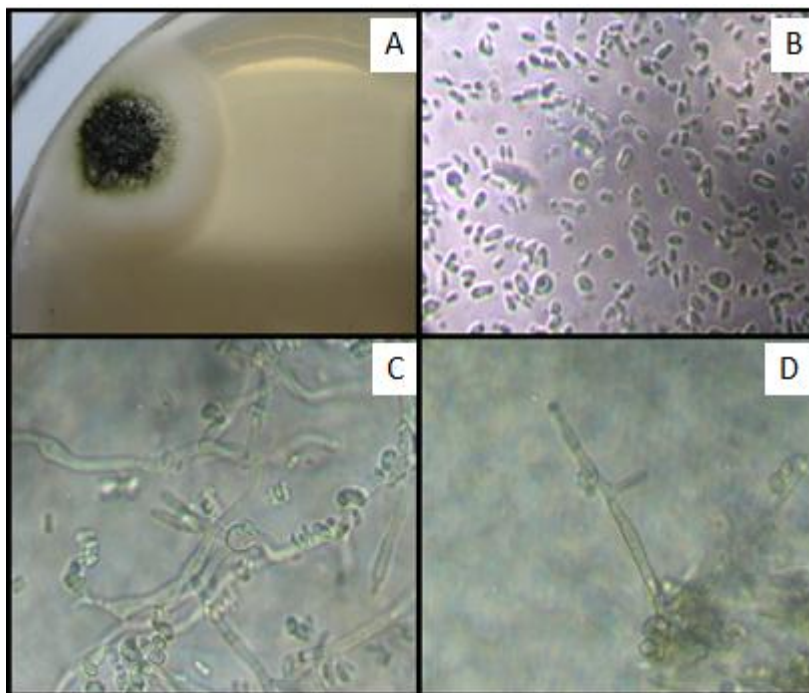
O patógeno *P. chlamydospora* é relatado como um dos mais importantes na doença de Petri (MUGNAI et al., 1999; HALLEEN et al., 2007). Assim, é importante saber o grau de variabilidade e heterogeneidade da população, principalmente no uso e desenvolvimento de materiais de videira resistentes a esse agente causal.

#### **2.4 Caracterização de *Phaeomoniella chlamydospora***

O fungo *P. chlamydospora* pertence a divisão Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Diaporthales e família Togniniaceae (CROUS e GAMS, 2000). Até o momento, foi referida apenas a forma imperfeita do fungo, sendo comum o relato de população com alta homogeneidade (MOSTERT et al., 2006; COBOS e MARTIN, 2008; TELLO et al., 2010; SOFIA et al., 2015).

O micélio de *P. chlamydospora* (FIGURA 3) é formado por hifas septadas e ramificadas, mantendo-se isoladas ou em grupo, tuberculadas, com verrugas, paredes castanhas, tendendo a se tornar mais clara em direção à região conidiogênica. Os clamidósporos podem ser abundantes ou escassos, de globosos a subglobosos, geralmente isolados, podendo ser visto em cadeia de até 5, com coloração de olivácea a castanha-esverdeada, lisos e tuberculados. Os conidióforos são eretos, simples, cilíndricos, possuindo uma célula apical alongada, paredes espessas na base possuindo até 3 septos. As fiálides (células conidiogênicas) são isoladas, terminais e monofialídicas, lisas, de forma alongada e ampuliforme a lageniforme ou subcilíndrica. Os conídios apresentam-se agregados com forma globosa e mucilaginosa nos ápices das células conidiogênicas, sub-hilainos, oblongos a elipsoidais, ovóides e direitos (CROUS e GAMS, 2000; PINTO, 2010).

**FIGURA 3 – Características fenotípicas do fungo *Phaeomoniella chlamydospora*.**



**A** – Colônia de *Phaeomoniella chlamydospora* desenvolvida em meio de cultura BDA (20 dias); **B** – Conídios em aumento de 400 x; **C** – Clamidósporos em aumento de 400 x e **D**- Conidióforo em aumento de 400 x.

**FONTE:** Ferreira, A. B. M. (2016)

Crous e Gams (2000) foram os pioneiros no mundo na reclassificação e nomeação do fungo *P. chlamydospora*. Posteriormente, diversos outros estudos foram feitos em diferentes locais como: Portugal (SOFIA et al., 2015), Nova Zelândia (POTTINGER et al., 2002; SMETHAM et al., 2010), Espanha (COBOS e MARTIN, 2008; TELLO et al., 2010), África do Sul (MOSTERT et al., 2006) e França (BORIE et al., 2002; SMETHAM et al., 2010).

No Brasil, até o momento, não há estudos realizados no sentido de levantar em quais localidades vitícolas do país há ocorrência da doença de Petri, se há incidência de *P. chlamydospora* nas plantas doentes e como é a população deste fungo.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios moleculares foram realizados no laboratório de Bioquímica, situado no Instituto Biológico, em São Paulo, SP. Os demais nos Laboratórios de Fitopatologia e de Controle Biológico de Pragas, ambos situados no Instituto Biológico, em Campinas - SP.

#### 3.1 Obtenção, purificação e preservação dos isolados do fungo *Phaeomoniella* sp.

Baseado nas informações do IBGE (2018) sobre locais de plantio de videira no Brasil (FIGURA 1), produtores e agrônomos foram contactados a respeito de locais com videiras apresentando sintomas de declínio com o intuito de coletar e enviar plantas ou partes destas (raízes + caule da região do colo) para ser efetuado diagnóstico da doença.


Das plantas obtidas ou coletadas, foi possível isolar o patógeno de alguns estados, de acordo com o Quadro 3. Além disto, de alguns estados, como no caso do Rio Grande do Sul e Pernambuco, isolados do patógeno foram cedidos de coleção micológica (QUADRO 1).

**QUADRO 1 - Procedência dos isolados de *Phaeomoniella* sp. por estado, no Brasil, a partir de materiais de videira enviados por produtores e de coleções micológicas.**

Estados produtores	Plantas coletadas	<i>Phaeomoniella</i> sp.	
		Isolado	Coleção micológica
Rio Grande do Sul			
Santa Catarina			
Paraná			
Espírito Santo			
São Paulo			
Rio de Janeiro	*		
Minas Gerais			
Mato Grosso do Sul			
Mato Grosso			
Goiás			
Piauí			
Ceará	*		
Paraíba	*		
Pernambuco			
Bahia	*		
Rondônia	*		

\* Houve contato com profissionais, mas não houve prosseguimento por parte da pessoa para obtenção de videiras junto aos produtores ou estação de pesquisa e posterior envio deste material para o Laboratório de Fitopatologia do Instituto Biológico, para isolamento do fitopatógeno.

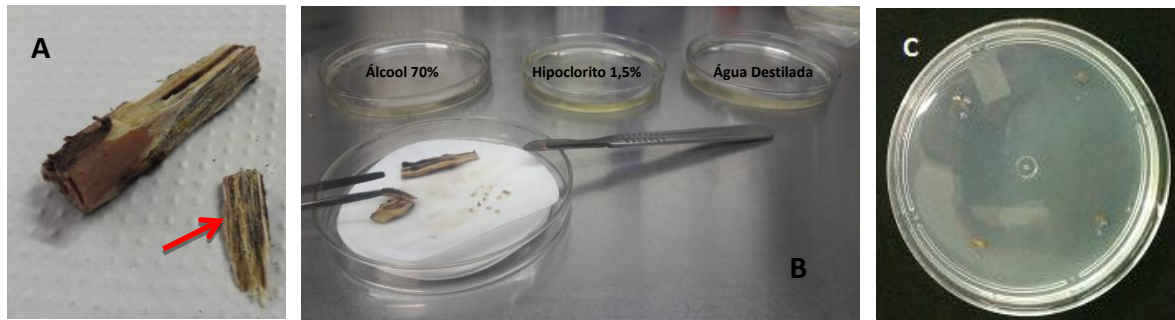
 Ocorrência

 Sem ocorrência

O isolamento do patógeno foi realizado retirando-se primeiramente os tecidos da região do colo (porta-enxerto) da videira com sintomas de estrias escuras. Esses tecidos foram cortados em fragmentos menores e levados para câmara de fluxo laminar, onde foram desinfestados superficialmente, durante 30 segundos em solução de álcool a 70%; 1 minuto em solução de hipoclorito de sódio a 1,5%; lavagens sucessivas em água destilada esterilizada e secagem dos fragmentos em papel de filtro autoclavado. Em seguida, os fragmentos foram cortados em fragmentos ainda menores, que foram misturados ao acaso e transferidos quatro

deles para uma placa de Petri contendo o meio de cultura BDA + oxitetraciclina (FIGURA 4).

**FIGURA 4 - Processo de isolamento do patógeno *Phaeomoniella* sp.**



**A:** Fragmentos de tecidos da região do colo de porta-enxerto de videiras contendo listas negras típicas do sintoma de doença de Petri; **B:** Processo de desinfestação superficial e **C:** Placa de Petri contendo BDA e fragmentos de videira desinfestados e transferidas ao meio de cultura BDA.

As placas acima preparadas permaneceram em estufa tipo BOD, a 25°C, sem fotoperíodo até o aparecimento de colônias típicas de *Phaeomoniella* sp. Todas as colônias obtidas foram repicadas para uma placa nova, contendo meio de cultura BDA. Depois de purificada, a colônia foi preservada pelo método de Castellani, que consiste em armazenar porções do fungo, procedentes do meio de cultura, em um frasco esterilizado e lacrado, contendo água destilada autoclavada.

### 3.2 Cultivo Monospórico de *Phaeomoniella* sp.

Após a preservação, as colônias dos isolados do patógeno foram reativadas com o intuito de obter uma colônia monospórica para posterior realização de ensaios de caracterização.

Nas colônias reativadas, foram aplicados 20 mL de água destilada autoclavada, raspadas com auxílio de uma lâmina de vidro autoclavada e o conteúdo obtido foi filtrado em dupla camada de gaze estéril. A suspensão filtrada foi diluída em água destilada autoclavada, na proporção de 1: 9 e de diluições até  $10^{-3}$ , uma alíquota de 0,1 mL foi transferida para a superfície de uma placa contendo o meio ágar-água. Em seguida, e com auxílio de uma alça de Drigalky flambada, a suspensão foi espalhada por toda superfície do meio. Todas as placas foram mantidas inclinadas em BOD, na temperatura de 25°C sem fotoperíodo.

Ao observar o crescimento de pequenas colônias individualizadas (3 dias de incubação), uma dessas foi transferida com auxílio de uma agulha fitopatológica para uma placa de Petri contendo o meio de cultura BDA. Após o crescimento dessa colônia pura, oriunda de um único esporo, a mesma foi novamente preservada no método de Castellani, para posteriormente ser utilizada para os demais ensaios de caracterização.

### 3.3 Identificação Molecular de *Phaeomoniella* sp.

Extraíu-se o DNA de todos os isolados do fungo provenientes de colônia monospórica através do método CTAB descrito por Doyle e Doyle (1987).

Em seguida, foi realizado o PCR (reação em cadeia polimerase). Para isso, 1 µL do DNA foi centrifugado com: 13,75 µL de água miliQ autoclavada; 4 µL de solução tampão (5x Gotaq Buffer); 0,4 µL de DNTPs; 0,05 µL de Taq; e 0,4 µL dos oligonucleotídeos iniciadores ITS1 (5' – TCCGTAGGTGAACCTGCGG – 3') e ITS4 (5' – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3') (WHITE et al., 1990).

Após obtenção da amplificação da região ITS, novo PCR foi realizado para amplificação do gene da beta tubulina ( $\beta$  Tubulin), utilizando os primers TUB2FD (GTBCACCTYCARACCGGYCARTG) e TUB4RD (CCRGAYTGRCCRAARACRAAGTTGTC) (AVESKAMP et al., 2009).

Utilizando o termociclador PTC100 (MJ Research), a reação de PCR foi feita de acordo com a seguinte programação: desnaturação inicial a 94°C/2 min, 40 ciclos de 94°C/10 s – 54°C/30 s – 72°C/40 s e extensão final a 72°C/4 min. Posteriormente, os produtos de PCR foram purificados através da precipitação com polietilenoglicol, como descrito no protocolo de Schmitz e Riesner (2006).

O sequenciamento dos isolados foi feito pelo método de terminação de cadeia, utilizando-se o sequenciador automático ABI3500 (Applied Biosystems), com aplicação do reagente BigDye 3,1 (Applied Biosystems).

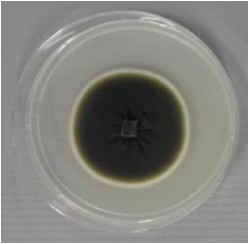
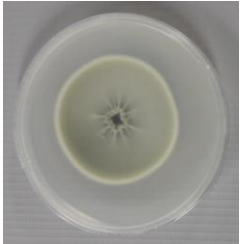
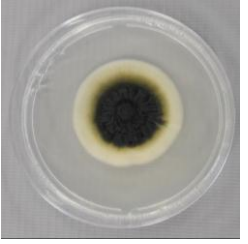
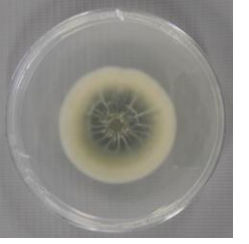
As árvores filogenéticas foram construídas com as sequências obtidas e com sequências de espécies do patógeno extraídas do banco de dados do GENBANK-NCBI. O programa utilizado foi o Mega 6.0.

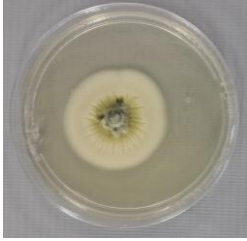


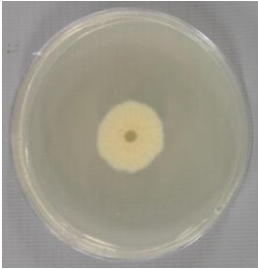
### 3.4 Caracterização cultural de *Phaeomoniella* sp.

Colônias monospóricas de todos os isolados foram reativadas e cultivadas em dois meios: extrato de malte (MEA) e batata dextrose ágar (BDA), como utilizado nos trabalhos de Crous e Gams (2000) e Dam et al. (2010). De cada meio para cada isolado foram feitas três repetições. Todas as placas foram mantidas em BOD a 25°C sem fotoperíodo.

A avaliação das colônias ocorreu com 14 e 28 dias de incubação, observando as características da cor e aspectos das colônias, com auxílio de uma escala de notas desenvolvida no presente estudo, com base na escala de Sofia et al. (2015) (QUADRO 2).

**QUADRO 2 - Escala de notas quanto à definição das características culturais da colônia do patógeno *Phaeomoniella* sp., cultivado em meio de cultura batata dextrose ágar.**

Categoria	Superior	Inferior
1	 <p>Colônia verde oliváceo de aspecto feltroso, com reentrâncias no centro, semelhante a rachaduras. Margem branca lisa estreita na extremidade da colônia.</p>	 <p>Colônia verde oliváceo, mostrando as reentrâncias no centro e margem branca estreita na extremidade da colônia.</p>
2	 <p>Margem branca larga na</p>	 <p>Margem branca larga na</p>

	<p>extremidade da colônia, demonstrando aspecto úmido e cremoso. Do centro até a margem branca, a colônia é de cor verde oliváceo e de aspecto feltroso com reentranças no centro, semelhantes a rachaduras.</p>	<p>extremidade da colônia. Do centro até a margem branca, a colônia é de cor verde oliváceo e ainda exibindo as reentranças no centro como rachaduras.</p>
3	 <p>Margem branca bem larga na extremidade da colônia, demonstrando aspecto úmido e cremoso. Do centro até a margem, a colônia é de cor amarela e iniciando o verde oliváceo. Além disto, há as reentranças no centro, com aspecto de rachaduras.</p>	 <p>Colônia branca, com centro amarelo e iniciando o verde oliváceo e ainda exibindo as reentranças no centro, com aspecto de rachaduras.</p>
4	 <p>Colônia totalmente branca, com aspecto úmido e cremoso, exibindo as reentranças com aspecto de rachaduras, por toda a colônia (extremidade e centro).</p>	 <p>Colônia totalmente branca amarelada, exibindo as reentranças com aspecto de rachadura por toda a colônia (extremidade e centro).</p>

Escala de notas desenvolvida para avaliação das características culturais de *Phaeomoniella* sp., baseada na escala de Sofia et al. (2015).

### 3.5 Caracterização morfológica de *Phaeomoniella* sp.

Colônias monospóricas de todos os isolados foram reativadas e postas para crescer nos meios de cultura: extrato de malte (MEA) e sintético nutriente ágar (SNA). De cada meio para cada isolado foram feitas três repetições. Todas as placas foram mantidas em BOD a 25°C sem fotoperíodo por 14 dias.

Após o crescimento das colônias dos isolados, foram preparadas lâminas permanentes de cada isolado contendo conídios, conidióforo e clamidósporos. As mesmas foram visualizadas em microscópio ótico, com auxílio de óleo de imersão, para sua caracterização.

Groenewald et al. (2001) e Dam et al. (2010) caracterizaram alguns isolados de *Phaeoacremonium*, espécies de *Phaeomoniella* e outros, utilizando a técnica de preparação de lâminas com estruturas dos fungos em ácido láctico, ou água, seguido de visualização em microscópio ótico.

Quanto ao uso de meio de cultura para caracterização de *Phaeomoniella*, os meios MEA e SNA são citados na literatura para esse tipo de estudo (CROUS e GAMS, 2000; DAM et al., 2010).

As estruturas nas lâminas foram visualizadas em microscópio ótico (Laika dm 2500), medindo-se a largura e o comprimento das estruturas. Para cada isolado e meio de cultura foram medidos 30 conídios, 10 clamidósporos e 10 conidióforos.

Além das dimensões das estruturas, as suas formas foram visualizadas e anotadas e depois comparadas com as formas da espécie *P. chlamydospora* descritas por Crous e Gams (2000).

### 3,6 Crescimento dos isolados de *Phaeomoniella* sp. em diferentes temperaturas

O crescimento dos isolados de *Phaeomoniella* sp. foi avaliado nas temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C.

Inóculo de cada isolado do fungo foi desenvolvido em meio de cultura BDA, durante 14 dias, sob temperatura de 25°C. Dessa colônia foi retirado um disco de micélio de 0,5 cm de diâmetro de cada isolado de *Phaeomoniella* sp. e transferido para o centro de placas de Petri contendo o meio BDA.

Para cada temperatura foram feitas três repetições. Cada repetição foi representada por uma placa contendo meio BDA + um disco de BDA contendo o isolado de *Phaeomoniella* sp. e mantidas em estufa BOD sem fotoperíodo.

A avaliação do diâmetro da colônia dos isolados foi realizada após 42 dias, período em que a colônia paralisa seu crescimento.

As placas da temperatura de 5°C foram re-incubadas na temperatura de 25°C, pois as mesmas não apresentaram crescimento. Desta forma, objetivou-se verificar se havia efeito fungicida a 5°C (nenhum crescimento a 5°C e a 25 °C) ou efeito fungistático (paralização de crescimento a 5°C, com crescimento a 25°C). Avaliou-se o diâmetro da colônia semanalmente, até completar seis semanas.

O experimento foi conduzido duas vezes integralmente.

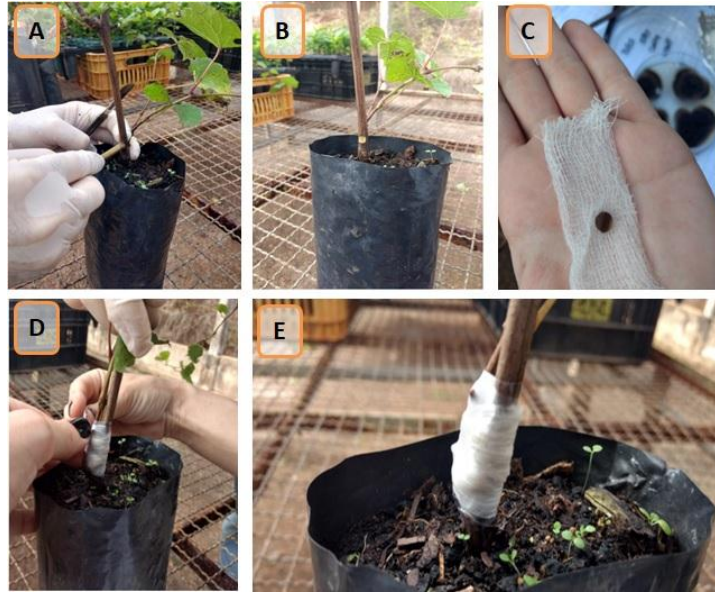
### **3.7 Teste de Patogenicidade de *Phaeomoniella* sp.**

Foram realizados testes de patogenicidade e agressividade dos isolados de *Phaeomoniella* sp. em videira.

Três mudas sadias da videira 'Niagara Rosada' enxertada no porta-enxerto IAC 766, foram inoculadas com cada isolado. A produção do inóculo foi feita em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, mantidas em BOD na temperatura de 25°C, por duas semanas.

Para a inoculação, foi feito um ferimento no colo da planta a 3,5 cm acima do solo, depositando-se sobre o ferimento, um disco de 0,5 mm de diâmetro de meio de cultura (BDA), contendo as estruturas micélio + conídios de cada isolado sob uma gaze estéril umedecida com água destilada autoclavada. A gaze estéril úmida contendo o fungo foi vedada com parafilme (FIGURA 5). O tratamento testemunha consistiu em um disco de BDA sem estar colonizado pelo isolado do fungo. A metodologia foi a mesma descrita por Ferreira et al. (2017).

**FIGURA 5 - Inoculação de *Phaeomoniella* sp. em videira 'Niagara Rosada'.**



**A** – Ferimento no colo da planta feito com auxílio de um furador metálico estéril de 5 mm; **B** – Ferimento do colo da videira 3,5 cm acima do solo; **C** – Disco de micélio de isolado de *Phaeomoniella* sp. posto sobre uma gaze estéril umedecida com água destilada esterilizada; **D e E** – Disco de micélio inserido no ferimento da muda, fechado com gaze umedecida e selada com parafilme.

**Foto:** BRAMBATTI, F. (2018)

Todas as mudas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação por três meses, sendo regadas a cada dois dias. Após esse período, avaliou-se a patogenicidade do isolado na muda através de isolamento indireto de tecido vegetal em meio de cultura, no total de 48 fragmentos por isolado.

Quanto à agressividade do isolado, foi avaliado por meio da severidade da doença, com auxílio de uma escala de notas. Para avaliação da severidade da doença, um corte no caule na altura do colo de cada muda foi realizado, próximo do local que foi efetuado a inoculação do patógeno. O corte transversal foi avaliado de acordo com o grau de descoloração do xilema (entupimento), utilizando-se a escala de notas proposta por Gramaje et al. (2010) (FIGURA 6).

**FIGURA 6 - Escala de notas variando de 0 até 4, utilizada para avaliar a severidade da doença de Petri em cada muda de videira 'Niagara Rosada' inoculada com os isolados de *Phaeomoniella* sp.**



Fonte: GRAMAJE et al., 2010

A incidência de cada isolado nas mudas da videira 'Niagara Rosada' foi avaliada, por meio de isolamento indireto de tecidos sintomáticos, removidos do xilema da região do colo das plantas. O isolamento foi idêntico ao do item 3.2 (Obtenção, purificação e preservação dos isolados do fungo *Phaeomoniella* sp.).

Para cada planta de cada tratamento foram utilizadas 8 repetições (placas de Petri com o meio BDA contendo 4 fragmentos de tecidos inoculados), totalizando 48 fragmentos por isolado (tratamento) + testemunha. As placas foram mantidas em estufa tipo BOD a 25°C sem fotoperíodo por até 21 dias. A avaliação consistiu em verificar o crescimento ou não de colônias típicas de *Phaeomoniella* no meio de cultura.

O experimento foi conduzido duas vezes integralmente.

### **3.8 Avaliação estatística dos dados**

Os dados do teste de patogenicidade (incidência) foram analisados pelo teste de associação de Goodman, envolvendo contrastes entre populações multinominais (positivas – crescimento do fungo, e negativas – ausência de crescimento do fungo) (GOODMAN, 1964). Na Tabela deste estudo, foram exibidas somente as populações positivas.

Os dados do teste de patogenicidade (agressividade), e os dados da caracterização cultural, foram analisados através de pontuações totais das notas de cada escala, de cada estudo, por isolado individualmente ou agrupado por estado. Para as comparações das pontuações, consideraram-se os limites de 95% de

confiança, para a proporção (porcentagem de 0 a 100%) obtida pelo isolado ou estado (NORMAN E STREINER, 1994).

Os demais resultados foram avaliados através do teste de Tukey, considerando-se o nível de 5% de probabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Isolados de *Phaeomoniella* sp. obtidos

De acordo com o isolamento realizado nos materiais de videira obtidos e doações de isolados de coleções micológicas, chegou-se a 57 isolados, representando sete estados brasileiros e abrangendo as regiões Nordeste, Sudeste e Sul (QUADRO 3).

**QUADRO 3 - Informações de todos os isolados de *Phaeomoniella* sp. obtidos de diferentes estados do Brasil.**

Dados dos Isolados de <i>Phaeomoniella</i> sp.					
Identificação Instituto Biológico	Identificação Original	Cultivar	Porta Enxerto	Idade	Procedência
<b>MINAS GERAIS</b>					
IBVDMG01	TD 538/2015	Merlot	Paulsen 1103	1 ano (muda)	Caldas
<b>MATO GROSSO</b>					
IBVDMT01		Niagara Rosada	IAC 572	6 anos	Nova Mutum
<b>PARANÁ</b>					
IBVDPR01		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR02		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR03		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR04		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR05		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR06		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR07		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR08		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR09		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR10		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
IBVDPR11		Bordô	Paulsen 1103	5 anos	Palmeira
<b>PERNAMBUCO</b>					
IBVDPE03	CMM-4337	Isabel		20 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE04	CMM-4342	Isabel		20 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE05	CMM-4343	Isabel		20 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE06	CMM-4344	Isabel		20 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE07	CMM-4345	Isabel		20 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE08	CMM-4347	Isabel		15 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE09	CMM-4348	Isabel		15 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE10	CMM-4349	Isabel		20 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE11	CMM-4351	Isabel		18 anos	São Vicente Férrer

IBVDPE13	CMM-4356	Isabel		18 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE15	CMM-4361	Isabel		18 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE16	CMM-4362	Isabel		18 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE17	CMM-4364	Isabel		18 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE18	CMM-4366	Isabel		18 anos	São Vicente Férrer
IBVDPE19	CMM-4369	Isabel		18 anos	São Vicente Férrer
<b>RIO GRANDE DO SUL</b>					
IBVDRS01	TD 745/2016	Bordô	Paulsen 1103	2 anos	Vacaria
IBVDRS02	TD 744/2016	Bordô	Paulsen 1103	2 anos	Vacaria
IBVDRS03	TD 749/2016	Bordô	Paulsen 1103	2 anos	Vacaria
IBVDRS04	TD 958/2016	Chardonnay	Paulsen 1103	2 anos	Tuiuty
IBVDRS05	TD 1024/2016	Chardonnay	Paulsen 1103	2 anos	Tuiuty
IBVDRS07	TD 731/2016	Chardonnay	Paulsen 1103	2 anos	Tuiuty
IBVDRS08	TD 742/2016	Chardonnay	Paulsen 1103	2 anos	Tuiuty
IBVDRS09	TD 755/2016	Chardonnay	Paulsen 1103	2 anos	Tuiuty
IBVDRS10	TD 748/2016	Chardonnay	Paulsen 1103	2 anos	Tuiuty
IBVDRS13	TD 340/2015	Cabernet Sauvignon	Paulsen 1103	12 anos	Pinto Bandeira-RS
<b>SANTA CATARINA</b>					
IBVDSC01		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC02		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC03		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC04		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC05		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC06		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC07		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC08		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC09		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC10		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC11		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
IBVDSC12		Niagara Rosada	Paulsen 1103	1 ano	EEV - Estação Experimental de Videira/Epagri
<b>SÃO PAULO</b>					
IBVDSP01		Niagara Rosada	Riparia do Traviú	3 anos	Jundiá
IBVDSP02		Niagara Rosada	IAC 766	2 anos	Jundiá
IBVDSP03		Bordo	IAC 766 (Centro Paula Souza)	1 ano	Jundiá
IBVDSP05		Niagara Rosada	IAC 766	3 anos	Jarinú
IBVDSP06		Niagara Rosada	Riparia Gloire	3 anos	Porto Feliz
IBVDSP07		Niagara Rosada	Gloria	2 anos	Elias Fausto
IBVDSP 08		Niagara Rosada	IAC 766		Louveira

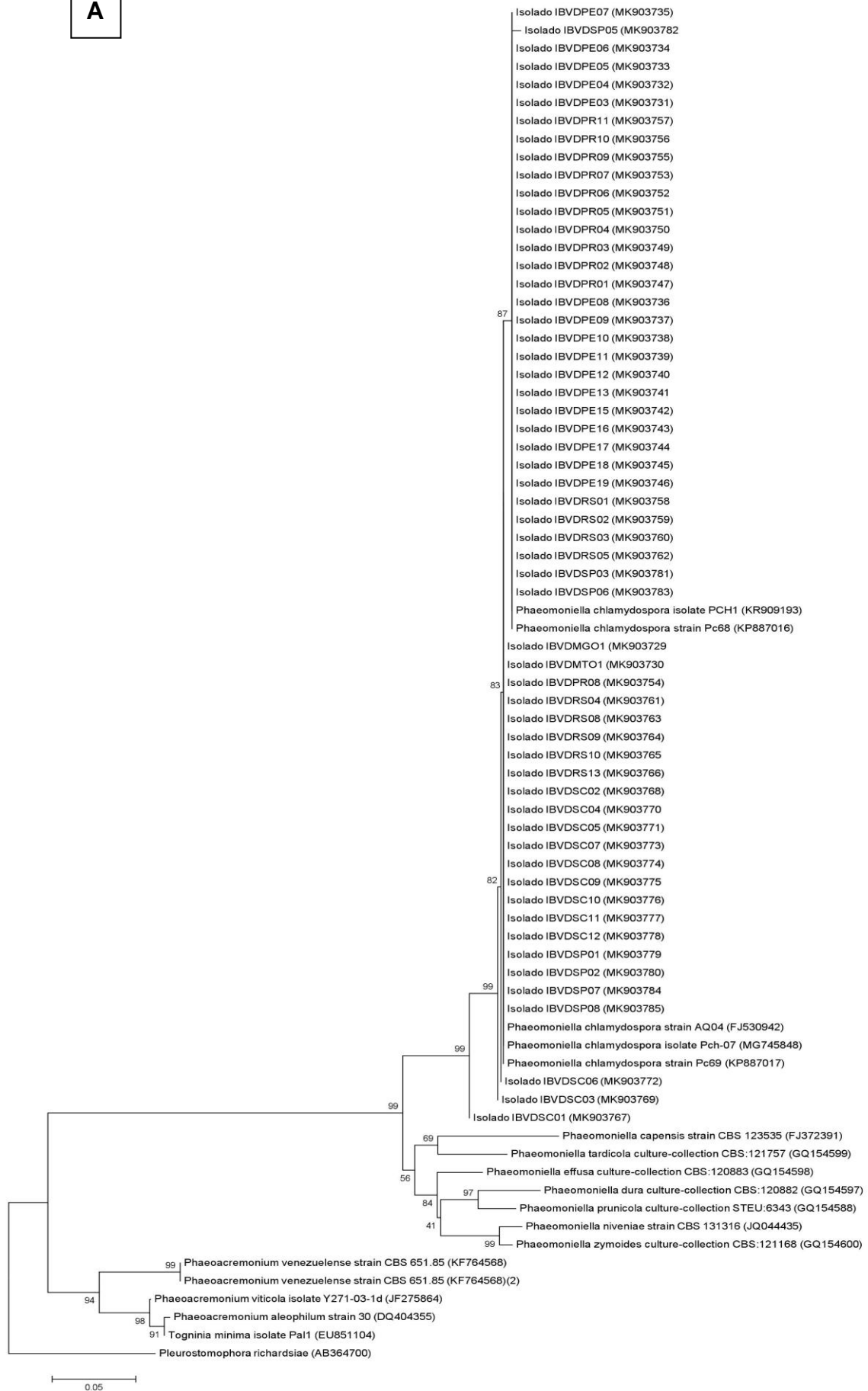
#### 4.2 Identificação Molecular de *Phaeomoniella* sp.

De acordo com as árvores filogenéticas construídas com sequências da região ITS (FIGURA 7A) e partes do gene da Beta Tubulina (FIGURA 7B), todos os isolados de *Phaeomoniella* obtidos pertencem à espécie *P. chlamydospora*.

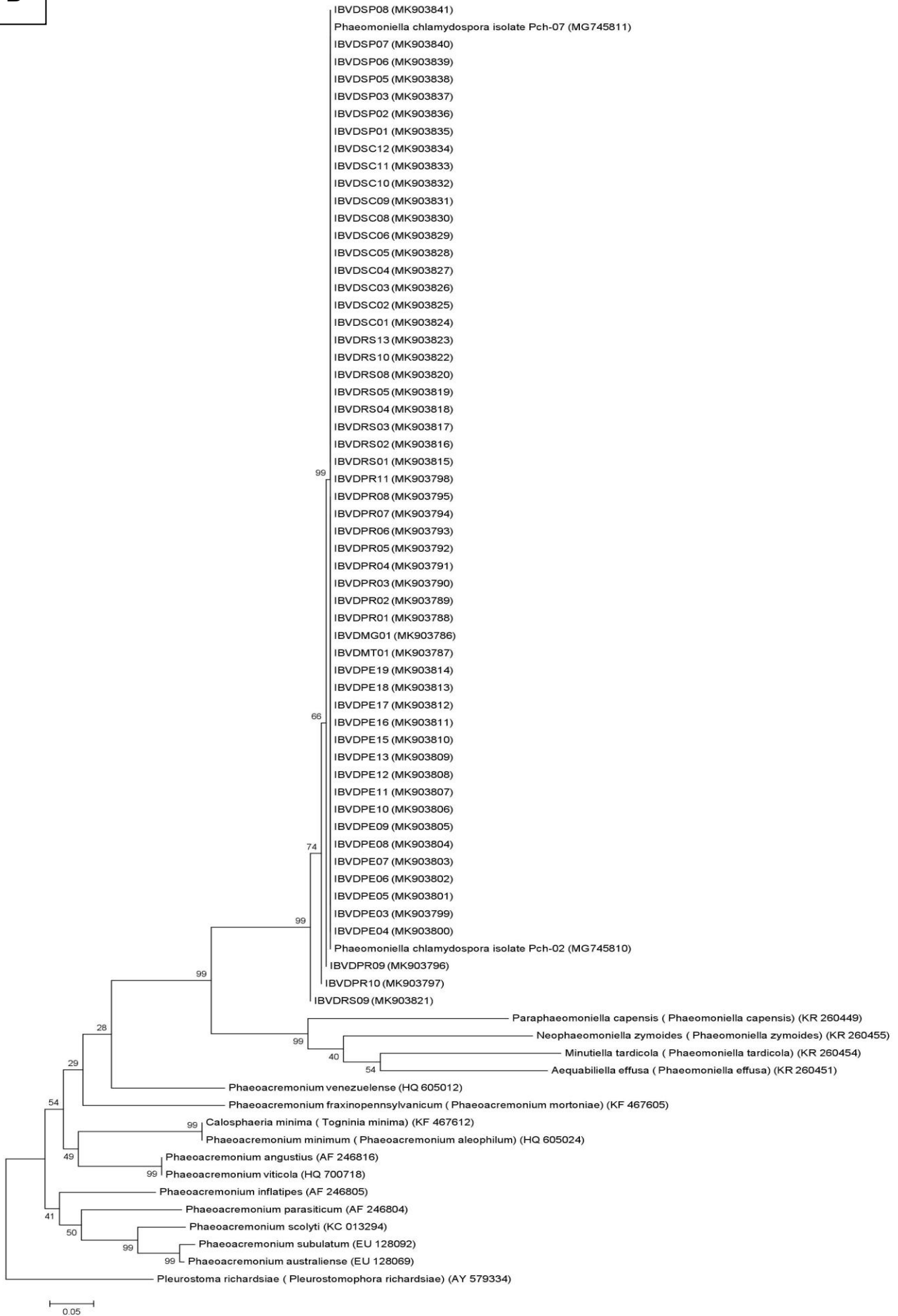
Groenewald et al. (2001) e Ferreira et al. (2017) também construíram árvores filogenéticas utilizando sequências da região ITS e do gene da Beta Tubulina, em seus estudos, para identificar diferentes espécies dos fungos *Phaeoacremonium* e *Phaeomoniella*.

**FIGURA 7 - Árvore filogenética demonstrando a relação entre as sequências dos isolados brasileiros de *Phaeomoniella* de videira com sequências de várias espécies de *Phaeomoniella* e também de diferentes espécies de *Phaeoacremonium*, obtidas do GenBank-NCBI. As árvores foram construídas com base nas seguintes sequências: A – região ITS-5.8S e B – Partes do gene da Beta Tubulina. O isolado *Pleurostoma richardsiae* (= *Pleurostomophora richardsiae*) foi utilizado como outgroup. O número de acesso das sequências dos isolados no GenBank-NCBI encontra-se entre parêntese.**

A



**B**



Analisando as árvores ITS e Beta Tubulina (Figuras 7A e 7B), foi possível identificar quatro e três grupos de isolados, respectivamente, com alta homogeneidade entre todos os isolados. Portanto, a população brasileira de *P. chlamydospora* demonstrou pouca variabilidade genética.

Sofia et al. (2015) fizeram caracterização fenotípica e molecular de isolados de *P. chlamydospora*, obtidos na região demarcada do Dão, em Portugal. De 68 isolados caracterizados por sequências da região ITS, foi possível distinguir dois grupos, mas com alta homogeneidade entre todos os isolados. Os dados das sequências da região ITS e do gene da beta tubulina dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* mostram semelhança ao estudo de Sofia et al. (2015) quanto à formação de grupos e homogeneidade entre os isolados do fungo.

Como já descrito, a população brasileira de *P. chlamydospora* demonstrou não ter muita variabilidade genética. Uma das explicações para isso pode ser resultado da reprodução assexuada comum na espécie. A sua fase teleomórfica (fase sexuada) é desconhecida (CROUS e GAMS, 2000). A baixa variabilidade deste fungo também foi relatado nos trabalhos de Tello et al. (2010), Sofia et al. (2013), Cobos e Martin (2008) e Mostert et al. (2006).

Dentre os estados brasileiros com relato de ocorrência do patógeno *P. chlamydospora* em videira, destacam-se o estado de Pernambuco (CORREIA et al., 2013), Rio Grande do Sul (ALMANÇA et al., 2013) e São Paulo (FERREIRA et al., 2017). De acordo com o levantamento realizado (QUADRO 5 e FIGURAS 7 A e B), este é o primeiro relato de ocorrência e detecção de *P. chlamydospora* nos estados de Minas Gerais, Santa Catarina, Mato Grosso e Paraná, em videiras.

#### **4.3 Caracterização Cultural de *Phaeomoniella* sp.**

Quanto aos dados de caracterização cultural das colônias dos isolados de *P. chlamydospora*, nos dois meios de cultura testados, há as seguintes constatações:

- 1) A face superior e inferior das colônias dos isolados nos dois meios testados não apresentaram diferenças entre si, tanto por isolado quanto por Estado. Portanto, os dados descritos abaixo e discutidos referem-se sempre aos da face superior;

- 2) Meio MEA – As colônias dos isolados apresentaram nota variando de 1,0 até 4,0. Por Estado, a nota da colônia dos isolados obtidos variou de 1,2 até 3,0. Ainda por Estado, a colônia dos isolados de São Paulo apresentou nota média de 1,2 e as dos isolados do Mato Grosso 3,0 e do Paraná 2,3. Assim, neste meio, a colônia dos isolados de São Paulo diferenciou-se da colônia dos isolados de Mato Grosso e Paraná, e ambos não diferiram entre si. A nota média da colônia da população do fungo neste meio foi de 2,0 (TABELA 1);
- 3) Meio BDA – As colônias dos isolados apresentaram nota variando de 1,0 até 4. Por Estado, a nota da colônia dos isolados obtidos variou de 1,6 até 3,0. Entre as colônias dos isolados dos Estados de Pernambuco e Santa Catarina a nota média foi de 1,6 e 1,8, respectivamente. As colônias dos isolados do Mato Grosso apresentaram nota média 3,0 e do Paraná 2,3. Assim, neste meio, a colônia dos isolados de Pernambuco e Santa Catarina diferiram significativamente da colônia dos isolados de Mato Grosso e Paraná, e ambos não diferiram entre si. A média da colônia da população do fungo neste meio foi de 2,1 (TABELA 3).

**TABELA 3 - Característica *in vitro* (escala de notas) quanto à frente da colônia dos diferentes isolados de *Phaeomoniella chlamydospora*, por estado, crescida em meio de cultura BDA e MEA, e avaliada com 28 dias.**

Isolados	Meio MEA			Meio BDA		
	Nota e Porcentagem	Estado	Nota por estado e Porcentagens	Nota e Porcentagem	Estado	Nota por estado e Porcentagens
IBVDMG01	2,00 33,3% $\alpha^5$	Minas Gerais	2,0 <sup>1</sup> 33,3% bc <sup>3</sup> A <sup>4</sup>	2,00 33,3% $\beta$	Minas Gerais	2,0 33,3% ab A
IBVDMT01	3,00 66,7% $\alpha$	Mato Grosso	3,0 50,0% c A	3,00 66,7% $\alpha$	Mato Grosso	3,0 50,0% b A
IBVDPE03	1,67 22,2% $\alpha$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDPE04	1,67 22,2% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPE05	1,00 0,0% $\alpha$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDPE06	4,00 100% $\beta$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPE07	1,00 0,0% $\alpha$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDPE08	2,00 33,3% $\alpha$			1,33 11,1% $\alpha$		
IBVDPE09	1,67 22,2% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPE10	1,00 22,2% $\alpha$	Pernambuco	1,9 (1,0 – 4.0 <sup>2</sup> ) 31,1% b A	2,00 33,3% $\beta$	Pernambuco	1,6 (1,0 – 2,0) 20,0% a A
IBVDPE11	1,33 11,1% $\alpha$			1,33 1,1% $\alpha$		
IBVDPE13	2,00 33,3% $\beta$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDPE15	3,67 88,9% $\beta$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPE16	2,33 44,4% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPE17	2,00 33,3% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPE18	2,00 33,3% $\alpha$			1,33 11,1% $\alpha$		
IBVDPE19	1,67 22,2% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPR01	1,67 22,2% $\alpha$	Paraná	2,3 (1,0 – 3,3) 45,7% c A	2,00 33,3% $\alpha$	Paraná	2,3 (1,7 – 3,3) 44,7% b A

IBVDPR02	2,00 33,3% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPR03	2,33 44,4% $\alpha$			2,67 55,6% $\alpha$		
IBVDPR04	2,67 55,6% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDPR05	3,33 77,8% $\alpha$			2,33 e 44,4% $\alpha$		
IBVDPR06	3,33 77,8% $\beta$			1,67 22,2% $\alpha$		
IBVDPR07	1,67 22,2% $\alpha$			2,33 44,4% $\alpha$		
IBVDPR08	2,00 33,3% $\alpha$			2,67 55,6% $\alpha$		
IBVDPR09	1,00 0,0% $\alpha$			3,33 77,8% $\beta$		
IBVDPR10	3,00 66,7% $\alpha$			2,33 44,4% $\alpha$		
IBVDPR11	2,33 44,4% $\alpha$			1,67 22,2% $\alpha$		
IBVDSC01	1,00 0,0% $\alpha$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDSC02	2,00 33,3% $\beta$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDSC03	1,67 22,2% $\alpha$			1,67 22,2% $\alpha$		
IBVDSC04	1,00 0,0% $\alpha$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDSC05	1,00 0,0% $\alpha$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDSC06	1,00 0,0% $\alpha$			3,00 66,7% $\beta$	Santa Catarina	1,8 (1,0 – 3,7) 26,9% a A
IBVDSC07	2,67 55,6% $\alpha$	Santa Catarina	1,7 (1,0 – 2,7) 22,2% b A	3,67 88,9% $\beta$		
IBVDSC08	1,33 11,1% $\alpha$			1,33 11,1% $\alpha$		
IBVDSC09	2,00 33,3% $\alpha$			1,33 11,1% $\alpha$		
IBVDSC10	2,00 33,3% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDSC11	2,33 44,4% $\alpha$			2,33 44,4% $\alpha$		
IBVDSC12	2,00 33,3% $\alpha$			2,33 44,4% $\alpha$		
IBVDSP01	1,00 e 0,0% $\alpha$	São Paulo	1,2 (1,0 – 2,3) 6,3% a A	2,00 33,3% $\beta$	São Paulo	2,1 (1,0 – 3,3) 36,5% ab B

IBVDSP02	2,33 44,4% $\alpha$			3,33 77,8% $\beta$		
IBVDSP03	1,00 0,0% $\alpha$			2,00 33,3% $\beta$		
IBVDSP05	1,00 0,0% $\alpha$			2,00 33,3% $\beta$		
IBVDSP06	1,00 0,0% $\alpha$			2,00 33,3% $\beta$		
IBVDSP07	1,00 0,0% $\alpha$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDSP08	1,00 0,0% $\alpha$			2,33 4,4% $\beta$		
IBVDRS01	1,67 22,2% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDRS02	1,00 0,0% $\alpha$			2,00 33,3% $\beta$		
IBVDRS03	1,00 0,0% $\alpha$			1,00 0,0% $\alpha$		
IBVDRS04	3,00 66,7% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDRS05	4,00 100,0% $\alpha$	Rio Grande do Sul	2,1 (1,0 – 4,0) 37,8% bc A	4,00 100,0% $\alpha$	Rio Grande do Sul	2,0 (1,0 – 4,0) 33,3% ab A
IBVDRS07	3,33 77,8% $\beta$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDRS08	1,67 22,2% $\alpha$			1,33 11,1% $\alpha$		
IBVDRS09	1,67 22,2% $\alpha$			1,33 11,1% $\alpha$		
IBVDRS10	2,00 33,3% $\alpha$			2,00 33,3% $\alpha$		
IBVDRS13	2,00 33,3% $\alpha$			2,33 44,4% $\alpha$		
População brasileira			2,0	2,1		

\* Média de 3 repetições por isolado;

<sup>1</sup> Média da escala de notas: 1,0 (Colônia verde oliváceo de aspecto feltroso, com reentrâncias no centro parecendo-se rachaduras. Margem branca lisa estreita na extremidade da colônia) até o 4,0 (Colônia totalmente branca, com aspecto úmido e cremos, exibindo as reentrâncias com aspecto de rachaduras por toda a colônia - extremidade e centro).

<sup>2</sup> Valores mínimo e máximo;

<sup>3</sup> Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si por estado, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade;

<sup>4</sup> Letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si por estado, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade;

<sup>5</sup> Letras gregas iguais na linha não diferem entre si por isolados, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade.

As notas 1,0 e 2,0 indicam colônias do fungo *P. chlamydospora* com características semelhantes às mais comumente relatadas, enquanto que as notas 3,0 e 4,0 indicam características não habitualmente observadas nas colônias deste fungo. Outras inferências possíveis de serem feitas nos dados da Tabela 3 são:

- a) O meio de cultura influenciou na característica da colônia de 17 isolados. Destes dezessete, 6 isolados apresentaram diferenças voltadas para o meio MEA e 11 para o meio BDA, ou seja, neste meio, a característica do isolado ficou mais distante da característica comum da espécie *P. chlamydospora* descrita na literatura por Crous e Gams (2000). Por Estado, somente os isolados de São Paulo apresentaram diferenças na colônia em relação aos meios de cultura. No meio MEA, a característica da colônia dos isolados de São Paulo ficou mais próxima da comum, para a espécie do fungo.
- b) Fazendo uma análise por Estado, a característica média da colônia dos isolados ficou dentro da normalidade observada nas colônias desta espécie do fungo descritas no mundo (CROUS e GAMS, 2000). As únicas exceções foram às colônias dos isolados dos Estados do Mato Grosso e do Paraná, que tanto no meio MEA, quanto no meio BDA, mostraram aspecto não comumente observado. A colônia destes isolados não demonstrou cor verde oliváceo no centro, indo até a borda da colônia, aspecto considerado comum para essa espécie, à medida que a colônia vai envelhecendo no meio de cultura.

Dam et al. (2010) ao estudarem diferentes espécies de *Phaeomoniella* sp. caracterizaram a cultura das colônias das espécies nos meios MEA e BDA. Estes mesmos meios foram utilizados no presente estudo com os isolados brasileiros de *P. chlamydospora* de videira.

Sofia et al. (2013) fizeram um estudo em Portugal visando entender melhor as doenças Esca e Doença de Petri em videira, na região do Dão. Dentre os estudos, os autores caracterizaram o aspecto das colônias de 20 isolados de *P. chlamydospora*, obtidos no meio de BDA. Criaram quatro grupos para caracterizar as colônias. Esses quatro grupos são semelhantes às notas descritas no presente estudo. Grande parte dos isolados de *P. chlamydospora* do estudo de Sofia et al.

(2013) enquadraram-se dentro do grupo I e II e a minoria nos grupos III e IV. O grupo I e II está dentro das características mais observadas para a colônia desta espécie de fungo.

Assim, os dados do presente estudo (TABELA 3) quanto à caracterização do aspecto da colônia dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* demonstram similaridade aos dados obtidos no estudo de Sofia et al. (2013). Além disso, a maioria da colônia dos isolados brasileiros e portugueses de *P. chlamydospora* enquadra-se no aspecto comum da espécie, ou seja, fica dentro da nota ou grupo 1,0 e 2,0. O aspecto da colônia de nota 1,0 e 2,0 é margem branca larga ou fina, com aspecto úmido e cremosa. Do centro até próximo da margem, a colônia é de cor verde olivácea e de aspecto feltroso com reentrâncias no centro, aparentando rachaduras.

Deste estudo de caracterização cultural, pode-se concluir que há diferença no aspecto da colônia do fungo, de acordo com o meio de cultura em que ele se desenvolve. O meio MEA define melhor o aspecto e a cor da colônia de isolados de *P. chlamydospora* de acordo com o descrito em literatura. Outros estudos utilizaram esse meio de cultura para fazer caracterização cultural (aspecto e cor) das colônias de *P. chlamydospora* (CROUS e GAMS, 2000; GROENEWALD et al., 2001; DAM et al., 2010)

#### **4.4 Caracterização Morfológica de *Phaeomoniella* sp.**

##### **4.4.1 Conídios**

Quanto à caracterização morfológica dos conídios dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* nos dois diferentes meios de cultura testados, pode-se fazer as seguintes constatações (TABELA 4):

- a) Meio MEA: Houve diferença significativa no tamanho do comprimento dos conídios, entre os isolados. O maior comprimento observado foi o do isolado IBVDSC04 com média de 4,14  $\mu\text{m}$  e o menor do isolado IBVDRS05 com média de 2,64  $\mu\text{m}$ . A largura dos conídios dos isolados foi significativamente diferente entre si. A maior largura observada foi do isolado IBVDSC04 com média de 1,84  $\mu\text{m}$  e a menor do isolado IBVDPE09 com 1,00  $\mu\text{m}$ . Por

Estado, o comprimento dos conídios dos isolados no meio MEA não apresentou diferenças, enquanto que a largura sim. Os conídios com larguras maiores significativamente, foram observadas nos isolados dos Estados de Pernambuco, Mato Grosso e Paraná. As menores larguras foram observadas nos isolados do Estado de São Paulo. A média das dimensões (comprimento x largura) dos conídios da população de *P. chlamydospora* no meio MEA foi de 3,45 x 1,31  $\mu\text{m}$ .

- b) Meio SNA: O comprimento dos conídios dos isolados foi significativamente diverso entre si. O maior comprimento médio observado foi do isolado IBVDPR11 com 3,67  $\mu\text{m}$  e os menores dos isolados IBVDSP01 e IBVDRS10 com 2,19  $\mu\text{m}$ . A largura dos conídios dos isolados foi novamente diversificada. A maior largura média observada foi do isolado IBVDPR09 com 1,50  $\mu\text{m}$  e a menor do isolado IBVDSP07 com 0,74  $\mu\text{m}$ . Por Estado, o comprimento dos conídios dos isolados no meio SNA apresentou diferenças. O maior comprimento foi observado nos isolados do Estado do Paraná e os menores nos isolados dos Estados de Mato Grosso e São Paulo. Por Estado ainda, a largura dos conídios dos isolados no meio SNA apresentou diferenças. As maiores larguras dos conídios foram observadas no Estado do Paraná. As menores larguras foram observadas apenas nos isolados do Estado de São Paulo, Mato Grosso e Minas Gerais. A média das dimensões (comprimento x largura) dos conídios da população de *P. chlamydospora* no meio SNA foi de 2,86 x 1,11  $\mu\text{m}$ .
- c) Observando as dimensões dos conídios entre os meios, constatou-se que tanto o comprimento, quanto a largura, se mostrou diversa. O meio MEA favoreceu em média, maior comprimento dos conídios.

**TABELA 4 - Dimensões de conídios de isolados de *Phaeomoniella chlamydospora*, por estado, crescidos em meios de cultura MEA e SNA.**

Isolados	MEA - µM				Estado	MEA - µM				SNA - µM				Estado	SNA - µM			
	Comp.		Largura			Comprimento		Largura		Comprimento		Largura			Comprimento		Largura	
IBVDMT01	3,40 (3,0 - 4,3)**	bcdef <sup>1</sup>	1,41 (1,1 - 1,9)	fghijklmno <sup>1</sup>	Mato Grosso	3,40 (3,0 - 4,3)	a <sup>1</sup> B <sup>2</sup>	1,41 (1,1 - 1,9)**	c β	2,79 (2,0 - 3,8)	abcdef <sup>1</sup>	0,84 (0,6 - 1,1)	abc <sup>1</sup>	Mato Grosso	2,79 (2,0 - 3,8)	a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	0,84 (0,6 - 1,1)	a α
IBVDMG01	3,64 (2,0 - 5,2)	bcdef	1,23 (0,8 - 1,8)	abcdefghijkl	Minas Gerais	3,64 (2,0 - 5,3)	a B	1,23 (0,8 - 1,8)	ab β	2,45 (2,0 - 3,8)	cdefghijkl	0,82 (0,7 - 1,1)	abcde	Minas Gerais	2,45 (2,0 - 3,8)	b A	0,82 (0,7 - 1,1)	a α
IBVDSC01	3,39 (2,6 - 4,2)	bcde	1,13 (0,8 - 1,4)	abcdef	Santa Catarina	3,50 (2,1 - 11,5)	a B	1,29 (0,6 - 4,4)	abc β	2,40 (1,8 - 3,1)	abcdef	0,88 (0,7 - 1,2)	abcdef	Santa Catarina	2,77 (1,6 - 5,1)	b A	0,96 (0,5 - 1,8)	b α
IBVDSC02	3,66 (2,9 - 5,7)	bcdef	1,42 (1,0 - 2,8)	ghijklmno						2,94 (1,9 - 4,0)	fghijklmno	0,88 (0,7 - 1,3)	abcdef					
IBVDSC03	3,50 (2,2 - 5,1)	bcdef	1,17 (0,6 - 1,5)	abcdefghi						2,80 (2,1 - 4,3)	defghijkl	0,97 (0,8 - 1,4)	bcdefghij					
IBVDSC04	4,14 (2,3 - 11,5)	f	1,84 (1,2 - 4,4)	p						2,67 (1,6 - 3,9)	abcdefghijkl	1,02 (0,8 - 1,6)	efghijkl					
IBVDSC05	3,19 (2,6 - 4,3)	abcde	1,13 (0,7 - 1,5)	abcde						2,58 (1,8 - 4,3)	abcdefghij	0,86 (0,5 - 1,2)	abcdef					
IBVDSC06	3,23 (2,3 - 5,2)	abcde	1,15 (0,8 - 1,8)	abcdefg						2,36 (1,8 - 3,2)	abcde	0,81 (0,5 - 1,3)	ab					
IBVDSC07	3,57 (2,5 - 5,0)	bcdef	1,30 (0,9 - 1,7)	bcdefghijkl						3,07 (2,1 - 5,1)	hijklmnopq	1,13 (0,7 - 1,7)	ijklmnop					
IBVDSC08	3,63 (2,7 - 5,5)	bcdef	1,21 (1,0 - 1,9)	abcdefghijkl						3,36 (2,0 - 4,4)	nopqrs	1,25 (0,8 - 1,8)	nopqrs					
IBVDSC09	3,36 (2,1 - 4,5)	bcde	1,19 (0,9 - 2,3)	abcdefghi						2,65 (1,7 - 3,5)	abcdefghijk	0,86 (0,6 - 1,2)	abcdef					
IBVDSC10	3,30 (2,6 - 4,4)	bcde	1,17 (0,9 - 1,5)	abcdefghi						2,74 (2,1 - 3,8)	bcdefghijkl	0,99 (0,7 - 1,6)	cdefghijk					

IBVDSC11	3,47 (2,6 - 4,4)	bcde	1,41 (1,0 - 1,7)	ghijklmno						2,87 (1,8 - 5,0)	efghijklmn	0,89 (1,6 - 1,3)	abcdefg						
IBVDSC12	3,61 (2,3 - 5,0)	bcdef	1,40 (1,1 - 1,8)	efghijklmno						2,82 (2,0 - 3,9)	defghijklm	1,03 (0,7 - 1,5)	fghijkl						
IBVDPR01	3,14 (2,3 - 4,3)	abcd	1,24 (0,8 - 1,7)	abcdefghijkl						3,35 (2,1 - 6,4)	mnopqrs	1,32 (1,0 - 2,0)	qrstuv						
IBVDPR02	3,73 (2,9 - 4,8)	def	1,39 (1,0 - 1,8)	efghijklmn						3,49 (2,7 - 4,8)	pqrs	1,44 (1,0 - 2,0)	tuv						
IBVDPR03	3,14 (2,3 - 4,3)	abcd	1,24 (0,8 - 1,7)	abcdefghijkl						3,14 (2,3 - 4,3)	klmnopqrs	1,25 (0,8 - 1,7)	nopqrs						
IBVDPR04	3,57 (2,6 - 5,5)	bcdef	1,53 (1,0 - 2,3)	klmno						3,10 (2,3 - 4,3)	jklmnopqr	1,15 (0,9 - 1,5)	klmnopq						
IBVDPR05	3,60 (2,6 - 4,9)	bcdef	1,28 (0,9 - 1,6)	bcdefghijk						2,83 (1,8 - 4,2)	defghijklmn	1,07 (0,8 - 1,4)	ghijklmn						
IBVDPR06	3,34 (2,5 - 4,5)	bcde	1,17 (0,8 - 1,6)	abcdefghijkl	Paraná	3,45 (2,3 - 5,7)	a B	1,36 (0,8 - 2,6)	c β	2,99 (2,0 - 4,6)	ghijklmnop	1,15 (0,7 - 1,6)	jklmnopq	Paraná	3,31 (1,8 - 6,4)	c A	1,29 (0,7 - 2,0)	d α	
IBVDPR07	3,93 (2,6 - 5,3)	ef	1,58 (0,9 - 2,5)	mnop						3,56 (2,6 - 4,9)	qrs	1,43 (1,1 - 1,9)	stuv						
IBVDPR08	3,54 (2,4 - 5,7)	bcdef	1,41 (1,0 - 2,1)	ghijklmno						3,18 (2,2 - 4,5)	lmnopqrs	1,22 (0,9 - 1,5)	mnopqr						
IBVDPR09	3,69 (2,3 - 5,0)	bcdef	1,46 (1,1 - 2,6)	jklmno						3,51 (2,6 - 4,1)	pqrs	1,50 (1,1 - 1,9)	v						
IBVDPR10	3,27 (2,4 - 4,5)	abcde	1,43 (1,1 - 1,9)	hijklmno						3,63 (2,0 - 4,7)	rs	1,39 (0,9 - 1,7)	rstuv						
IBVDPR11	3,06 (2,3 - 4,4)	ab	1,30 (0,9 - 1,8)	bcdefghijkl						3,67 (2,5 - 5,6)	s	1,30 (1,0 - 1,7)	pqrstu						
IBVDSP01	3,54 (2,1 - 4,7)	bcdef	1,27 (0,9 - 1,8)	abcdefghijkl						2,19 (1,6 - 3,6)	a	0,87 (0,8 - 1,1)	abcdef						
IBVDSP02	3,41 (2,1 - 5,3)	bcde	1,37 (1,0 - 2,3)	efghijklmn	São Paulo	3,41 (2,1 - 6,1)	a B	1,20 (0,6 - 2,3)	a β	2,49 (2,0 - 3,2)	abcdefg	0,82 (0,6 - 1,0)	abcd	São Paulo	2,37 (1,4 - 3,6)	a A	0,83 (0,5 - 1,4)	a α	
IBVDSP03	3,59 (2,1 - 5,2)	bcdef	1,19 (0,7 - 2,0)	abcdefghijkl						2,55 (1,9 - 3,5)	abcdefghi	0,79 (0,6 - 1,3)	ab						

IBVDSP05	3,12 (2,2 - 4,2)	abcd	1,10 (0,6 - 1,7)	abcd					2,25 (1,6 - 3,2)	ab	0,81 (0,5 - 1,1)	ab						
IBVDSP06	3,56 (2,3 - 6,1)	bcdef	1,28 (0,8 - 1,8)	bcdefghijkl					2,33 (1,7 - 3,4)	abcd	0,94 (0,6 - 1,4)	bcdefgh						
IBVDSP07	3,25 (2,4 - 4,2)	abcde	1,08 (0,8 - 1,4)	ab					2,56 (1,9 - 3,6)	abcdefghi	0,74 (0,6 - 1,0)	a						
IBVDSP08	3,39 (2,6 - 4,4)	bcde	1,15 (0,8 - 1,4)	abcdefg					2,26 (1,4 - 3,1)	abc	0,82 (0,6 - 1,1)	abc						
IBVDPE03	3,54 (2,4 - 4,7)	bcdef	1,25 (1,0 - 1,7)	abcdefghij					2,78 (1,9 - 4,1)	cdefghijkl	1,14 (0,8 - 1,5)	klmnopq						
IBVDPE04	3,33 (2,5 - 4,8)	bcde	1,36 (0,8 - 2,3)	cdefghijklmn					3,07 (2,4 - 3,9)	hijklmnopq	1,26 (0,9 - 1,8)	nopqrst						
IBVDPE05	3,56 (2,7 - 4,2)	bcdef	1,62 (1,3 - 2,1)	nop					2,80 (1,8 - 5,3)	cdefghijkl	1,16 (0,8 - 2,0)	klmnopq						
IBVDPE06	3,45 (2,0 - 6,5)	bcde	1,35 (0,8 - 2,2)	bcdefghijklm					3,10 (2,0 - 4,6)	klmnopqr	1,19 (0,7 - 1,6)	lmnopq						
IBVDPE07	3,20 (2,5 - 4,5)	abcde	1,40 (1,2 - 2,1)	fghijklmno					2,45 (1,9 - 3,2)	abcdef	1,13 (0,8 - 1,6)	ijklmnop						
IBVDPE08	3,19 (2,2 - 5,0)	abcde	1,31 (1,0 - 3,6)	bcdefghijklm	Pernambuco	3,38 (2,0 - 6,5)	a B	1,35 (0,7 - 3,6)	c β	3,15 (2,4 - 4,4)	klmnopqrs	1,47 (1,0 - 2,1)	uv	Pernambuco	2,86 (1,8 - 5,3)	b A	1,21 (0,6 - 2,1)	cd α
IBVDPE09	3,28 (2,2 - 4,9)	abcde	1,00 (0,7 - 1,5)	a					2,55 (2,0 - 3,3)	abcdefgh	1,00 (0,6 - 1,5)	defghijk						
IBVDPE10	3,09 (2,5 - 3,8)	abc	1,30 (1,1 - 1,7)	bcdefghijkl					2,57 (2,0 - 3,8)	abcdefghi	1,02 (0,8 - 1,3)	efghijkl						
IBVDPE11	3,21 (2,3 - 4,4)	abcde	1,26 (0,9 - 1,6)	abcdefghij					2,89 (2,2 - 4,7)	fghijklmno	1,31 (1,0 - 1,7)	pqrstu						
IBVDPE13	3,79 (2,9 - 4,7)	ef	1,55 (1,3 - 2,0)	lmno					3,51 (2,7 - 4,7)	pqrs	1,44 (1,2 - 1,7)	tuv						
IBVDPE15	3,55 (2,5 - 4,7)	bcdef	1,27 (1,0 - 1,6)	abcdefghijk					3,12 (2,5 - 3,7)	klmnopqr	1,31 (1,0 - 1,7)	pqrstu						

IBVDPE16	3,14 (2,1 - 4,4)	abcd	1,31 (1,0 - 1,8)	bcdefghijkl						2,75 (1,9 - 3,5)	bcdefghijkl	1,22 (0,8 - 1,6)	mnopqr					
IBVDPE17	3,23 (2,4 - 4,9)	abcde	1,35 (0,9 - 1,7)	bcdefghijklm						2,75 (1,9 - 3,7)	bcdefghijkl	1,21 (0,9 - 1,5)	lmnopqr					
IBVDPE18	3,42 (2,6 - 4,4)	bcde	1,28 (1,0 - 1,6)	bcdefghijk						2,75 (2,0 - 3,9)	bcdefghijkl	1,10 (0,9 - 1,4)	hijklmno					
IBVDPE19	3,71 (2,4 - 5,7)	cdef	1,67 (1,0 - 2,7)	op						2,66 (2,0 - 4,4)	abcdefghijklmnop	1,15 (0,7 - 1,8)	jklmnopq					
IBVDRS01	3,79 (2,5 - 5,1)	ef	1,43 (0,9 - 1,9)	hijklmno						3,41 (2,4 - 5,1)	opqrs	1,41 (1,1 - 1,9)	stuv					
IBVDRS02	3,56 (2,5 - 4,9)	bcdef	1,39 (1,1 - 1,9)	efghijklmn						2,90 (1,8 - 4,3)	efghijklmno	1,24 (0,9 - 1,6)	nopqrs					
IBVDRS03	3,39 (2,5 - 4,4)	bcde	1,24 (1,0 - 1,6)	abcdefghijklmnop						2,55 (2,0 - 3,7)	abcdefghijklmnop	1,08 (0,8 - 1,5)	efghijklm					
IBVDRS04	3,38 (2,3 - 5,1)	bcde	1,44 (1,1 - 2,3)	ijklmno						3,08 (2,1 - 4,6)	ijklmnopq	1,27 (1,0 - 1,7)	opqrst					
IBVDRS05	2,64 (2,1 - 3,9)	a	1,09 (0,9 - 1,4)	abc	Rio Grande do Sul	3,41 (2,1 - 5,4)	a B	1,33 (0,9 - 2,3)	bc β	2,65 (1,7 - 4,3)	abcdefghijklmnop	1,08 (0,8 - 1,5)	hijklmn	Rio Grande do Sul	2,83 (1,7 - 5,1)	b A	1,16 (0,6 - 1,9)	c α
IBVDRS07	3,44 (2,6 - 4,7)	bcde	1,35 (1,0 - 2,0)	bcdefghijklmn						3,41 (2,1 - 5,1)	opqrs	1,42 (0,9 - 1,9)	stuv					
IBVDRS08	3,26 (2,4 - 4,4)	abcde	1,36 (0,9 - 1,7)	cdefghijklmn						2,67 (1,8 - 4,0)	abcdefghijklmnop	1,17 (0,9 - 1,6)	klmnopq					
IBVDRS09	3,29 (2,4 - 4,6)	abcde	1,28 (1,1 - 1,8)	bcdefghijkl						2,43 (2,0 - 2,9)	abcdef	0,95 (0,7 - 1,2)	bcdefghi					
IBVDRS10	3,69 (2,6 - 4,7)	bcdef	1,35 (0,9 - 1,8)	cdefghijklmn						2,19 (1,8 - 2,7)	a	0,84 (0,6 - 1,0)	abcde					
IBVDRS13	3,73 (2,5 - 5,4)	cdef	1,37 (1,0 - 2,0)	defghijklmn						2,99 (2,3 - 3,9)	ghijklmnop	1,18 (1,0 - 1,3)	klmnopq					
População brasileira			3,45 (2,0 - 11,5)	1,31 (0,6 - 4,4)						População brasileira		2,86 (1,4 - 6,4)	1,11 (0,5 - 2,1)					

\* Média 30 confídios medidos por isolado; Média e valores mínimo e máximo;<sup>1</sup>Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Tukey com P<0,05; <sup>2</sup>Letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si, segundo o teste de Tukey com P<0,05. As letras normais comparam comprimento entre os meios, enquanto que as letras gregas comparam larguras entre os meios.

Crous e Gams (2000) ao denominarem a espécie *P. chlamydospora* pela primeira vez, caracterizaram o fungo no meio MEA e constataram que as dimensões de seus conídios neste meio foram de 2,0-2,5 x 1,0-1,5 µm. Neste mesmo meio de cultura, os conídios dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* apresentaram dimensões de 3,45 x 1,31 µm, ou seja, dimensões maiores que as observadas por Crous e Gams (2000). No meio SNA, os conídios dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* apresentaram dimensões de 2,86 x 1,11 µm, ou seja, dimensões mais próximas daquelas relatadas por Crous e Gams (2000).

No presente estudo (TABELA 4), os conídios dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* apresentaram forma oblongo-elipsoidal para oval, em ambos os meios. Essa forma foi a mesma observada nos estudos de Crous e Gams (2000) para os conídios de *P. chlamydospora*.

#### **4.4.2 Conidióforo de *Phaeomoniella* sp.**

Quanto à caracterização morfológica do conidióforo dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora*, nos dois diferentes meios de cultura testados, pode-se fazer as seguintes constatações (TABELA 5):

- a) Meio MEA.** O comprimento do conidióforo dos isolados foi significativamente diverso. O maior comprimento foi observado no isolado IBVPR09 (média de 30,45 µm). O menor comprimento médio foi observado nos seguintes isolados: IBVDMT01 (11,20 µm), IBVDSC07 (11,25 µm), IBVDPE09 (11,69 µm), IBVDPE10 (11,15 µm), IBVDRS10 (11,55 µm), IBVDSP03 (10,82 µm), IBVDSP05 (11,51 µm) e IBVDSP06 (10,72 µm). A largura do conidióforo dos isolados foi também altamente diversificada entre eles. A maior largura observada foi a do isolado IBVDPE05 (média de 3,25 µm) e a menor do isolado IBVDPR08 (1,35 µm). Por Estado, Paraná demonstrou o maior comprimento, e o menor foi observado em Mato Grosso. A largura do conidióforo dos isolados não apresentou diferença significativa quando comparada entre os Estados. A média do comprimento e da largura do

conidióforo da população de *P. chlamydospora* no meio MEA foi de 15,71 x 2,05  $\mu\text{m}$ .

- b) Meio SNA. O isolado com comprimento significativamente maior foi o IBVDPR05 com 29,54  $\mu\text{m}$ . Vinte isolados demonstraram menor taxa de crescimento, ficando entre 11,47  $\mu\text{m}$  (IBVDPE06) e 16,09  $\mu\text{m}$  (IBVDSP07). Por Estado, o comprimento do conidióforo dos isolados no meio SNA não apresentou diferença. A largura do conidióforo dos isolados apresentou diferença significativa. A maior largura média foi observada no isolado IBVDPE13 (2,87  $\mu\text{m}$ ) e a menor no isolado IBVDPR04 (1,22  $\mu\text{m}$ ). Por Estado, não se observaram diferenças quanto à largura. A média do comprimento e da largura do conidióforo da população de *P. chlamydospora* no meio SNA foi de 17,40 x 2,13  $\mu\text{m}$ .
- c) Observando-se as dimensões do conidióforo entre os meios, constatou-se que houve diferenças tanto no comprimento quanto na largura. O comprimento do conidióforo foi maior nos isolados dos Estados do Paraná e São Paulo, destacando-se maior comprimento sempre para o meio SNA. A largura do conidióforo foi maior nos isolados dos Estados do Rio Grande do Sul e Pernambuco quando crescidas no meio SNA, os demais estados não obtiveram diferença significativa entre os meios de cultura, quando correspondente à largura. Diferentemente do conídio, o meio SNA favoreceu sempre maior comprimento e largura do conidióforo.

**TABELA 5 - Dimensões de conidióforos de isolados de *Phaeoconiella chlamydospora*, por estado, crescidos em meios de cultura MEA e SNA.**

Isolados	MEA - µM				Estado	MEA - µM				SNA - µM				Estado	SNA - µM			
	Comprimento		Largura			Comprimento		Largura		Comprimento		Largura			Comprimento		Largura	
IBVDMT01	11,20 (2,5 - 22,4)**	a <sup>1</sup>	1,88 (1,0 - 3,2)	abc <sup>1</sup>	Mato Grosso	11,20 (2,5 - 22,4)	a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	1,88 (1,0 - 3,2)	a <sup>1</sup> α <sup>2</sup>	16,93 (10,4 - 25,9)	ab	1,93 (1,2 - 2,7)	abcdefgh	Mato Grosso	16,93 (10,4 - 25,9)	a A	1,93 (1,2 - 2,7)	a α
IBVDMG01	13,23 (4,0 - 22,6)	abc	1,86 (1,2 - 2,8)	abc	Minas Gerais	13,23 (4,0 - 22,6)	ab A	1,86 (1,2 - 2,8)	a α	15,77 (6,7 - 22,0)	a	1,92 (1,5 - 2,6)	abcdefgh	Minas Gerais	15,77 (6,7 - 22,0)	a A	1,92 (1,5 - 2,6)	a α
IBVDSC01	14,14 (7,4 - 23,1)	abc	1,78 (1,1 - 2,3)	ab	Santa Catarina	16,50 (3,1 - 59,3)	ab A	2,21 (0,8 - 7,7)	a α	17,70 (10,3 - 24,4)	ab	1,85 (1,4 - 3,2)	abcdefg	Santa Catarina	17,37 (5,3 - 35,6)	a A	2,13 (0,8 - 4,9)	a α
IBVDSC02	21,03 (14,9 - 27,5)	abcd	2,92 (2,0 - 4,8)	cd						15,65 (12,8 - 19,2)	a	2,01 (1,6 - 2,9)	abcdefghi					
IBVDSC03	13,20 (4,8 - 25,1)	abc	1,82 (1,0 - 2,8)	abc						21,55 (13,5 - 35,6)	ab	2,51 (1,8 - 4,9)	defghi					
IBVDSC04	26,50 (8,6 - 59,3)	cd	2,36 (0,9 - 4,2)	abcd						16,38 (8,9 - 24,1)	ab	2,27 (1,4 - 3,3)	bcdefghi					
IBVDSC05	13,78 (3,1 - 26,2)	abc	1,73 (1,0 - 2,6)	ab						14,98 (6,9 - 22,4)	a	2,35 (1,7 - 3,3)	bcdefghi					
IBVDSC06	16,08 (5,2 - 22,7)	abc	2,40 (1,4 - 3,0)	abcd						18,47 (7,5 - 29,6)	ab	2,24 (1,1 - 3,1)	bcdefghi					
IBVDSC07	11,25 (6,6 - 16,4)	a	2,37 (1,5 - 7,7)	abcd						17,75 (7,5 - 34,4)	ab	2,19 (1,7 - 2,8)	bcdefghi					
IBVDSC08	16,16 (5,3 - 24,2)	abc	2,12 (1,2 - 3,2)	abc						15,73 (10,3 - 20,3)	a	2,05 (1,6 - 2,6)	abcdefghi					
IBVDSC09	19,12 (9,8 - 33,0)	abcd	2,29 (1,8 - 3,5)	abcd						13,79 (5,3 - 26,6)	a	1,65 (0,8 - 2,7)	abcd					
IBVDSC10	17,53 (6,2 - 36,4)	abcd	2,38 (0,8 - 3,6)	abcd						19,83 (9,4 - 35,3)	ab	2,11 (1,7 - 2,9)	bcdefghi					

IBVDSC11	16,18 (11,8 - 26,8)	abc	2,29 (1,4 - 3,5)	abcd						18,64 (10,5 - 26,0)	ab	2,19 (1,6 - 2,9)	bcdefghi						
IBVDSC12	13,06 (6,1 - 17,9)	abc	2,08 (1,3 - 2,8)	abc						17,90 (8,8 - 22,5)	ab	2,11 (1,7 - 2,5)	bcdefghi						
IBVDPR01	17,47 (7,9 - 24,2)	abcd	1,97 (1,6 - 2,8)	abc						17,33 (4,6 - 41,0)	ab	1,98 (1,3 - 3,3)	abcdefg						
IBVDPR02	13,19 (4,6 - 23,6)	abc	2,13 (1,1 - 3,6)	abcd						18,24 (9,7 - 29,3)	ab	1,98 (1,5 - 3,1)	abcdefg						
IBVDPR03	13,19 (5,6 - 22,3)	abc	1,58 (1,2 - 2,2)	ab						20,82 (12,3 - 26,3)	ab	2,64 (1,8 - 3,2)	ghi						
IBVDPR04	19,68 (7,1 - 40,5)	abcd	2,26 (1,6 - 3,6)	abcd						18,81 (2,9 - 38,3)	ab	1,22 (0,7 - 2,0)	a						
IBVDPR05	17,61 (4,3 - 39,4)	abcd	2,03 (1,3 - 3,1)	abc						29,54 (8,6 - 52,5)	b	1,67 (1,1 - 2,4)	abcde						
IBVDPR06	18,72 (12,2 - 26,7)	abcd	1,69 (1,5 - 2,0)	ab	Paraná	17,54 (4,1 - 57,6)	b A	1,99 (0,7 - 7,1)	a α	15,60 (11,5 - 20,3)	a	2,03 (1,5 - 2,6)	abcdefghi	Paraná	20,19 (2,9 - 73,3)	a B	2,05 (0,7 - 3,4)	a α	
IBVDPR07	17,93 (7,2 - 46,2)	abcd	2,48 (1,7 - 7,1)	bcd						21,65 (4,7 - 57,6)	ab	1,97 (1,4 - 2,6)	abcdefg						
IBVDPR08	12,62 (4,1 - 24,9)	ab	1,35 (0,7 - 1,9)	a						18,37 (13,2 - 32,0)	ab	2,45 (1,8 - 2,9)	cdefghi						
IBVDPR09	30,45 (12,2 - 57,6)	d	2,23 (1,8 - 3,3)	abcd						21,96 (4,0 - 41,0)	ab	2,28 (1,5 - 3,0)	bcdefghi						
IBVDPR10	16,69 (5,9 - 28,5)	abcd	2,01 (1,4 - 2,7)	abc						22,36 (4,0 - 73,3)	ab	2,28 (1,8 - 2,9)	bcdefghi						
IBVDPR11	15,35 (6,5 - 27,8)	abc	2,15 (1,2 - 3,3)	abcd						17,43 (8,2 - 42,6)	ab	2,08 (1,5 - 3,4)	bcdefghi						
IBVDSP01	17,27 (5,5 - 30,2)	abcd	2,08 (1,3 - 3,4)	abc	São Paulo	13,16 (2,0 - 33,9)	ab A	1,90 (1,1 - 3,4)	a α	15,68 (9,4 - 22,1)	a	2,13 (1,5 - 2,9)	bcdefghi	São Paulo	15,82 (3,2 - 30,5)	a B	1,90 (1,0 - 2,9)	a α	
IBVDSP02	12,86 (4,2 - 24,6)	abc	1,81 (1,2 - 2,5)	abc						17,31 (7,7 - 30,5)	ab	1,71 (1,1 - 2,6)	abcdef						

IBVDSP03	10,82 (2,0 - 19,4)	a	1,81 (1,2 - 2,7)	abc						14,40 (9,2 - 21,4)	a	2,24 (41,8 - 2,8)	bcdefghi				
IBVDSP05	11,51 (4,5 - 33,9)	a	1,78 (1,1 - 2,3)	ab						16,84 (7,7 - 30,4)	ab	1,97 (1,3 - 2,8)	abcdefg				
IBVDSP06	10,72 (2,3 - 33,8)	a	1,89 (1,3 - 2,7)	abc						16,58 (7,7 - 26,0)	ab	1,89 (1,5 - 2,7)	abcdefg				
IBVDSP07	15,49 (4,7 - 30,9)	abc	1,90 (1,2 - 3,1)	abc						16,09 (6,3 - 25,2)	a	1,71 (1,1 - 2,3)	abcdef				
IBVDSP08	13,45 (8,9 - 18,2)	abc	2,02 (1,4 - 2,7)	abc						13,83 (3,23 - 25,06)	a	1,64 (1,0 - 2,3)	abc				
IBVDPE03	17,25 (6,7 - 56,8)	abcd	2,06 (1,5 - 3,0)	abc						20,66 (4,39 - 30,50)	ab	2,09 (1,7 - 2,6)	bcdefghi				
IBVDPE04	14,44 (10,0 - 22,1)	abc	2,00 (1,2 - 2,6)	abc						19,25 (12,9 - 23,4)	ab	2,54 (1,6 - 3,7)	fghi				
IBVDPE05	25,96 (15,5 - 43,5)	bcd	3,25 (2,0 - 5,3)	d						14,28 (7,0 - 21,2)	a	2,34 (1,4 - 3,2)	bcdefghi				
IBVDPE06	17,72 (4,6 - 38,1)	abcd	1,91 (1,2 - 2,7)	abc						11,47 (4,3 - 23,5)	a	1,54 (1,0 - 2,3)	ab				
IBVDPE07	18,21 (5,9 - 33,1)	abcd	2,57 (1,6 - 4,3)	bcd	Pernambuco	16,18 (3,4 - 56,7)	ab A	2,16 (1,0 - 5,3)	a α	18,55 (11,0 - 27,2)	ab	2,72 (2,2 - 3,6)	hi				
IBVDPE08	16,01 (6,1 - 31,1)	abc	2,43 (1,7 - 3,3)	abcd						13,66 (7,8 - 21,1)	a	2,18 (1,7 - 3,4)	bcdefghi	17,04 (4,2 - 39,5)	a A	2,30 (1,0 - 4,2)	a β
IBVDPE09	11,69 (4,4 - 20,9)	a	1,82 (1,0 - 2,8)	abc						18,64 (10,3 - 30,1)	ab	1,68 (1,9 - 3,7)	ghi				
IBVDPE10	11,15 (6,2 - 17,8)	a	1,72 (1,3 - 2,1)	ab						17,19 (8,1 - 24,5)	ab	2,21 (1,3 - 3,5)	bcdefghi				
IBVDPE11	16,23 (10,8 - 21,4)	abc	2,11 (1,8 - 2,7)	abc						21,84 (14,6 - 31,6)	ab	2,53 (1,9 - 3,2)	efghi				
IBVDPE13	18,74 (8,9 - 32,4)	abcd	2,67 (2,0 - 3,5)	bcd						16,92 (4,5 - 39,5)	ab	2,87 (1,5 - 4,2)	i				

IBVDPE15	15,16 (3,4 - 26,5)	abc	1,69 (1,3 - 2,3)	ab					13,55 (7,9 - 31,4)	a	1,68 (1,0 - 2,6)	abcdef				
IBVDPE16	15,13 (5,0 - 25,0)	abc	2,09 (1,4 - 3,2)	abc					18,13 (7,5 - 28,9)	ab	2,49 (2,0 - 3,4)	cdefghi				
IBVDPE17	13,16 (7,4 - 19,5)	abc	1,93 (1,4 - 2,9)	abc					16,39 (13,6 - 21,3)	ab	2,07 (1,7 - 2,7)	abcdefghi				
IBVDPE18	16,35 (11,6 - 21,9)	abc	2,05 (1,7 - 2,3)	abc					16,64 (12,3 - 25,2)	ab	2,37 (1,8 - 3,4)	bcdefghi				
IBVDPE19	15,61 (7,8 - 22,7)	abc	2,02 (1,5 - 3,3)	abc					18,48 (12,1 - 27,3)	ab	2,20 (1,7 - 3,3)	bcdefghi				
IBVDRS01	13,17 (5,8 - 26,2)	abc	1,70 (1,3 - 2,2)	ab					15,33 (11,8 - 22,4)	a	1,94 (1,5 - 2,6)	abcdefgh				
IBVDRS02	12,23 (4,3 - 19,2)	ab	1,60 (0,9 - 2,5)	ab					20,33 (15,3 - 31,1)	ab	2,40 (1,7 - 3,4)	cdefghi				
IBVDRS03	14,26 (6,6 - 22,2)	abc	2,16 (1,6 - 2,8)	abcd					16,38 (13,6 - 23,6)	ab	2,22 (1,9 - 2,5)	bcdefghi				
IBVDRS04	13,13 (6,0 - 30,5)	abc	1,73 (1,2 - 2,4)	ab					14,47 (6,7 - 20,2)	a	2,22 (1,6 - 3,0)	bcdefghi				
IBVDRS05	18,57 (8,8 - 33,9)	abcd	1,80 (1,3 - 2,3)	abc					14,39 (9,5 - 31,6)	a	2,08 (1,3 - 3,1)	bcdefghi				
IBVDRS07	14,17 (4,0 - 36,4)	abc	1,77 (1,1 - 2,4)	ab					15,59 (7,7 - 25,5)	a	1,66 (1,2 - 2,1)	abcd				
IBVDRS08	16,08 (5,2 - 30,7)	abc	2,24 (1,6 - 2,9)	abcd					18,20 (13,2 - 29,9)	ab	2,48 (1,8 - 3,4)	cdefghi				
IBVDRS09	12,84 (6,3 - 22,1)	abc	1,99 (1,5 - 2,7)	abc					13,67 (7,8 - 21,5)	a	2,04 (1,4 - 2,7)	abcdefghi				
IBVDRS10	11,55 (6,0 - 21,2)	a	1,75 (1,4 - 2,1)	ab					17,26 (13,4 - 23,1)	ab	2,53 (1,6 - 3,0)	efghi				
IBVDRS13	19,32 (10,2 - 41,2)	abcd	2,35 (1,9 - 3,5)	abcd					15,29 (6,4 - 23,3)	a	2,11 (1,8 - 2,6)	bcdefghi				
População brasileira					15,71 (2,0 - 59,3)	2,05 (0,7 - 7,7)	População brasileira					17,4 (2,9 - 73,3)	2,13 (0,7 - 4,9)			

\* Média de 10 medições por isolado; \*\* Média e valores mínimo e máximo; <sup>1</sup> Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Tukey com  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup> Letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si, segundo o teste de Tukey com  $P < 0,05$ . As letras normais comparam comprimento entre os meios, enquanto que as letras gregas comparam larguras entre os meios.

As dimensões do conidióforo apresentadas por Crous e Gams (2000) ao caracterizarem a espécie *P. chlamydospora* em meio MEA foram de 12-70  $\mu\text{m}$  de altura e 1,5 - 4,0  $\mu\text{m}$  de largura. Neste mesmo meio, o conidióforo dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* apresentou as seguintes dimensões: 15,71 (2,0-59,3)  $\mu\text{m}$  de altura por 2,05 (0,7-7,7)  $\mu\text{m}$  de largura.

No meio SNA, o conidióforo dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* apresentaram as seguintes dimensões: 17,4 (2,9-73,3)  $\mu\text{m}$  de altura por 2,13 (0,7-4,9)  $\mu\text{m}$  de largura, sendo o meio que propiciou maior crescimento dentre os conidióforos. Portanto, o meio SNA exibiu dimensões de conidióforo mais semelhantes aos valores descritos por Crous e Gams (2000), apesar destes autores caracterizarem o fungo no meio MEA. Além disso, os conídios dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora*, quando desenvolvidos no meio SNA, também apresentaram dimensões mais próximas das observadas por Crous e Gams (2000).

Os conidióforos do presente estudo mostraram características semelhantes às descritas por Crous e Gams (2000), como serem eretos, simples e cilíndricos.

#### **4.4.3 Clamidósporos de *Phaeomoniella* sp.**

Quanto à caracterização morfológica dos clamidósporos dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* nos dois meios de cultura testados, pode-se fazer as seguintes constatações (TABELA 6):

- a) Meio MEA. O comprimento do clamidósporo dos isolados foi altamente diverso entre eles. O maior comprimento médio observado foi para o isolado IBVDRS05 (10,42  $\mu\text{m}$ ) e o menor para o isolado IBVDSP08 (3,36  $\mu\text{m}$ ). A largura do clamidósporo dos isolados apresentou diferenças significativas entre eles. A maior largura média observada foi para os isolados IBVDSC11 (6,79  $\mu\text{m}$ ) e IBVDRS05 (6,79  $\mu\text{m}$ ) e a menor do isolado IBVDSP08 (3,02  $\mu\text{m}$ ). Por Estado, tanto o comprimento quanto a largura do clamidósporo dos isolados no meio

MEA apresentaram diferenças. O comprimento e a largura do clamidósporo foram menores no estado do Mato Grosso. Os maiores comprimentos foram apontados nos isolados dos Estados de Pernambuco e do Rio Grande do Sul. Quanto as maiores larguras, estas foram vistas nos Estados de Pernambuco, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. A média do comprimento e da largura do clamidósporo da população de *P. chlamydospora* no meio MEA foi de 6,07 x 4,51  $\mu\text{m}$ .

- b) Meio SNA. O comprimento do clamidósporo dos isolados apresentou diferenças entre eles. O maior comprimento médio do clamidósporo observado foi para o isolado IBVDPE03 (10,58  $\mu\text{m}$ ) e o menor para os isolados IBVDSP01 (2,81  $\mu\text{m}$ ) e IBVDSC12 (2,84  $\mu\text{m}$ ). A largura do clamidósporo dos isolados também mostrou significativo grau de diferença entre eles. A maior largura média observada foi para o isolado IBVDPE03 (6,26  $\mu\text{m}$ ) e a menor para os isolados IBVDSP01 (2,56  $\mu\text{m}$ ) e IBVDSC01 (2,68  $\mu\text{m}$ ). Por Estado, houve maior comprimento nos isolados de Pernambuco com 5,60  $\mu\text{m}$ , Rio Grande do Sul com 4,37  $\mu\text{m}$  e Mato Grosso com 4,16  $\mu\text{m}$ . O Estado que demonstrou maior crescimento estatisticamente na largura foi Pernambuco com 4,21  $\mu\text{m}$ . A média do comprimento e da largura do clamidósporo da população de *P. chlamydospora* no meio SNA foi de 4,21 x 3,56  $\mu\text{m}$ .
- c) Observando-se as dimensões do clamidósporo entre os meios, constatou-se que houve diferenças, tanto no comprimento, quanto na largura. O comprimento do clamidósporo foi maior nos isolados dos Estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Pernambuco e Rio Grande do Sul, destacando-se maior comprimento para o meio MEA. A largura do clamidósporo foi maior nos isolados dos Estados de Santa Catarina, Paraná, Pernambuco e Rio Grande do Sul, destacando-se maior largura para o meio MEA. Diferentemente do conidióforo, o meio MEA favoreceu maiores dimensões para os conídios e clamidósporos.

**TABELA 6 - Dimensões de clamidósporos de diferentes isolados de *Phaeomoniella chlamydospora*, por estado, crescidos em dois diferentes meios de cultura.**

Isolados	MEA - µm				Estado	MEA - µm				SNA - µm				Estado	SNA - µm			
	Comprimento		Largura			Comprimento		Largura		Comprimento		Largura			Comprimento		Largura	
IBVDMT01	4,16 (3,4 - 4,8)**	abc <sup>1</sup>	3,24 (2,4 - 4,2)	ab <sup>1</sup>	Mato Grosso	4,16 (3,4 - 4,8)	a <sup>1</sup> A <sup>2</sup>	3,24 (2,4 - 4,2)	a <sup>1</sup> α <sup>2</sup>	4,16 (3,4 - 4,8)	abcdef	3,24 (2,4 - 4,2)	abcde	Mato Grosso	4,16 (3,4 - 4,8)	ab A	3,24 (2,4 - 4,2)	a α
IBVDMG01	4,72 (2,3 - 11,2)	abcde	3,58 (2 - 7,0)	abcde	Minas Gerais	4,72 (2,3 - 11,2)	abc A	3,58 (2,0 - 7,0)	ab α	3,58 (2,4 - 5,2)	abcde	3,35 (2,6 - 4,1)	abcdef	Minas Gerais	3,58 (2,4 - 5,2)	a A	3,35 (2,6 - 4,1)	a α
IBVDSC01	4,99 (3,3 - 9,6)	abcdefgh	3,95 (2,6 - 6,6)	abcdefgh	Santa Catarina	6,39 (2,4 - 18,4)	cd B	4,84 (2,4 - 10,9)	c β	3,04 (2,3 - 4,1)	abcd	2,68 (2 - 3,1)	a	Santa Catarina	3,41 (2,2 - 8,9)	a A	3,25 (2,0 - 6,6)	a α
IBVDSC02	5,60 (3,5 - 7,2)	abcdefghi	4,17 (3,6 - 5)	abcdefghi						3,23 (2,2 - 3,7)	abcd	3,19 (2,7 - 4,1)	abcd					
IBVDSC03	4,64 (3,2 - 6,9)	abcd	4,19 (3,1 - 6,5)	abcdefghi						3,32 (2,7 - 5,0)	abcd	3,16 (2,3 - 5,0)	abc					
IBVDSC04	6,34 (3,7 - 8,8)	abcdefghij	5,41 (3,6 - 7,2)	cdefghijk						3,32 (2,4 - 4,6)	abcd	3,23 (2,4 - 4,6)	abcde					
IBVDSC05	6,71 (4,3 - 10,6)	abcdefghijk	5,77 (4 - 9,8)	ghijk						3,62 (2,2 - 4,9)	abcde	3,49 (2,7 - 5,6)	abcdef					
IBVDSC06	7,03 (4,5 - 9,1)	bcdefghijkl	4,58 (3,3 - 5,9)	abcdefghij						3,18 (2,6 - 4,1)	abcd	3,23 (2,6 - 5,1)	abcde					
IBVDSC07	8,30 (5,7 - 11,4)	hijkl	5,58 (3,9 - 7,5)	fghijk						3,09 (2,2 - 3,8)	abcd	3,09 (2,6 - 4,1)	abc					
IBVDSC08	6,79 (4,0 - 9,9)	abcdefghijk	4,95 (3,3 - 6,9)	abcdefghijk						2,99 (2,7 - 3,7)	abc	3,12 (2,6 - 3,8)	abc					
IBVDSC09	3,90 (2,4 - 5,4)	ab	3,50 (2,4 - 4,6)	abcd						3,39 (2,3 - 4,3)	abcd	3,20 (2,4 - 4,3)	abcd					
IBVDSC10	7,89 (3,9 - 11,8)	defghijkl	5,37 (3,9 - 7,1)	cdefghijk						5,58 (2,9 - 8,9)	defghij	4,68 (2,9 - 6,6)	defghij					

IBVDSC11	10,1 (5,4 - 18,4)	kl	6,79 (4,8- 10,9)	k					3,33 (2,2 - 5,0)	abcd	3,04 (2,1 - 4,2)	abc						
IBVDSC12	4,37 (3,3 - 6,5)	abc	3,86 (2,9 - 5,6)	abcdefg					2,84 (2,5 - 3,3)	a	2,92 (2,5 - 3,7)	ab						
IBVDPR01	7,33 (3,5 - 11,4)	bcdefghijkl	5,39 (3,4 - 8,5)	cdefghijk					4,48 (2,7 - 6,8)	abcdefg	3,77 (2,7 - 5,0)	abcdefg						
IBVDPR02	6,13 (4,0 - 8,5)	bcdefghij	3,69 (2,7 - 5,3)	abcdef					3,76 (2,8 - 7,6)	abcdef	3,62 (2,9 - 6,2)	abcdefg						
IBVDPR03	5,41 (3,5 - 10,0)	bcdefghi	3,78 (2,8 - 5,7)	abcdef					5,53 (2,7 - 9,8)	cdefghij	4,48 (2,7 - 8,1)	cdefghi						
IBVDPR04	6,83 (5,2 - 9,2)	bcdefghijk	4,87 (3,4 - 7,4)	abcdefghijk					3,56 (2,6 - 4,5)	abcde	3,39 (2,4 - 4,7)	abcdef						
IBVDPR05	6,58 (3,7 - 10,6)	bcdefghij	5,56 (3,7 - 9,2)	efghijk					4,26 (2,6 - 7,1)	abcdef	3,44 (2,7 - 4,6)	abcdef						
IBVDPR06	4,67 (3,0 - 6,4)	abcd	4,11 (2,9 - 5,9)	abcdefghi	Paraná	6,03 (3,0 - 11,4)	bcd B	4,58 (2,7 - 9,2)	bc β	3,0 (2,4 - 3,8)	abc	3,07 (2,5 - 3,5)	abc	Paraná	3,90 (2,4 - 9,8)	a A	3,54 (2,3 - 8,1)	ab α
IBVDPR07	6,01 (3,4 - 8,8)	bcdefghij	4,53 (3,1 - 3,2)	abcdefghi					3,85 (2,8 - 4,8)	abcdef	3,55 (2,3 - 4,7)	abcdef						
IBVDPR08	4,79 (3,2 - 6,8)	abcdef	3,88 (2,7 - 5,8)	abcdefg					2,96 (2,6 - 3,6)	ab	3,07 (2,6 - 3,7)	abc						
IBVDPR09	7,26 (5,8 - 9,6)	bcdefghijkl	5,33 (3,9 - 8,1)	cdefghijk					4,47 (3,3 - 6,7)	abcdefg	3,69 (3,0 - 5,4)	abcdefg						
IBVDPR10	5,34 (4,0 - 6,8)	bcdefghi	4,95 (3,6 - 6,3)	abcdefghijk					3,4 (2,4 - 4,5)	abcd	3,28 (2,4 - 4,5)	abcde						
IBVDPR11	5,97 (3,7 - 8,0)	bcdefghij	4,32 (3,2 - 7,2)	abcdefghi					3,62 (2,5 - 4,9)	abcde	3,61 (2,4 - 6,3)	abcdefg						
IBVDSP01	4,92 (3,1 - 9,3)	bcdefgh	3,74 (2,6 - 4,9)	abcdef	São Paulo	4,59 (1,7 - 9,7)	ab B	3,56 (1,8 - 7,2)	ab α	2,81 (2,1 - 3,5)	a	2,56 (2,1 - 3,2)	a	São Paulo	3,77 (2,0 - 12,1)	a A	3,24 (2,1 - 7,7)	a α
IBVDSP02	3,93 (3,0 - 5,8)	ab	3,50 (2,9 - 4)	abcd					3,11 (2,0 - 3,8)	abcd	2,82 (2,3 - 3,3)	ab						



IBVDPE15	8,18 (3,1 - 15,0)	fg hijkl	6,54 (3,2- 10,2)	jk					3,98 (2,5 - 5,1)	abcdef	3,26 (2,2 - 4,4)	abcde						
IBVDPE16	6,69 (3,3 - 10,9)	abcdefghijkl	4,69 (3 - 6,2)	abcdefghijkl					6,93 (3,1 - 10,3)	ghij	4,43 (3,2 - 5,6)	defghi						
IBVDPE17	6,26 (5,5 - 6,8)	abcdefghijkl	5,11 (3,8 - 6,6)	bcdefghijk					3,18 (3,0 - 3,4)	abcd	3,16 (2,6 - 3,5)	abc						
IBVDPE18	9,07 (4,5 - 12,8)	jkl	5,82 (4,2 - 7,5)	ghijk					3,71 (2,5 - 4,6)	abcdef	3,61 (2,9 - 4,4)	abcdefg						
IBVDPE19	6,22 (3,5 - 9,0)	abcdefghijkl	4,82 (3,7 - 7,1)	abcdefghijkl					4,13 (2,6 - 7,9)	abcdef	3,77 (2,7 - 7,1)	abcdefg						
IBVDRS01	6,45 (3,5 - 9,2)	abcdefghijkl	4,54 (3,3 - 6)	abcdefghijkl					3,33 (2,4 - 4,9)	abcd	3,23 (2,4 - 3,9)	abcde						
IBVDRS02	5,27 (2,7 - 8,9)	abcdefghijkl	3,89 (2,2 - 5,1)	abcdefg					3,43 (2,6 - 5,3)	abcd	3,01 (2,5 - 3,8)	abc						
IBVDRS03	8,12 (4,9 - 12,5)	efghijkl	5,97 (3,5 - 9,2)	ijk					7,0 (2,8 - 10,1)	ghij	4,80 (3,0 - 6,5)	fghijk						
IBVDRS04	6,22 (5,3 - 8,7)	abcdefghijkl	4,36 (3 - 5,5)	abcdefghijkl					3,22 (2,2 - 4,0)	abcd	3,10 (2,7 - 3,6)	abc						
IBVDRS05	10,42 (6,8 - 13,3)	l	6,79 (4,6 - 7,9)	k	Rio Grande do Sul	6,76 (2,4 - 13,3)	d B	4,71 (2,2 - 9,2)	c β	4,34 (2,7 - 6,0)	abcdef	3,30 (2,5 - 4,0)	abcde	Rio Grande do Sul	4,37 (2,0 - 14,0)	ab A	3,57 (2,3 - 8,8)	ab α
IBVDRS07	5,99 (4,9 - 7,4)	abcdefghijkl	4,02 (2,2 - 5,5)	abcdefghijkl					3,09 (2,0 - 4,2)	abcd	3,00 (2,4 - 3,8)	abc						
IBVDRS08	6,59 (3,0 - 12,0)	abcdefghijkl	4,62 (3,1 - 6)	abcdefghijkl					3,24 (2,7 - 3,9)	abcd	3,08 (2,7 - 3,4)	abc						
IBVDRS09	5,01 (2,4 - 7,2)	abcdefgh	3,85 (3 - 5,7)	abcdefg					3,27 (2,7 - 3,9)	abcd	3,07 (2,3 - 3,7)	abc						
IBVDRS10	5,62 (3,1 - 9,8)	abcdefghijkl	4,09 (3 - 5)	abcdefghijkl					3,07 (2,5 - 3,6)	abcd	3,02 (2,4 - 3,4)	abc						
IBVDRS13	7,32 (5,3 - 9,9)	bcdefghijkl	4,97 (3,5 - 7)	abcdefghijkl					9,68 (6,3 - 14,0)	kl	6,03 (3,9 - 8,8)	jk						
População brasileira						6,07 (1,7 - 18,4)		4,51 (1,8 - 10,9)		População brasileira						4,21 (2,0 - 14,0)	3,56 (2,0 - 8,8)	

\* Média de 10 clamidósporos medidos por isolado; Média e valores mínimo e máximo; <sup>1</sup>Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si, segundo o teste de Tukey com P<0,05; <sup>2</sup>Letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si, segundo o teste de Tukey com P<0,05. As letras normais comparam comprimento entre os meios, enquanto que as letras gregas comparam larguras entre os meios.

Crous e Gams (2000) descrevem dimensões de clamidósporos de *P. chlamydospora* no meio de cultura MEA com 7-15 µm de comprimento por 5-17,0 µm de largura. Neste mesmo meio, o clamidósporo dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* apresentaram as seguintes dimensões: 6,07 (1,7-18,4) µm de comprimento por 4,51 (1,8-10,9) µm de largura. No meio SNA, que foi o meio que propiciou menor crescimento, o clamidósporo dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* apresentou as seguintes dimensões: 4,21 (2,0-14,0) µm de comprimento por 3,56 (2,0-8,8) µm de largura. Portanto, os clamidósporos crescidos no meio MEA proporcionaram dimensões mais semelhantes aos valores descritos por Crous e Gams (2000).

Além das dimensões, os clamidósporos dos isolados brasileiros apresentaram características semelhantes às descritas por Crous e Gams (2000), como serem globosos, geralmente sozinhos, mas encontrados também em cadeias com até três, nas hifas ou raramente na base dos conidióforos.

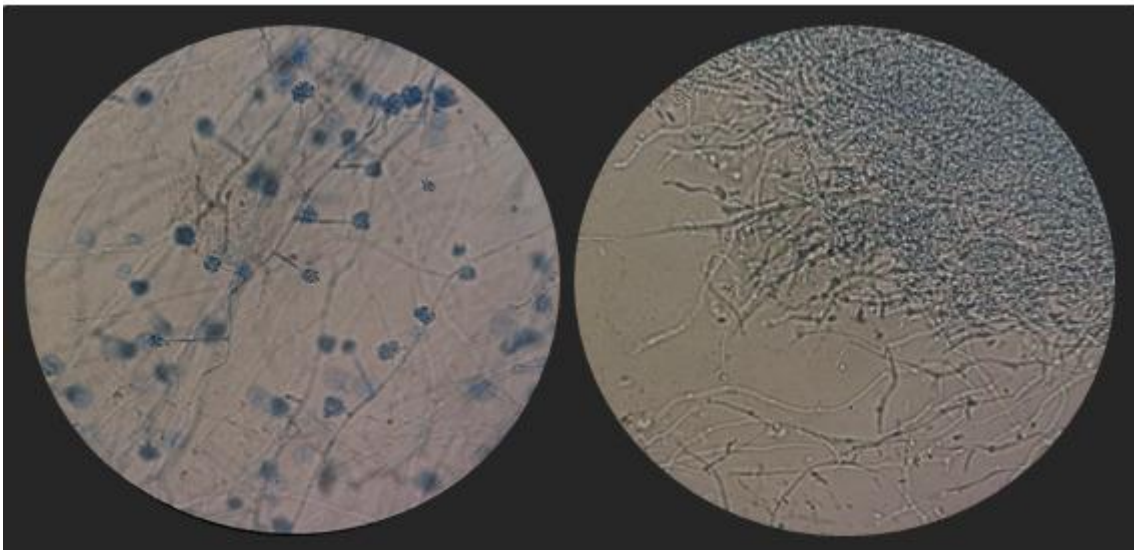
Fazendo-se uma relação entre o meio MEA e SNA, para a caracterização morfológica das estruturas dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora*, o meio SNA apresentou valores das dimensões das estruturas mais próximas para as descritas por Crous e Gams (2000), com exceção dos clamidósporos. Vale ressaltar que o meio SNA é um meio pobre em nutrientes, o que faz com que o fungo cresça mais lentamente. Ressalta-se também que as dimensões e as formas das estruturas, como conídios, conidióforo e clamidósporo dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* estão dentro das dimensões e formas descritas para a espécie *P. chlamydospora* do estudo de Crous e Gams (2000).

Dam et al. (2010) caracterizaram diferentes espécies de *Phaeomoniella* associadas com necrose da madeira de árvores de *Prunus*. No estudo de caracterização morfológica, os autores optaram pelo meio SNA.

Para dar uma sustentação maior para o meio SNA quanto à melhor caracterização morfológica dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora*, no preparo das lâminas permanentes com cada isolado, observou-se que as estruturas no meio SNA mostraram-se mais dispersas e em menor quantidade, enquanto que as estruturas desenvolvidas no meio MEA mostraram-se significativamente mais

aglomeradas, dificultando a observação e medições das estruturas do fungo no microscópio (FIGURA 8).

**FIGURA 8 - Detalhe de estruturas do fungo *Phaeomoniella chlamydospora* vistas no aumento de 400x no microscópio óptico. Esquerda: patógeno crescido no meio sintético nutriente ágar (SNA) – 14 dias. Direita: patógeno crescido no meio extrato de malte (MEA) – 14 dias.**



#### **4.5 Crescimento dos isolados de *Phaeomoniella chlamydospora* em meio de cultura BDA incubado em diferentes Temperaturas**

Analisando-se todos os isolados em cada temperatura, individualmente, constatou-se que apenas na temperatura de 5°C não houve diferenças entre os isolados (TABELA 7). Nessa temperatura, os isolados apresentaram paralização de crescimento. Na temperatura máxima estudada, 35°C, os isolados reduziram o seu crescimento, mas não se constatou a morte dos mesmos (TABELA 7). Não há ainda estudos que determinaram a temperatura letal para o fungo *P. chlamydospora*.

Ao analisar os isolados por Estado em cada temperatura individualmente, constatou-se que apenas nas temperaturas de 5 e 10°C não houve diferença de crescimento entre os isolados por Estado (TABELA 7).

As médias de crescimento dos isolados do fungo *P. chlamydospora* de todos os Estados, em diferentes temperaturas, encontram-se representadas no Gráfico 1.

**TABELA 7 - Crescimento (cm) *in vitro* de diferentes isolados brasileiros de *Phaeoconiella chlamydozpora*, por estado, por 42 dias, em meio de cultura BDA submetido a diferentes temperaturas.**

Isolados	Temperaturas (°C)													
	5	10	15	20	25	30	35							
<b>IBVDMT01</b>	<b>0,15</b>	a <sup>1</sup> A <sup>2</sup> α <sup>3</sup> A <sup>4</sup>	<b>1,40</b>	bcdefghijk B α B	<b>2,52</b>	efghijklmnopq C αβ CD	<b>3,30</b>	b C α CD	<b>3,82</b>	ab E α E	<b>1,73</b>	abcdef B αβ BC	<b>1,85</b>	Imno B β BC
<b>IBVDMG01</b>	<b>0,27</b>	a A α A	<b>1,38</b>	bcdefghijk B α B	<b>2,53</b>	fghijklmnopq C αβ C	<b>5,27</b>	stuv E δ D	<b>4,47</b>	cdefghij D β D	<b>1,48</b>	abc B α B	<b>1,25</b>	abcdefghijkl B α B
IBVDSC01	0,13	a A	1,56	fghijkl C	2,93	lmnopqrs D	4,78	klmnopqrstu E	5,38	qrstuvw F	2,91	mnopqrst D	1,05	abcdefghijkl B
IBVDSC02	0,09	a A	1,38	bcdefghijk C	2,45	cdefghijklmnopq D	4,32	fghijklm E	5,40	qrstuvw F	2,25	efghijkl D	0,67	a B
IBVDSC03	0,12	a A	1,55	fghijkl C	2,67	ghijklmnopqr D	4,96	mnopqrstu E	5,53	rstuvwxy F	1,42	ab BC	0,98	abcdefgh B
IBVDSC04	0,18	a A	1,93	kl C	3,00	nopqrs D	5,40	uv E	5,49	qrstuvwxy E	2,36	fghijklm C	1,26	abcdefghijkl B
IBVDSC05	0,21	a A	1,60	ghijkl B	3,05	opqrs C	5,38	tuv D	6,68	z E	3,12	opqrstu C	1,81	klmno B
IBVDSC06	0,11	a A	0,98	abcdefgh B	2,04	abcdefg C	3,39	bc D	3,74	a D	2,20	defghijkl C	1,13	abcdefghij B
IBVDSC07	0,16	a A	1,44	cdefghijkl BC	2,95	mnopqrs D	5,25	rstuv E	5,00	ijklmnopqrst E	1,81	abcdefg C	1,03	abcdefghi B
IBVDSC08	0,04	a A	1,40	bcdefghijk B	3,09	qrs D	5,36	tuv E	5,05	jklmnopqrstu E	2,80	klmnopqr D	1,91	mno C
IBVDSC09	0,04	a A	1,03	abcdefghi B	2,47	cdefghijklmnopq D	4,28	efghijk E	4,58	defghijklm E	1,58	abcd C	1,06	abcdefghi B
IBVDSC10	0,12	a A	1,05	abcdefghij BC	2,36	bcdefghijklmn D	4,31	fghijkl E	5,76	vwxyz F	1,46	abc C	0,76	abcd B
IBVDSC11	0,00	a A	1,18	abcdefghij C	2,26	bcdefghijk D	4,46	ghijklmno E	5,18	lmnopqrstuv F	1,98	bcdefghi D	0,69	ab B
IBVDSC12	0,08	a A	1,68	ijkl B	2,90	klmnopqrs C	4,75	klmnopqrst D	5,68	vwxyz E	2,45	ghijklmn C	1,65	ijklmno B
<b>Média – Santa Catarina</b>	<b>0,10</b>	α <sup>3</sup> A <sup>4</sup>	<b>1,40</b>	<b>α B</b>	<b>2,68</b>	<b>αβ D</b>	<b>4,72</b>	<b>β E</b>	<b>5,29</b>	<b>δ F</b>	<b>2,19</b>	<b>βδ C</b>	<b>1,17</b>	<b>α B</b>
IBVDPR01	0,00	a A	0,92	abcdef B	2,23	abcdefghij C	4,01	cdefgh D	5,39	qrstuvw E	4,05	wy D	1,18	abcdefghijkl B
IBVDPR02	0,03	a A	0,79	ab B	1,95	abcdef D	4,02	cdefgh E	5,22	mnopqrstuv F	3,93	xwy E	1,37	cdefghijklmn C
IBVDPR03	0,06	a A	0,83	abc B	1,83	abc C	3,73	bcdef D	5,79	xwyz E	4,13	wy D	1,05	abcdefghi B
IBVDPR04	0,18	a A	1,62	hijkl B	2,99	nopqrs D	4,68	ijklmnopqrs E	5,56	stuvwxy F	2,16	defghijk C	1,22	abcdefghijkl B
IBVDPR05	0,11	a A	1,64	ijkl B	3,00	nopqrs C	4,84	klmnopqrstu D	5,64	tvwxyz E	2,74	klmnopqr C	1,36	cdefghijklmn B
IBVDPR06	0,13	a A	1,68	ijkl B	3,07	pqrs C	5,08	opqrstu D	5,96	wyz E	2,68	jklmnopq C	1,41	efghijklmn B
IBVDPR07	0,14	a A	1,12	abcdefghij BC	2,26	bcdefghijk D	4,49	ghijklmnop E	4,54	cdefghijkl E	2,48	hijklmno D	1,67	ijklmno C
IBVDPR08	0,10	a A	1,51	defghijkl B	2,78	hijklmnopqr C	5,08	opqrstu D	6,13	yz E	1,59	abcd B	1,33	bcdefghijklm B

IBVDPR09	0,00	a A	0,97	abcdefg B	1,88	abcde C	3,66	bcde E	4,53	cdefghijk F	2,48	hijklmno D	0,96	abcdefg B
IBVDPR10	0,06	a A	1,11	abcdefghij B	2,22	abcdefghij C	4,10	defghij D	5,03	ijklmnopqrst E	2,24	efghijkl C	1,00	abcdefg B
IBVDPR11	0,07	a A	0,87	abcd B	1,87	abcd C	3,24	b D	5,52	rstuvxy F	3,94	xwy E	0,97	abcdefg B
<b>Média – Paraná</b>	<b>0,08</b>	<b>α A</b>	<b>1,18</b>	<b>α B</b>	<b>2,37</b>	<b>αβ C</b>	<b>4,27</b>	<b>β E</b>	<b>5,39</b>	<b>δ F</b>	<b>2,95</b>	<b>λ D</b>	<b>1,23</b>	<b>α B</b>
IBVDSP01	0,16	a A	1,38	bcdefghijk C	2,44	cdefghijklmnop E	4,41	ghijklmn F	4,98	ijklmnopqs G	1,89	bcdefgh D	0,83	abcdef B
IBVDSP02	0,10	a A	1,06	abcdefghij B	1,60	a C	2,36	a D	4,00	abcd E	1,96	bcdefgh CD	1,00	abcdefg B
IBVDSP03	0,10	a A	0,89	abcde B	1,79	ab C	3,56	bcd E	5,26	nopqrstuvx F	2,81	lmnopqr D	1,07	abcdefghi B
IBVDSP05	0,10	a A	1,36	bcdefghijk B	2,14	bcdefgh C	3,68	bcdef E	4,40	bcdefghi F	2,81	lmnopqr D	1,22	abcdefghijkl B
IBVDSP06	0,12	a A	1,42	bcdefghijkl B	2,32	bcdefghijklm C	3,55	bcd E	4,39	bcdefghi F	2,79	klmnopqr D	1,54	ghijklmno B
IBVDSP07	0,15	a A	1,15	abcdefghij B	2,30	bcdefghijkl C	3,75	bcdef E	3,93	abc E	2,96	mnoqrstu D	1,43	efghijklmn B
IBVDSP08	0,17	a A	1,53	efghijkl C	2,73	hijklmnopqr D	4,24	defghijk E	4,90	hijklmnopqr F	1,62	abcde C	0,87	abcdef B
<b>Média – São Paulo</b>	<b>0,13</b>	<b>α A</b>	<b>1,26</b>	<b>α B</b>	<b>2,19</b>	<b>α C</b>	<b>3,65</b>	<b>α D</b>	<b>4,55</b>	<b>β E</b>	<b>2,40</b>	<b>δ C</b>	<b>1,14</b>	<b>α B</b>
IBVDPE03	0,13	a A	1,55	fghijkl B	2,83	ijklmnopqrs C	4,82	klmnopqrstu D	4,54	cdefghijkl D	2,90	mnoqrqs C	1,17	abcdefghijk B
IBVDPE04	0,24	a A	1,45	cdefghijkl C	2,95	mnoqrqs D	4,78	klmnopqrstu E	4,67	efghijklmno E	1,20	a BC	0,73	abc B
IBVDPE05	0,23	a A	1,68	jkl B	3,20	rs C	5,23	rstuv E	4,48	cdefghijk D	2,98	mnoqrstu C	1,53	ghijklmno B
IBVDPE06	0,03	a A	1,49	defghijkl B	2,82	ijklmnopqrs D	4,68	jklmnopqrs F	5,12	klmnopqrstuv F	3,83	vwxy E	2,12	o C
IBVDPE07	0,11	a A	1,40	bcdefghijk B	2,85	jklmnopqrs C	4,97	nopqrstu E	4,25	abcdefg D	2,90	mnoqrqs C	1,78	klmno B
IBVDPE08	0,02	a A	1,28	abcdefghijk B	2,73	hijklmnopqr C	5,13	pqrstuv E	4,95	ijklmnopqrs E	3,22	pqrstuv D	1,47	fghijklmn B
IBVDPE09	0,00	a A	1,23	abcdefghij B	2,63	ghijklmnopqr C	4,58	ghijklmnopq D	6,22	z E	4,45	y D	1,35	cdefghijklmn B
IBVDPE10	0,09	a A	1,67	ijkl B	2,92	lmnopqrs C	4,62	hijklmnopqr E	4,62	defghijklmn E	3,57	uvwx D	1,25	abcdefghijkl B
IBVDPE11	0,12	a A	1,92	kl B	3,40	s C	5,75	v E	4,38	abcdefghi D	4,38	y D	3,43	p C
IBVDPE13	0,00	a A	0,68	a B	2,30	bcdefghijkl D	4,63	hijklmnopqrs G	3,90	abc F	3,33	rstuvx E	1,77	jklmno C
IBVDPE15	0,00	a A	0,68	a B	1,97	abcdef C	3,55	bcd E	4,70	fghijklmnop F	2,82	lmnopqr D	0,93	abcdefg B
IBVDPE16	0,24	a A	1,19	abcdefghij B	2,89	klmnopqrs D	4,95	lmnopqrstu E	5,33	pqrstuvw E	2,61	ijklmnop D	1,80	klmno C
IBVDPE17	0,20	a A	1,47	cdefghijkl BC	2,50	defghijklmnopq C	3,97	bcdefg D	4,17	abcdef D	2,78	klmnopqr C	1,38	defghijklmn B

IBVDPE18	0,23	a A	1,30	abcdefghijkl B	3,03	opqrs C	5,03	nopqrstu E	4,28	abcdefgh D	2,97	mnoqrstu C	1,38	defghijklmn B
IBVDPE19	0,23	a A	1,63	ijkl B	3,18	rs C	5,12	pqrstuv E	4,41	bcdefghij D	3,02	nopqrstu C	1,27	abcdefghijklm B
<b>Média - Pernambuco</b>	<b>0,12</b>	<b>α A</b>	<b>1,38</b>	<b>α B</b>	<b>2,81</b>	<b>β C</b>	<b>4,79</b>	<b>βδ E</b>	<b>4,67</b>	<b>β E</b>	<b>3,13</b>	<b>λ D</b>	<b>1,56</b>	<b>αβ B</b>
IBVDRS01	0,30	a A	1,22	abcdefghij B	2,32	bcdefghijklm D	4,27	efghijk E	4,03	abcde E	1,78	abcdef C	1,62	hijklmno BC
IBVDRS02	0,12	a A	1,05	abcdefghij B	2,22	abcdefghij C	3,58	bcd D	4,10	abcdef E	2,07	cdefghij C	1,98	no C
IBVDRS03	0,10	a A	0,87	abcd B	2,08	abcdefg C	4,03	cdefghi E	4,58	defghijklm F	3,52	stuvwx D	1,75	jklmno C
IBVDRS04	0,30	a A	1,25	abcdefghij B	2,85	klmnopqrs D	4,83	klmnopqrstu E	4,47	cdefghij E	2,18	defghijkl C	1,25	abcdefghijkl B
IBVDRS05	0,12	a A	1,27	abcdefghij B	2,20	abcdefghi C	4,02	cdefgh D	4,85	ghijklmnopq E	1,93	bcdefgh C	0,87	abcdef B
IBVDRS07	0,15	a A	1,30	abcdefghijkl B	2,42	bcdefghijklmno C	4,00	cdefgh E	4,53	cdefghijk F	3,37	rstuvx D	0,88	abcdef B
IBVDRS08	0,27	a A	1,63	ijkl B	3,20	rs C	5,05	nopqrstu D	4,98	ijklmnopqrs D	3,28	qrstuv C	1,38	defghijklmn B
IBVDRS09	0,13	a A	1,65	ijkl C	2,93	lmnopqrs D	5,22	qrstuv F	4,72	fghijklmnop E	3,32	qrstuvx D	1,13	abcdefghij B
IBVDRS10	0,17	a A	2,05	l C	3,23	rs D	5,27	stuv E	5,27	opqrstuvx E	3,55	tuvwx D	1,25	abcdefghijkl B
IBVDRS13	0,07	a A	1,15	abcdefghij B	2,13	abcdefgh C	4,32	fghijklm D	4,27	abcdefgh D	1,97	bcdefghi C	0,82	abcde B
<b>Média – Rio Grande do Sul</b>	<b>0,17</b>	<b>α A</b>	<b>1,34</b>	<b>α B</b>	<b>2,56</b>	<b>αβ C</b>	<b>4,46</b>	<b>β D</b>	<b>4,58</b>	<b>β D</b>	<b>2,70</b>	<b>δλ C</b>	<b>1,29</b>	<b>α B</b>
<b>População brasileira</b>	<b>0,15</b>		<b>1,33</b>		<b>2,52</b>		<b>4,35</b>		<b>4,68</b>		<b>2,37</b>		<b>1,35</b>	

\* Média de 6 repetições por isolado;

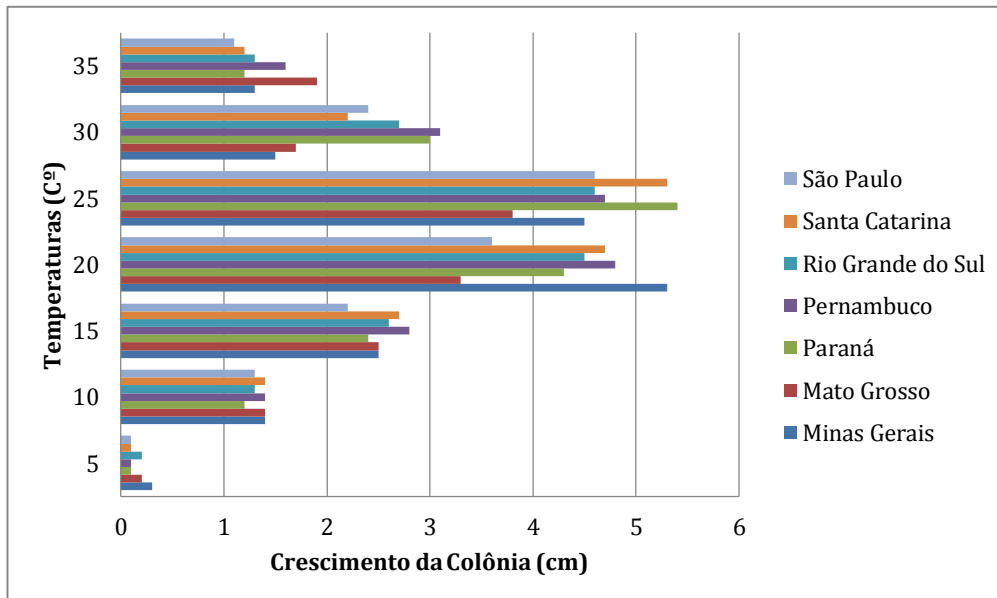
<sup>1</sup> Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si por isolados, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade;

<sup>2</sup> Letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si por isolados, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade;

<sup>3</sup> Letras gregas iguais na coluna não diferem entre si por estado, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade;

<sup>4</sup> Letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si por estado, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade.

**GRÁFICO 1 - Médias de crescimento do fungo *Phaeomoniella chlamydospora*, proveniente de diferentes estados brasileiros, em meio de cultura BDA submetidos a temperaturas - de 5 a 35°C.**

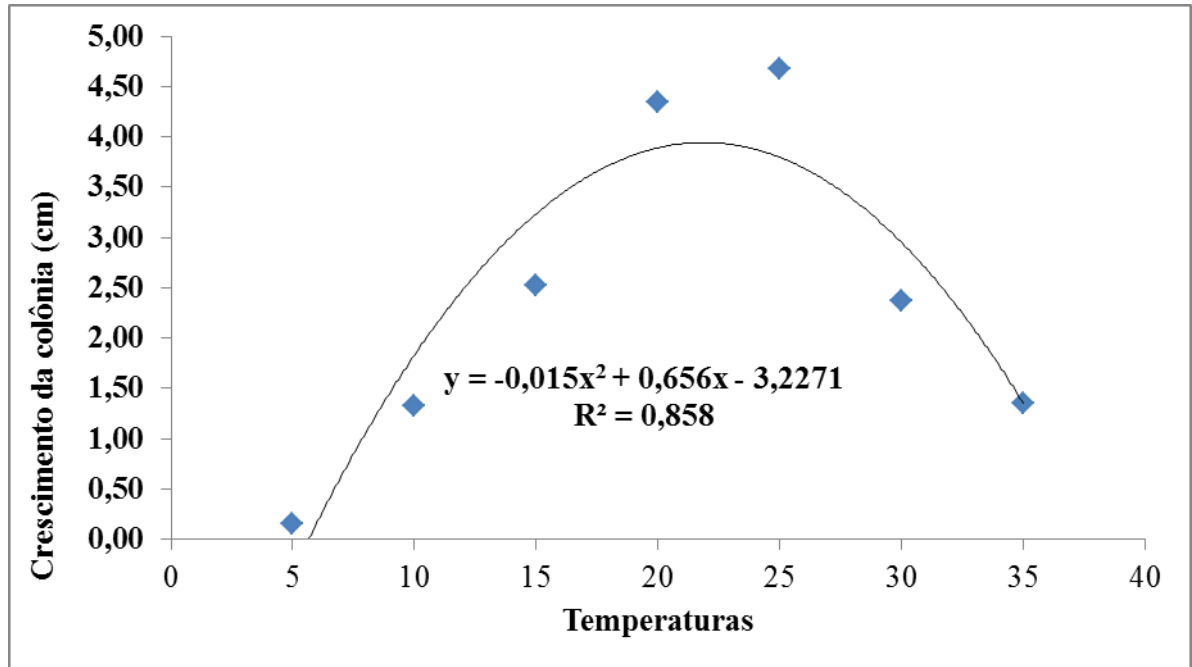


Verificando cada isolado individualmente entre as temperaturas, observou-se que a melhor faixa de temperatura para o crescimento dos isolados ocorreu entre 20 e 25°C. Dentre as temperaturas ideais, a temperatura de 20°C apontou melhor desenvolvimento para o isolado IBVDPE11, enquanto que aos 25°C os isolados IBVDPE09 e IBVDSC05 obtiveram melhor desenvolvimento (TABELA 7).

Agrupando-se os isolados por Estado, Minas Gerais, Pernambuco e Rio Grande do Sul cresceram melhor na faixa de 20 a 25°C, enquanto que Mato Grosso, Santa Catarina, Paraná e São Paulo cresceram melhor na temperatura de 25°C (TABELA 7 e GRÁFICO 1).

Calculando-se a equação de crescimento da média da população dos isolados de *P. chlamydospora*, obteve-se a seguinte equação (GRÁFICO 2).

**GRÁFICO 2 - Curva de crescimento da média de todos os isolados de *Phaeomoniella chlamydospora* cultivados no meio de cultura batata dextrose ágar incubado em diferentes temperaturas.**



$$Y = -0,015x^2 + 0,65x - 3,23$$

$$R^2 = 0,86$$

Dessa forma, pode-se concluir que a faixa de temperatura de crescimento da população brasileira do fungo *P. chlamydospora* de videira está entre 20 e 25°C, com temperatura ótima estimada em 23°C.

Crous e Gams (2000) constataram que as temperaturas de crescimento desta espécie do fungo são: 15°C (mínima), 25°C (ótima) e 35°C (máxima). A temperatura ideal de crescimento da população brasileira de *P. chlamydospora* é ligeiramente diferente da reportado por Crous e Gams (2000), que ficou estimada em 23°C como ótima e 10°C como mínima.

De acordo com os dados da Tabela 6, as seguintes inferências podem ser feitas:

- 1) Os isolados incubados somente na temperatura de 25°C e os isolados incubados primeiramente a 5°C e posteriormente re-incubados a 25°C, apresentaram diferenças significativas entre si nestas condições;

- 2) Os isolados incubados somente na temperatura de 25°C não apresentaram diferenças por Estado;
- 3) Os isolados incubados primeiramente na temperatura de 5°C e depois re-incubados na temperatura de 25°C apresentaram diferenças significativas por Estado;
- 4) Constataram-se diferenças significativas no isolado entre as condições de temperaturas, com destaque para maior crescimento para os isolados incubados primeiramente a 5°C e depois re-incubados a 25°C;
- 5) Entre as condições de temperaturas e isolados agrupados por Estado, constatou-se diferenças significativas nos isolados dos Estados de Minas Gerais, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Rio Grande do Sul, com destaque para maior crescimento na temperatura primeiro a 5°C e depois re-incubados a 25°C.

Os isolados brasileiros de *P. chlamydospora* chegaram a ter o seu crescimento inibidos quando submetidos à temperatura de 5°C (TABELA 7 e GRÁFICO 1). Whiting et al. (2001) testaram isolados de *P. chlamydospora* oriundas de videiras da Califórnia e constataram inibição de crescimento dos isolados quando incubados na temperatura de 5°C. Além disso, Whiting et al. (2001) verificaram que os isolados apresentaram crescimento lento quando expostos às temperaturas de 10 a 15°C, excelente crescimento nas temperaturas de 20 a 25°C e lento nas de 30 a 37°C.

Essa detecção de inibição do crescimento dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora* (TABELA 7 e GRÁFICO 1) e os relatos de Whiting et al. (2001) referem-se ao efeito fungistático. Segundo Basseto et al. (2011) e Gowariker et al. (2009), esse fenômeno consiste na paralisação momentânea no crescimento ou na reprodução do fungo, quando submetido em determinada situação, como incubá-lo em alta ou baixa temperatura. No entanto, quando o fungo é colocado em condições normais novamente, como em temperaturas adequadas para o seu crescimento, o mesmo volta a crescer, mas esse desenvolvimento pode ou não sofrer alterações.

Edwards et al. (2001) observaram na Austrália que esporos de *P. chlamydospora* de videiras ficaram sem germinar no inverno rigoroso, mas com a chegada do verão, os mesmos voltaram a germinar nas fendas das vinhas.

Os comentários de Basseto et al. (2011) e Gowariker et al. (2009) justificam e explicam o ocorrido com os isolados brasileiros de *P. chlamydospora* quando submetidos primeiramente à temperatura de 5°C e depois re-incubados a 25°C (TABELA 8 e GRÁFICO 3), ou seja, além de voltarem a crescer, o seu desenvolvimento foi muito superior, quando comparado ao fungo incubado somente na temperatura de 25°C.

**TABELA 8 - Média de crescimento dos isolados brasileiros de *Phaeomoniella chlamydospora* com 42 dias em meio de cultura batata dextrose ágar incubado a 25°C e a 5°C e depois re-incubados a 25°C.**

ISOLADOS	25°C		de 5 para 25°C	
IBVDMT01	3,82	A <sup>1</sup> ab <sup>2</sup> a <sup>3</sup> A <sup>4</sup>	4,6	B bc α A
IBVDMG01	4,47	A abcdefghijk α A	6,4	B mn β B
IBVDSC01	5,38	A hijklmnop	6,1	B hijklmn
IBVDSC02	5,4	A ijklmnop	5,6	A cdefghijklm
IBVDSC03	5,53	A jklmnop	6,1	B hijklmn
IBVDSC04	5,49	A jklmnop	5,7	A defghijklm
IBVDSC05	6,68	A q	6,3	A lmn
IBVDSC06	3,74	A a	4,7	B bcde
IBVDSC07	5	A cdefghijklmno	6,1	B hijklmn
IBVDSC08	5,05	A defghijklmnop	7	B n
IBVDSC09	4,58	A abcdefghijkl	5,4	B bcdefghijklm
IBVDSC10	5,76	A mnopq	6,3	A jklmn
IBVDSC11	5,18	A fghijklmnop	5,8	B efg hijklm
IBVDSC12	5,68	A lmnopq	6,1	A hijklmn
<b>Média - Santa Catarina</b>	<b>5,29</b>	<b>α A</b>	<b>5,9</b>	<b>β B</b>
IBVDPR01	5,39	A ijklmnop	5,4	A bcdefghijklm
IBVDPR02	5,22	A fghijklmnop	5,1	A bcdefghijk
IBVDPR03	5,79	B mnopq	4,6	A bcd
IBVDPR04	5,56	A klmnopq	5,6	A cdefghijklm
IBVDPR05	5,64	A lmnopq	5,9	A fghijklmn
IBVDPR06	5,96	A nopq	5,6	A cdefghijklm
IBVDPR07	4,54	A abcdefghijkl	5,2	B bcdefghijkl
IBVDPR08	6,13	A opq	6,2	A hijklmn
IBVDPR09	4,53	A abcdefghijkl	5,1	B bcdefghi
IBVDPR10	5,03	A cdefghijklmno	5,1	A bcdefgh
IBVDPR11	5,52	B jklmnop	4,8	A bcdef
<b>Média - Paraná</b>	<b>5,39</b>	<b>α A</b>	<b>5,3</b>	<b>α A</b>
IBVDSP01	4,98	A cdefghijklmno	6	B ghijklmn
IBVDSP02	4	A abcde	5,3	B bcdefghijklm
IBVDSP03	5,26	A ghijklmnop	6	B ghijklmn
IBVDSP05	4,4	A abcdefghij	5,3	B bcdefghijklm
IBVDSP06	4,39	A abcdefghij	5,4	B bcdefghijklm

IBVDSP07	3,93	A abcd	5,6	B cdefghijklm
IBVDSP08	4,9	A abcdefghijklmn	5,8	B efg hijklm
<b>Média - São Paulo</b>	<b>4,55</b>	<b><math>\alpha</math> A</b>	<b>5,6</b>	<b><math>\beta</math> B</b>
IBVDPE03	4,54	A abcdefghijkl	6,4	B mn
IBVDPE04	4,67	A abcdefghijklm	6,1	B ghijklmn
IBVDPE05	4,48	A abcdefghijk	6,2	B ijklmn
IBVDPE06	5,12	A efg hijklmnop	6,3	B klmn
IBVDPE07	4,25	A abcdefgh	5,9	B efg hijklmn
IBVDPE08	4,95	A bcdefghijklmn	6,1	B ghijklmn
IBVDPE09	6,22	B pq	5,5	A cdefghijklm
IBVDPE10	4,62	A abcdefghijkl	6	B ghijklmn
IBVDPE11	4,38	A abcdefghij	7	B n
IBVDPE13	3,9	A abc	5,4	B bcdefghijklm
IBVDPE15	4,7	B abcdefghijklm	2,4	A a
IBVDPE16	5,33	A hijklmnop	5,8	A efg hijklmn
IBVDPE17	4,17	A abcdefg	4,3	A b
IBVDPE18	4,28	A abcdefghi	5,1	B bcdefghij
IBVDPE19	4,41	A abcdefghij	6	B ghijklmn
<b>Média – Pernambuco</b>	<b>4,67</b>	<b><math>\alpha</math> A</b>	<b>5,6</b>	<b><math>\beta</math> B</b>
IBVDRS01	4,03	A abcde	5,3	B bcdefghijklm
IBVDRS02	4,1	A abcdef	5	B bcdefg
IBVDRS03	4,58	A abcdefghijkl	5,2	B bcdefghijkl
IBVDRS04	4,47	A abcdefghijk	6,4	B mn
IBVDRS05	4,85	A abcdefghijklmn	5,2	A bcdefghijk
IBVDRS07	4,53	A abcdefghijkl	5,4	B bcdefghijklm
IBVDRS08	4,98	A cdefghijklmno	6,3	B klmn
IBVDRS09	4,72	A abcdefghijklm	6,4	B mn
IBVDRS10	5,27	A ghijklmnop	6,3	B klmn
IBVDRS13	4,27	A abcdefghi	5,7	B cdefghijklm
<b>Média - Rio Grande do Sul</b>	<b>4,58</b>	<b><math>\alpha</math> A</b>	<b>5,7</b>	<b><math>\beta</math> B</b>
<b>População brasileira</b>	<b>4,68</b>	<b>A</b>	<b>5,6</b>	<b>B</b>

\* Média de 6 repetições por isolado;

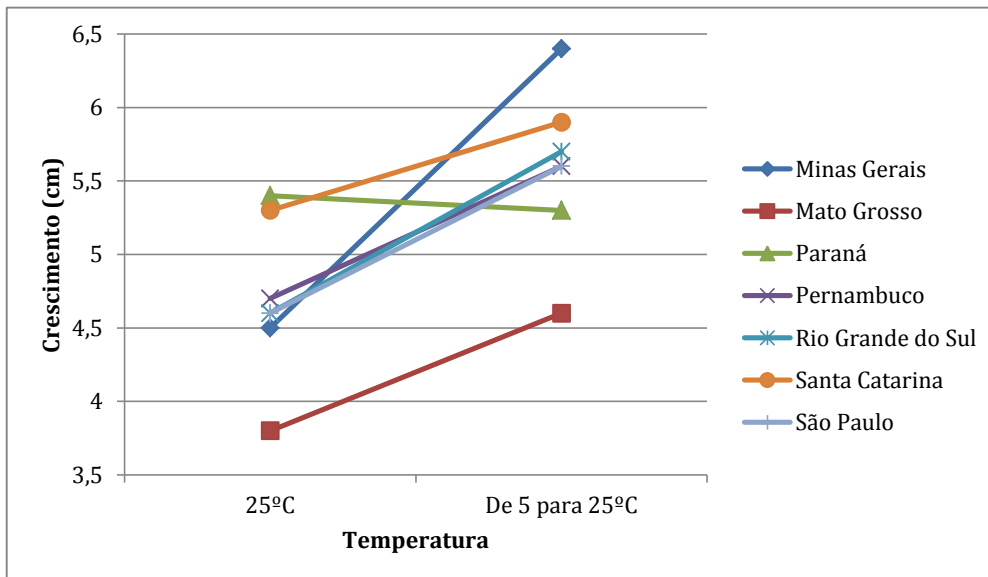
<sup>1</sup> Letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si por isolados, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade;

<sup>2</sup> Letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si por isolados, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade;

<sup>3</sup> Letras gregas iguais na coluna não diferem entre si por estado, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade;

<sup>4</sup> Letras maiúsculas iguais na linha não diferem entre si por estado, segundo o teste de Tukey com 5% de probabilidade.

**GRÁFICO 3 - Comparação de crescimento de isolados de *Phaeomoniella chlamydospora* de videira, por Estado, cultivados em meio de cultura BDA incubado em diferentes temperaturas.**



Segundo alguns estudos, o fungo *P. chlamydospora* apresenta baixa variabilidade genética (SOFIA et al., 2013; TELO et al., 2010; COBOS; MARTIN, 2008). No entanto, não se sabe se o fungo apresenta diferenças quanto à agressividade após o inverno e a entrada da primavera. Segundo alguns relatos (WHITING et al., 2001; EDWARDS et al., 2001) e de acordo com o presente estudo (TABELA 8 e GRÁFICO 3), o fungo pode paralisar o seu crescimento sob baixa temperatura e voltar a se desenvolver quando submetido a condições normais de crescimento (25°C), mas esse crescimento pode ou não ser alterado. A pergunta a se fazer é: se o crescimento for alterado isso refletirá ou não em maior agressividade do fungo na videira? Se isso ocorrer, o manejo do fungo além de ser feito de forma preventiva deve ser feito também antes e depois do inverno, como o tratamento clássico prescrito de inverno (GALLOTTI; GRIGOLETTI, 1990).

#### 4.6 Teste de Patogenicidade

Todos os isolados de *P. chlamydospora* inoculados em 'Niagara Rosada' enxertada no cavalo IAC 766 foram patogênicos, de acordo com o fechamento dos postulados de Koch (TABELA 9).

O resultado mostrou diferenças entre os isolados quanto ao sucesso no reisolamento (incidência). Segundo dados da literatura, nessa espécie de fungo é comum haver variações no seu reisolamento, em ensaios onde há inoculação artificial do fungo em videira (ADALAT et al., 2000; SIDOT et al., 2000).

O isolado IBVDPE03 destacou-se quanto ao número de reisolamentos. Por outro lado, os isolados IBVDPE15, IBVDSC11, IBVDPR01, IBVDSP05, IBVDSP08, IBVDSC08 e IBVDSC12 mostraram nível mínimo de reisolamento, chegando a não diferir significativamente do tratamento controle (TABELA 9).

**TABELA 9 - Reisolamento (incidência) de isolados brasileiros de *Phaeomoniella chlamydospora*, a partir de fragmentos infectados de ‘Niagara Rosada’ enxertada no cavalo IAC 766 plaqueados em meio de cultura de batata dextrose ágar.**

ISOLADOS	Incidência de reisolamento de <i>P. chlamydospora</i> e seu percentual	Total de fragmentos plaqueados por tratamento
Testemunha	0 (0,0%) a <sup>1</sup>	48
IBVDPE15; IBVDSC11 e IBVDPR01	1 (2,1%) ab	48
IBVDSP05 e IBVDSP08	3 (6,3%) abc	48
IBVDSC08 e IBVDSC12	4 (8,3%) abc	48
IBVDPR03	5 (10,4%) bcd	48
IBVDPE10; IBVDSC09 e IBVDSC10	7 (14,6%) bcde	48
IBVDSC03; IBVDPR04; IBVDPR05; IBVDPR08; IBVDRS03; IBVDRS05 e IBVDRS13	8 (16,7%) bcde	48
IBVDSP02; IBVDPR09; IBVDPR11 e IBVDRS09	9 (18,8%) cdef	48
IBVDMG01; IBVDSP07; IBVDSC02; IBVDRS01; IBVDRS07 e IBVDRS08	10 (20,8%) cdef	48
IBVDMT01; IBVDPE07 e IBVDRS02	11 (22,9%) cdef	48
IBVDSP06	12 (25,0%) cdefg	48
IBVDPE11; IBVDSP01 e IBVDSC06	13 (27,1%) defg	48
IBVDPE18	14 (29,2%) defgh	48
IBVDSC01 e IBVDPR10	15 (31,2%) defgh	48
IBVDPE08	16 (33,3%) efgh	48
IBVDSP03; IBVDSC04; IBVDSC05 e IBVDPR07	17 (37,5%) efghi	48

IBVDPE17	18 (37,5%) efghi	48
IBVDSC07	19 (39,6%) fghi	48
IBVDPE05 e IBVDRS10	20 (41,7%) fghi	48
IBVDPE09 e IBVDRS04	21 (43,7%) fghi	48
IBVDPR02	22 (45,8%) fghi	48
IBVDPE04; IBVDPE16 e IBVDPR06	24 (50,0%) ghi	48
IBVDPE19	25 (52,1%) ghi	48
IBVDPE06 e IBVDPE13	26 (54,2%) hi	48
IBVDPE03	29 (60,4%) i	48

<sup>†</sup>Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) segundo teste de associação de Goodman envolvendo contrastes entre populações multinomiais (Goodman, 1964).

Apesar da diferença na quantidade de isolados, constatou-se que percentual de reisolamento dos isolados do Estado de Pernambuco foi diferentes dos demais estados. Todos os Estados diferiram significativamente da testemunha (TABELA 10).

**TABELA 10 - Reisolamento (incidência) de isolados brasileiros de *Phaeoconiella chlamydospora*, por Estado, a partir de fragmentos infectados de 'Niagara Rosada' enxertada no cavalo IAC 766 plaqueados em meio de cultura de batata dextrose ágar.**

<b>ISOLADOS</b>	<b>Incidência de <i>P. chlamydospora</i> e seu percentual</b>	<b>Total de fragmentos plaqueados por tratamento</b>
<b>Testemunha</b>	0 (0,0%) a <sup>1</sup>	48
Mato Grosso – 1 isolado	11 (22,9%) b	48
Minas Gerais – 1 isolado	10 (20,8%) b	48
Pernambuco – 15 isolados	275 (38,2%) c	720
São Paulo – 7 isolados	67 (19,9%) b	336
Santa Catarina – 12 isolados	122 (21,2%) b	576
Paraná – 11 isolados	126 (23,9%) b	528
Rio Grande do Sul – 10 isolados	115 (24,0%) b	480

<sup>1</sup>Letras iguais não diferem entre si ( $P > 0,05$ ) segundo teste de associação de Goodman envolvendo contrastes entre populações multinomiais (Goodman, 1964).

De acordo com os dados da Tabela 11, os isolados diferiam entre si quanto à agressividade. Essa variabilidade entre os isolados já foi observada nos dados de reisolamento dos isolados (incidência) (TABELA 9).

A agressividade diferente entre os isolados brasileiros de *P. chlamydospora* está em conformidade com o trabalho de Pedraza (2010), que caracterizou fungos associados à doença de Petri e Esca no vale do Guadalupe, Califórnia, realizando teste de patogenicidade com diferentes isolados de *P. chlamydospora* e de *Phaeoacremonium aleophilum*, na videira Cabernet Sauvignon. Nesse teste, os cinco isolados de *P. chlamydospora* inoculados provocaram lesões na videira Cabernet Sauvignon, mas com extensões diferentes. Essa diferença observada nos isolados de *P. chlamydospora* no estudo de Pedraza (2010) justifica as diferenças de agressividade e de reisolamento dos isolados brasileiros de *P. chlamydospora*, observadas na videira 'Niagara Rosada' enxertada no cavalo IAC 766 (TABELAS 9 e 11).

**TABELA 11 - Agressividade dos isolados brasileiros de *Phaeomoniella chlamydospora* em plantas de 'Niagara Rosada' enxertada no cavalo IAC 766.**

ISOLADOS	Pontuação do nível da doença e seu percentual
<b>Testemunha</b>	<b>4 (16,7%) a<sup>1</sup></b>
IBVDSC07	6 (25,0%) ab
IBVDSP08	7 (29,2%) abc
IBVDPE09, IBVDPE15, IBVDSP05 e IBVDPR02	8 (33,3%) abc
IBVDMT01, IBVDPE07, IBVDPE08, IBVDSP03, IBVDSP07, IBVDSC08, IBVDRS03 e IBVDRS09	9 (37,5%) abcd
IBVDSP01, IBVDSC01, IBVDSC05, IBVDSC06 e IBVDSC11	10 (41,7%) abcd
IBVDPE16, IBVDPE18, IBVDSC04, IBVDSC09, IBVDPR01, IBVDPR03, IBVDPR08, IBVDPR09, IBVDPR10 e IBVDRS13	11 (45,8%) abcd
IBVDMG01, IBVDPE09, IBVDSP02, IBVDSC02, IBVDSC03, IBVDSC10, IBVDPR04, IBVDRS01, IBVDRS07 e IBVDRS08	12 (50,0%) abcd
IBVDPE05, IBVDPE06, IBVDPE19, IBVDSP06 e IBVDPR11	13 (54,2%) bcd
IBVDPE03, IBVDPE04, IBVDPE11, IBVDPE17, IBVDPR05, IBVDPR06 e IBVDRS04	14 (58,3%) bcd
IBVDPE13, IBVDPR07 e IBVDRS04	15 (62,5%) cd
IBVDSC12, IBVDRS02 e IBVDRS10	17 (70,8) d

<sup>1</sup>Porcentagens seguidas de uma mesma letra não diferem quanto aos isolados e controle ( $P > 0,05$ ). Escala de notas e percentual da doença (FIGURA 6): nota 0 = 0% de ausência de doença; nota 1 = 0% < doença ≤ 25%; nota 2 = 25% < doença ≤ 50%; nota 3 = 50% < doença ≤ 75%; e nota 4 = 75% < doença ≤ 100%.

De acordo com os dados da Tabela 12, os isolados agrupados por Estado não demonstraram diferenças entre si quanto à agressividade. Isto só reforça os

dados das Figuras 7A e 7B que, apesar de haver quatro grupos distintos na população brasileira de *P. chlamydospora*, há alta homogeneidade entre todos os isolados. Isso pode explicar o comportamento da agressividade dos isolados agrupados por Estado.

**TABELA 12: Agressividade dos isolados de *Phaeomoniella chlamydospora* por estado brasileiro, em plantas de ‘Niagara Rosada’ enxertada no cavalo IAC 766.**

ISOLADOS	PONTUAÇÃO DA DOENÇA
Testemunha	4 (16,7%) a <sup>1</sup>
Mato Grosso – 1 isolado	9 (37,5%) ab
São Paulo – 7 isolados	68 (40,5%) b
Santa Catarina – 12 isolados	130 (45,1%) b
Pernambuco – 15 isolados	178 (49,4%) b
Paraná – 11 isolados	131 (49,6%) b
Minas Gerais – 1 isolado	12 (50,0%) b
Rio Grande do Sul – 10 isolados	112 (53,3%) b

<sup>1</sup>Porcentagens seguidas de uma mesma letra não diferem quanto aos isolados e controle ( $P > 0,05$ ). Escala de notas e percentual da doença (FIGURA 6): nota 0 = 0% de ausência de doença; nota 1 = 0% < doença ≤ 25%; nota 2 = 25% < doença ≤ 50%; nota 3 = 50% < doença ≤ 75%; e nota 4 = 75% < doença ≤ 100%.

## 5 CONCLUSÕES

- Primeiro relato de *P. chlamydospora* causando doença de Petri nos Estados de Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso, em videira;
- A observação da frente da colônia de *P. chlamydospora* desenvolvida nos meio de cultura MEA e BDA é a melhor forma de verificar as suas características. Há quatro grupos distintos de colônia, mas prevalecem os grupos das categorias 1 e 2, que contêm as características quanto ao aspecto da colônia mais descritas no mundo para o fungo;
- Os isolados apresentam diferenças quanto às dimensões de seus conídios, conidióforo e clamidósporo nos meios de cultura MEA e SNA. No entanto, as dimensões destas estruturas e suas formas estão dentro dos padrões descritos para a espécie *P. chlamydospora*;
- O meio SNA é mais adequado para a caracterização morfológica, e o meio MEA para a caracterização cultural das colônias dos isolados de *P. chlamydospora*;
- A população do fungo *P. chlamydospora* desenvolve-se melhor na faixa de temperatura entre 20 a 25°C, com ótimo estimado em 23°C;
- A temperatura de 5°C causa fungistase na população de *P. chlamydospora*. Ao retornar essa população para a temperatura de 25°C, a mesma cresce significativamente mais rápido que as cultivadas diretamente a 25°C;
- Todos os isolados de *P. chlamydospora* obtidos são patogênicos à videira 'Niagara Rosada', mas o reisolamento dos isolados da planta foi significativamente diverso, bem como a agressividade dos sintomas de cada isolado na planta. Ao verificar a incidência dos isolados do fungo por Estado, somente os isolados de Pernambuco obtiveram reisolamento significativamente maior comparados aos isolados dos demais Estados. Ao verificar a agressividade dos isolados do fungo por Estado, em videira, não se constaram diferenças;
- A população de *P. chlamydospora* apresenta baixa variabilidade genética.



## REFERÊNCIAS

- ADALAT, K.; WHITING, C.; ROONEY, S.; GUBBLER, W.D. Pathogenicity of three species of *Phaeoacremonium* spp. on grapevine in California. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 39, p. 92-99, 2000.
- ALMANÇA, M. A. K.; ABREU, C. M. de; SCOPEL, F. B.; BENEDETTI, M.; HALLEEN, F.; CAVALCANTI, F. R. Evidências morfológicas da ocorrência de *Phaeomoniella chlamydospora* em videiras no estado do Rio Grande do Sul. **Comunicado Técnico**, Bento Gonçalves - RS, 2013.
- AVESKAMP, M. M.; VERKLEY, G. J.; de GRUYTER, J.; MURACE, M. A.; PERELLÓ, A.; WOUDEBERG, J. H.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. DNA phylogeny reveals polyphyly of Phoma section Peyronellaea and multiple taxonomic novelties. **Mycologia**, v. 101, p. 363–382, 2009.
- BASSETO, M. A.; BUENO, C. J.; CHAGAS, H. A.; ROSA, D. D.; PADOVANI, C. R.; FURTADO, E. L. Efeitos da simulação da solarização do solo com materiais vegetais sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, p. 116-120, 2011.
- BERTELLI, E.; MUGNAI, L.; SURICO, G. Presence of *Phaeoacremonium chlamydosporum* in apparently healthy rooted grapevines cuttings. **Phytopathologia Mediterranea**, v.37, p. 79-82, 1998.
- BORIE, B.; JACQUIOT, L.; JAMAUX-DESPRÉAUX I.; LARIGNON, P.; PEROS, J. P. Genetic diversity in populations of the fungi *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* on grapevine in France. **Plant Pathology**, v. 51, p. 85–96, 2002.
- BUENO, S.C.S. **Vinhedo Paulista**. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral – CATI, 2010. 265 p.

CAMARGO, L.E.A.; BERGAMIN FILHO, A. **Controle genético**. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.) Manual de Fitopatologia. V.1: Princípios e Conceitos. São Paulo. Agronômica Ceres. 1995. pp.729-760.

CAVALCANTI, F. R.; BUENO, C. J.; ALMANÇA, M. A. K. **Declínio e morte de plantas de videira**. EMBRAPA Uva e Vinho. Bento Gonçalves, RS, 2013.

COBOS, R.; MARTIN, M. T. Molecular characterisation of *Phaeomoniella chlamydospora* isolated from grapevines in Castilla y León (Spain). **Phytopathologia Mediterranea**. v. 47, n. 1, p. 20-27, 2008.

CORREIA, K. C.; CÂMARA, M. P. S.; BARBOSA, M. A. G.; SALES JÚNIOR, R.; BRISACH, C. A.; GRAMAJE, D.; LEÓN, M.; GARCÍA-JIMÉNEZ, G.; CAMPOS, A. A.; ARMENGOL, J.; MICHEREFF, S. J. Fungal trunk pathogens associated with table grape decline in Northeastern Brazil. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 52, n. 2, p. 380-387, 2013.

COSTA, F. S. Análise Mensal – Uva Industrial. **Conab (Campanha Nacional de Abastecimento)**. 6 p. Janeiro, 2018

CROUS, P. W.; GAMS, W. *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et comb. nov., a causal organism of Petri grapevine decline and esca. **Phytopathologia Mediterranea** v. 39, p. 112-118, 2000

DAM, U.; FOURIE, P.H.; CROUS, P.W. *Coniochaeta (Lecythophora), Collophora* gen. nov. and *Phaeomoniella* species associated with wood necroses of *Prunus* trees. **Persoonia**, v. 24, p. 60-68, 2010.

DI MARCO, S.; OSTI, F. Applications of *Trichoderma* to prevent *Phaeomoniella chlamydospora* infections in organic nurseries. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 46, p. 73-83, 2007.

DOYLE, J.D.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11-15, 1987.

EDWARDS, J.; LAUKART, N.; PASCOE, I. G. In situ sporulation of *Phaeoconiella chlamydospora* in the vineyard. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 40, n. 1, p. 61-66. Abril de 2001.

FAO – **Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura**. 2019.

FERREIRA, A.B.M. ; LEITE, L.G. ; FERNANDES, J.F. ; HARAKAVA, R.; PADOVANI, C.R. ; BUENO, C. J. . Colonization of vines by Petri disease , susceptibility of rootstocks to *Phaeoconiella chlamydospora* and their disinfection. ARQUIVOS DO INSTITUTO BIOLÓGICO (ONLINE), v. 85, p. e0882017, 2018.

FERREIRA, A. B. M.; LEITE, L. G.; HARAKAVA, R.; PADOVANI, C. R.; BUENO, C. J. Incidência da doença de petri na videira Niagara Rosada no estado de São Paulo – Brasil. **Summa phytopathologica**. v. 43, n. 2, p.124-131, 2017.

FERREIRA, J.H.S.; VAN WYK, P.S.; CALITZ, F.J. Slow dieback of grapevine in South Africa: Stress-related predisposition of young vines for infection by *Phaeoacremonium chlamydosporum*. **South African Journal of Enology and Viticulture**. v. 20, p. 43-46, 1999.

GALLOTTI. GJ.M.; GRIGOLETTI JR., A. **Doenças fúngicas da videira e seu controle no Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: EMPASC, 1990. 46 p. (EMPASC, Boletim Técnico, 51).

GASQUES, J. G. Brasil Projeções do Agronegócio 2017/2018 a 2027/2028. **MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento)**. 112 p. Brasília, 2018.

GIOVANNINI, E. **Manual de Viticultura**. São Paulo - SP: Bookman, 2014.

GIOVANNINI, E. **Produção de uvas para vinho, suco e mesa**. Porto Alegre: Renascença, 346 p. 1999.

GOODMAN, L.A. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. **Annals of Mathematical Statistics**. v. 35, p. 716-725, 1964.

GOODMAN, L.A. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. **Technometrics**. v. 7, p. 247-254, 1965.

GOWARIKER, V.; KRISHNAMURTHY, V. N.; GOWARIKER, S.; DHANORKAR, M.; PARANJAPE, K. **The fertilizer encyclopedia**. New York: John Wiley, 2009. 872 p.

GRAMAJE, D.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. Field evaluation of grapevine rootstocks inoculated with fungi associated with petri disease and esca. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 61, n. 4, p. 512-520, 2010.

GRAMAJE, D.; ALANIZ, S.; ABAD-CAMPOS, P.; GARCÍA-JIMÉNEZ, J.; ARMENGOL, J. Effect of hot-water treatments in vitro on conidial germination and mycelial growth of grapevine trunk pathogens. **Annals of Applied Biology**, v. 156, p. 231-241, 2010.

GRAMAJE, D.; ARMENGOL, J. Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management Strategies. **Plant Disease**, v. 95, n. 9, p. 1040-1055, 2011.

GRAMAJE, D.; MOSTERT, L.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. *Phaeoacremonium*: from esca disease to phaeohyphomycosis. **Fungal Biology**, Oxford, v. 119, p. 759-783, 2015.

GROENEWALD, M.; KANG, J.; CROUS, P. W.; GAMS, W. ITS and  $\beta$ -tubulin phylogeny of *Phaeoacremonium* and *Phaeomoniella* species. **Mycological Research**, n. 105, p. 651-657, 2001.

HALLEEN, F.; MOSTERT, L.; CROUS, P. Pathogenicity testing of lesser-known vascular fungi of grapevines. **Australasian Plant Pathology**, v.36, n.3, p. 277-285, 2007.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2018. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em: 25 Fev. 2019.

MAIA, J.D.G; CAMARGO, U.A. **O Cultivo da videira Niagara Rosada no Brasil**. Brasilia, DF: Embrapa, 2012. 1 ed. 301 p.

MAIA, J. D. G.; KUHN, G. B. **Cultivo da Niagara Rosada em Áreas tropicais do Brasil.**, 1. Ed. Embrapa Uva e Vinho, 2001. 72 p.

MAIA, J. D. C. **Origem da videira Niagara**. [S. l.: s. n.], 2015. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/962166/1/maiacap1p132220120001.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2019.

MORTON, L. Viticulture and grapevine decline: Lessons of black goo. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 39, p. 59-67, 2000

MOSTERT, L., GROENEWALD, J.Z., SUMMERBELL, R.C., GAMS, W., CROUS, P.W. Taxonomy and pathology of Togninia (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium anamorfs*. **Studies in Mycology**. v. 54, p. 1-115, 2006.

MUGNAI, L.; GRANITI, A.; SURICO, G. Esca (Black Measles) and Brown Wood Streaking: two old and elusive diseases of grapevines. **Plant Disease**. v. 83, p. 404-418, 1999.

NORMAN, G. R.; STREINER, D. L. **Biostatistics: the bare essentials**. St Louis: Ed. Mosby Boor, 1994. 260 p.

PASCOE, I.; COTTRAL, E. Developments in grapevine trunk diseases research in Australia. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 39, p. 68-75, 2000.

PEDRAZA, L.G.M. 2010. **Caracterización de hongos asociados a la enfermedad de Petri y Esca en el Valle de Guadalupe, Baja California**. 2010. 85 f. Tesis de Maestría en Ciencias/Microbiología. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, 2010.

PETRI, L. Osservazioni sopra le alterazioni del legno della vite in seguito a ferite. **Le Stazioni Sperimentali Agrarie Italiane**. v. 45, p. 501-547, 1912.

PINTO, P. S. G. C. **Doença de Petri da videira: avaliação da eficácia de fungicidas na protecção de feridas de poda**. 69 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agronômica) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

POTTINGER, B.; STEWARD, A.; CARPENTER, M.; RIDGWAY, H. J. Low genetic variation detected in New Zealand populations of *Phaeomoniella chlamydospora*. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 41, p. 199–211, 2002.

SCHECK, H.J.; VASQUEZ, S.; GUBLER, W.D. First report of three *Phaeoacremonium* spp. Causing young grapevine decline in California. **Plant Disease**. v. 82, p. 590, 1998.

SCHMITZ, A.; RIESNER, D. Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. **Analytical Biochemistry**, v. 354, p. 311-313, 2006.

SIDOTI, A.; BUONOCORE, E.; SERGES, T.; MUGNAI, L. Decline of young grapevines associated with *Phaeoacremonium chlamydosporum* in Sicily (Italy). **Phytopathologia Mediterranea**, v. 39, p. 87-91, 2000.

SMETHAM G.; ADES, P.; PÉROS, J.; FORD, R. Genetic structure of the grapevine fungal pathogen *Phaeomoniella chlamydospora* in south-eastern Australia and southern France. **Plant Pathology**. v. 59, p. 736–744, 2010.

SOFIA, J.; NASCIMENTO, T.; GONÇALVES, M. T.; REGO, C. Contribution for a better understanding of grapevine fungal trunk diseases in the Portuguese Dão wine region. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 52, n. 2, p. 324-334, 2013.

SOFIA, J.; TROVÃO, J.; PORTUGAL, A.; CARVALHO, H. P.; MESQUITA, N.; NASCIMENTO, T.; REGO, C. GONÇALVES, M. T. Molecular and phenotypic characterisation of *Phaeoconiella chlamydospora* isolates from the demarcated wine region of Dão (Portugal). **Phytopathologia Mediterranea**. v. 54, n.2; p. 403-413. 2015.

TELLO, M. L.; GRAMAJE, D.; GÓMEZ, A.; ABAD-CAMPOS, P.; ARMENGOL, J. Analysis of phenotypic and molecular diversity of *Phaeoconiella chlamydospora* isolates in Spain. **Journal of Plant Pathology**. v. 92, p. 195-203, 2010.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SHINSKY, J.J.; WHITE, T.J. (Ed.). **PCR protocols: a guide to methods and applications**. San Diego: Academic, 1990. p.315-322.

WHITING, E. C; KHAN, A.; GUBLER, W. D. Effect of temperature and water potential on survival and mycelial growth of *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium* spp. **Plant Disease**. v. 85, n. 2, p. 195-201, 2001.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**, 5 ed. New Jersey: Practice-Hall, 2009. 994 p.