

SARA YUMI SASSAMOTO KUROKAWA

**CARACTERIZAÇÃO MORFO-MOLECULAR E EPIDEMIOLOGIA
COMPARATIVA DO OÍDIO EM CLONES DE EUCALIPTO CONDUZIDO EM
VIVEIRO**

Botucatu

2020

SARA YUMI SASSAMOTO KUROKAWA

**CARACTERIZAÇÃO MORFO-MOLECULAR E EPIDEMIOLOGIA
COMPARATIVA DO OÍDIO EM CLONES DE EUCALIPTO CONDUZIDO EM
VIVEIRO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Câmpus de Botucatu para obtenção do Título de Mestre em Proteção de Plantas.

Orientador: Dr. Edson Luiz Furtado
Coorientadora: Dra. Maria Márcia Pereira Sartori
Linha de Pesquisa: Controle e Manejo de Doenças, Pragas e Plantas Daninhas

Botucatu

2020

K96c Kurokawa, Sara Yumi Sassamoto
Caracterização morfo-molecular e epidemiologia comparativa do oídio em clones de eucalipto conduzido em viveiro / Sara Yumi Sassamoto Kurokawa. -- Botucatu, 2020
71 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu
Orientador: Edson Luiz Furtado
Coorientador: Maria Marcia Pereira Sartori

1. Agronomia. 2. Fitopatologia. 3. Eucalipto. 4. Epidemiologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônomicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO MORFO-MOLECULAR E EPIDEMIOLOGIA COMPARATIVA DO OÍDIO EM CLONES DE EUCALIPTO CONDUZIDO EM VIVEIRO

AUTORA: SARA YUMI SASSAMOTO KUROKAWA

ORIENTADOR: EDSON LUIZ FURTADO

COORIENTADORA: MARIA MÁRCIA PEREIRA SARTORI

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



Prof. Dr. EDSON LUIZ FURTADO
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Prof.^a Dr.^a CRISTIANE DE PIERI 
Prof.^a Substituta - Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu

Prof. Dr. WALDIR CINTRA DE JESUS JÚNIOR
Centro de Ciências Naturais / Universidade Federal de São Carlos



Botucatu, 14 de agosto de 2020

Aos meus pais e minha irmã Suzy, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Ser Divino, por olhar e cuidar de mim, mesmo nos dias mais difíceis.

Aos meus pais, Hideo Kurokawa e Neide Shigueko Sassamoto Kurokawa, que sempre me incentivam, dão apoio a todo momento e que são a razão do meu viver.

À minha irmã Suzy Sayuri, por sempre me dar conselhos para que eu cresça como profissional e ser humano.

Ao Professor Dr. Edson Luiz Furtado, pela paciência, ensinamentos, companheirismo e humildade com todos.

Aos integrantes do Laboratório de Patologia Florestal , por serem pessoas muito especiais que pude conhecer e conviver nessa jornada.

À Professora Dra. Maria Márcia Sartori, por ser um exemplo de profissional que tem paixão pelo que faz e sabe transmitir o conhecimento didaticamente.

À UNESP- FCA, ao Departamento de Proteção Vegetal e o Viveiro da Ciência Florestal, para que o projeto pudesse ser realizado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil - CAPES - Código de Financiamento 001, pelo apoio financeiro.

RESUMO

A área plantada de espécies florestais no Brasil representa 6,9% do PIB industrial. O seu uso e finalidades são diversos, entre eles a serraria, laminação, carvão e celulose. Devido a essa diversidade de usos, em 2018, já totalizavam 7,8 milhões de hectares de árvores plantadas, sendo que 5,7 milhões de hectares somente de eucalipto, mantendo-se estável comparado ao ano de 2017. Os crescentes plantios puros, os chamados bosquetes, trouxeram alguns problemas relacionados à ocorrência de pragas e doenças, dentre elas a ocasionada por oídio, de importância principalmente em viveiros. O presente trabalho teve como objetivo identificar por análise morfológica e molecular o patógeno, bem como entender o comportamento da doença e elaborar modelos de previsão. O experimento foi conduzido no Viveiro Florestal do Departamento de Ciência florestal da Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, em Botucatu, São Paulo, com início em maio de 2018 e encerramento em maio de 2019. As condições utilizadas foram jardim clonal com teto coberto e a céu aberto, quatro clones de eucalipto (I144, IPB13, IPB2 e toreliodora) e três repetições. As variáveis climáticas monitoradas foram a temperatura, a umidade, a pluviosidade e a radiação fotossinteticamente ativa (PAR, do inglês Photosynthetically Active Radiation), com dados horários coletados e a severidade da doença avaliada semanalmente. A identificação do patógeno foi realizado em microscópio estereoscópico, extração de DNA, PCR com primers ITS1 e ITS4 e sequenciamento Sanger. O comportamento do patógeno foi realizado através da epidemiologia descritiva, com registros, observações da doença e os possíveis fatores causais. Além das variáveis climáticas monitoradas, os graus dia (GD) foram calculados. A severidade do oídio entre os tratamentos foi avaliada através da escala diagramática. As variáveis climáticas e a severidade foram comparadas e organizadas pela tabela modificada de Mills e o modelo de previsão obtido, através do software *Minitab*[®] em regressão múltipla. Conclui-se que a espécie causadora é a *Podosphaera pannosa* e já presente em outras regiões do país e do mundo. Através da epidemiologia descritiva, pode-se observar que o jardim clonal com teto coberto teve a maior severidade da doença comparado com céu aberto. O clone I144 foi o que apresentou maior severidade, se comparado com os outros clones. A variável pluviosidade e temperatura média foram as mais atuantes, comparadas às outras variáveis para a ocorrência do inóculo inicial. A tabela de Mills modificada apresentou informações para o controle do oídio, na ocorrência de pluviosidade nula, temperaturas médias entre 10 e 25°C, horas de molhamento foliar variáveis, PAR de 1 a 9 e o GD entre 7 e 24. Todos os clones apresentaram equações de previsão com R² e correlações com boa precisão, apresentando serem equações confiáveis para a previsão do oídio em viveiro.

Palavras-chave: *Podosphaera pannosa*. Doenças fúngicas. *Eucalyptus* spp. Variáveis climáticas. Modelo de previsão.

ABSTRACT

The planted area of forest species in Brazil represents 6.9% of industrial GDP. Its use and purposes are diverse, among them sawmill, rolling mill, coal and cellulose. Due to this diversity of uses, in 2018, they already totaled 7.8 million hectares of eucalyptus and pine, with 5.7 million hectares of eucalyptus alone, maintained stabled compared to the year 2017. The growing pure plantations, the so-called groves, brought some problems related to occurrence of pests and diseases, among them the one caused by powdery mildew, with importance in nurseries. The present work aimed to identify the pathogen by morphology and molecular analysis, as well as to understand the behavior and to elaborate models of disease prediction. The experiment was conducted at the Forest Nursery of the Department of Forestry Science at the Faculty of Agricultural Sciences of São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho", in Botucatu, São Paulo and started in May 2018 and finished in May 2019. The conditions used were covered and uncovered, with four treatments (I144, IPB13, IPB2 and toreliodora), composed of three repetitions. The monitored climatic variables were the temperature, the relative humidity, the rainfall and photosynthetically active radiation (PAR), with hourly data collected and severity assessed weekly. The identification of the pathogen was performed by a stereomicroscope, DNA extraction, PCR with primers ITS1 and ITS4 and Sanger sequencing. The pathogen's behavior was carried out through descriptive epidemiology, with records, observations of the disease and possible causal factors. In addition to the monitored climatic variables, the degrees day (GD) was calculated. The severity of powdery mildew between the treatments was evaluated with diagramatic scale. The climatic variables and severity were compared and organized according to the Mills table model and the proposed forecast model, using the software *Minitab*[®] in multiple regression. It is concluded that the symptom in eucalyptus culture is the specie *Podosphaera pannosa* and also present in other regions of the country and the world. Through descriptive epidemiology, it can be observed that the covered condition had the greatest severity when compared to the uncovered condition. The clone I144 showed the highest severity comparing to the other clones. The rainfall and average temperature variables were more actives than the other variables for the occurrence of the initial inoculum. The modified Mills table presented information for the control of powdery mildew, in the occurrence of zero rainfall, average temperatures between 10 and 25°C, variable leaf wetness, PAR from 1 to 9 and the GD from 7 to 24. All clones presented prediction equations with R² and correlations with good precision, presenting reliable equations in the field application.

Keywords: *Podosphaera pannosa*. Fungal diseases. *Eucalyptus* spp. Climatic variables. Prediction model

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vista aérea do experimento do localizado no viveiro da Faculdade de Ciências Agronômicas - FCA, Câmpus de Botucatu.....	35
Figura 2 - Croqui do experimento do viveiro de eucalipto representando os blocos e os clones I144 (C1), IPB 13 (C2), IPB 02 (C3) e "Toreliodora" (C4).	35
Figura 3 - Avaliação da severidade do oídio no terço médio das plantas do eucalipto	36
Figura 4 - Estação metereológica para coleta de dados metereológicos na área com teto coberto.....	37
Figura 5 - Morfologia do conídio e conidióforos do oídio A) Conídios em diferentes formatos B) Conidióforo C) Tamanho do conídio D) Conidióforo em cadeia com visualização em lupa na superfície foliar E) Conidióforo em microscopia com 10x de aumento.....	40
Figura 6 - Árvore filogenética da região ITS da espécie <i>Podosphaera pannosa</i> de <i>Eucalyptus</i> sp., <i>Rosa</i> sp., <i>Prunus</i> sp. e <i>Catharanthus</i> sp. O <i>Cystotheca lanestrís</i> foi usado como outgroup e a sequência do estudo em destaque...	42
Figura 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) do oídio do eucalipto nas condições a céu aberto e teto coberto	43
Figura 8 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) nos clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora.....	43
Figura 9 Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) em cada clone, em condições de teto coberto e a céu aberto	45
Figura 10 - Severidade em função das variáveis climáticas de temperatura média (°C) e umidade relativa superior a 90% (HM) na condição a céu aberto nos clones IPB2, I144, IPB13 e Toreliodora	47
Figura 11 - Severidade em função das variáveis climáticas de temperatura média (°C) e umidade relativa superior a 90% (HM) na condição com teto coberto nos clones IPB2, I144, IPB13 e Toreliodora.....	48
Figura 12 - Severidade em função do graus dia em condição a céu aberto nos clones IPB2, I144, IPB13 e Toreliodora.....	49
Figura 13 - Graus dia em condição com teto coberto comparadas com a severidade nos clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora.....	50

Figura 14 - Precipitação média mensal entre os meses de maio de 2018 e maio de 2019	50
Figura 15 - Variáveis climáticas de temperatura mínima (°C), média (°C) e máxima (°C), e precipitação no dia da avaliação (mm), em condição a céu aberto, comparadas com a severidade nos clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora	51
Figura 16 - Variáveis climáticas de temperatura mínima (°C), média (°C), máxima(°C) e precipitação semanal (mm) em condição a céu aberto, comparadas com a severidade nos clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora	52
Figura 17 - Fluxograma com base no clone I144 e modelo de previsão para os clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora em condição a céu aberto	56
Figura 18 - Fluxograma com base no clone I144 e modelo de previsão para os clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora em condição com teto coberto.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -Hospedeiro, localização, número de acesso no genbank, referência do material do <i>Podospaera pannosa</i> e outgroup <i>Cystotheca lanestris</i> (Tabela modificada de Fonseca et al., 2017)	33
Tabela 2 - Características morfológicas do oídio do eucalipto.....	40
Tabela 3 - Tabela modificada de Mills para tomada de decisão do controle do oídio em condição a céu aberto	54
Tabela 4 - Tabela modificada de Mills para tomada de decisão do controle do oídio em condição com teto coberto	54
Tabela 5 - Tabela simplificada de Mills das médias dos 3 dias para o controle do oídio em condição a céu aberto	55
Tabela 6 - Tabela simplificada de Mills das médias dos 3 dias para o controle do oídio em condição com teto coberto.....	55
Tabela 7 - Equações e coeficientes de determinação (R^2) obtidas em regressão múltipla, para dados de severidade de <i>Podospaera pannosa</i> no eucalipto em função das variáveis climáticas em condição a céu aberto.....	59
Tabela 8 - Equações e coeficientes de determinação (R^2) obtidas em regressão múltipla, para dados de severidade de <i>Podospaera pannosa</i> no eucalipto em função das variáveis climáticas em condição com teto coberto.....	59
Tabela 9 - Equação da média dos clones na condição com teto coberto e a céu aberto para determinar a severidade	61

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	OBJETIVO GERAL	20
2.1	Objetivos específicos	20
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
3.1	Características gerais da cultura do eucalipto	21
3.2	Oídio do eucalipto	21
3.3	Caracterização molecular de patógenos fúngicos	24
3.4	Métodos de controle do oídio.....	25
3.5	Epidemiologia descritiva	26
3.6	O uso do graus-dia no estudo epidemiológico	27
3.7	Sistema de previsão de doenças	28
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1	Caracterização morfológica e molecular do fungo	31
4.2	Caracterização da área de estudo.....	34
4.3	Coleta dos dados climáticos	36
4.4	Fórmulas para o cálculo da AACPD e graus dia (GD).....	37
4.5	Análises estatísticas	38
4.6	Tabela modificada de Mills e Fluxograma.....	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	Morfometria e caracterização molecular do patógeno	40
5.2	Epidemiologia descritiva	42
5.2.1	Comportamento da doença em condições com teto coberto e a céu aberto no período de avaliação	42
5.2.2	Severidade do oídio em função das variáveis climáticas.....	46
5.3	Tabela modificada de Mills	52
5.4	Fluxograma e Modelos de previsão	56
6	CONCLUSÕES	62
	REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

As florestas plantadas de eucalipto estão localizadas, principalmente, no sudeste e centro-oeste do Brasil, sendo o estado de Minas Gerais cobrindo 24% da área total plantada com a eucaliptocultura, seguido pelo estado de São Paulo, com 17% e do Mato Grosso do Sul, com 16% (IBÁ, 2019). Dada a importância da cultura no país, as doenças como o oídio, podem afetar no desempenho e na produtividade, desde a fase inicial em jardim clonal até a fase de mudas adultas.

Oidium sp. é um fungo biotrófico que apresenta pulverulência micelial e conidial desenvolvido profusamente na superfície das folhas dos hospedeiros (ROBERTS; BOOTHROYD, 1975; ALEXOPOULOS, 1996). Quando ocorre somente na face inferior da folha apresenta uma mancha clorótica na face oposta, podendo causar desfolha intensa em condições de viveiro. Apesar de não matar os hospedeiros, usa seus nutrientes para se desenvolver, além de causar sintomas de redução do crescimento e produção da planta, deformação e enrugamento das folhas (AGRIOS, 2005; SANTAROSA; JÚNIOR; GOULART, 2014).

Reis (2013) relatou a existência de dois gêneros fúngicos causando sintomatologias de oídio, o *Oidium* e o *Oidiopsis*, gerando a necessidade de renomeá-los de modo a obter-se a correta identificação do agente causal. Com isso, é necessário descobrir uma abordagem mais técnica para a identificação rápida de espécimes fúngicas, sugerindo novas hipóteses e orientando a biodiversidade, estudos ecológicos e epidemiológicos adequados.

Além da identificação correta do patógeno, o monitoramento da doença ao longo do tempo e no espaço são fundamentais para o manejo integrado de doenças, contínuo e preciso (CARDOSO *et al.*, 2006). A existência e o progresso das doenças em populações são essenciais para a estimativa de danos e utilização de métodos de controle de forma integrada ou racional (PINTO, 2014). Como resultado, pode-se obter menor número de aplicações de produtos químicos ou alternativos no controle das doenças, mais cuidados com o meio ambiente, mais economia e, conseqüentemente, maior renda ao produtor.

2 OBJETIVO GERAL

Identificar a espécie de oídio que ocorre na cultura do eucalipto e elaborar tabela modificada de Mills, fluxograma e modelos de previsão da doença para quatro clones comerciais.

2.1 Objetivos específicos

- a) Caracterizar o fungo oídio através de parâmetros morfológicos e moleculares.
- b) Apresentar a sazonalidade de cada clone em epidemia sob condições ambientais a céu aberto e com teto coberto com plástico difusor de polietileno.
- c) Elaborar tabelas a partir da tabela de Mills e fluxograma para as duas condições ambientais.
- d) Desenvolver modelos de previsão da doença para auxiliar o produtor a iniciar as medidas preventivas de controle em viveiros de eucalipto, em diferentes materiais genéticos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Características gerais da cultura do eucalipto

A cultura do eucalipto (*Eucalyptus* spp.) apresenta importância mundial há mais de 100 anos. Em 1824, as primeiras mudas chegaram ao Brasil como plantas ornamentais (BERTOLA, 2013; MARCHIORI, 2014). Em 1904, estudos mais aprofundados visavam atender à demanda da construção de estradas de ferro. E desde então, a cultura deixou de ser apenas uma espécie ornamental e passou a ter múltiplos usos para a construção e produtos gerados, como papel, celulose, lenha, carvão, óleos para indústrias farmacêuticas, mel, quebra-vento, entre outros. Além disso, possui boa adaptação ao país e contribui para o aumento da economia nacional, considerando-se que o Brasil é o segundo maior produtor mundial de celulose, com produção de 21,1 milhões de toneladas e o oitavo em papel, com 10,4 milhões de toneladas (IBÁ, 2019).

O eucalipto pertence à divisão Angiospermae, classe Dicotyledonea, ordem Myrtales, Família Myrtaceae e gênero *Eucalyptus*, possui cerca de 700 espécies, sub-espécies e híbridos (SANTOS; CARVALHO FILHO; MARTINS, 2008; BERTOLUCCI *et al.*, 1995; FOELKEL, 2007; PIRES *et al.*, 2014). As principais espécies plantadas são a *Eucalyptus globulus* e a *Eucalyptus grandis* e seus híbridos *E. urophylla*, *E. viminalis* e *E. dunnii* (SANTOS; AUER; JUNIOR, 2001). As poucas espécies plantadas no Brasil se devem as características de bom desempenho e produtividade atingidos até o momento (COTTERILL; BROLIN, 1997; SANTOS; AUER; JUNIOR, 2001).

Devido a sua importância econômica, a produção deve ser mantida constante, porém, infecções transmitidas por patógenos podem surgir em várias fases de seu desenvolvimento, desde o viveiro até os plantios adultos. Exemplos de doenças em mudas de eucalipto são o oídio, o tombamento, o mofo cinzento, a podridão de estacas, a ferrugem e as manchas foliares (SANTOS; AUER; JUNIOR, 2001; GOMES *et al.*, 2019).

3.2 Oídio do eucalipto

O fungo causador da doença oídio pertence ao gênero *Oidium*, *Oidiopsis* ou *Ovulariopsis* e apesar de ser considerado em algumas culturas uma doença

secundária, começou a demonstrar importância na atualidade por estar presente em muitos sistemas de cultivo protegido. Atualmente, este patógeno ocorre em todas as regiões do mundo como uma das principais doenças de plantas, em diferentes intensidades e ampla gama de espécies de gramíneas, ornamentais, olerícolas, frutíferas e florestais (STADNIK; RIVERA, 2001; BEDENDO, 2011).

O oídio é o nome dado para o agente causador pertencente ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Leotiomycetes, Ordem Erysiphales e Família Erysiphaceae (STADNIK; RIVERA, 2001). Os principais sinais são revestimento ralo de coloração branco acinzentado e pulverulento sobre o limbo foliar, composto de micélio, conídios e conidióforos do patógeno (PINTO *et al.*, 2014). Ainda podem estar na forma isolada, identificada pelas estruturas do patógeno em folhas, ramos novos, gemas e frutos (CARDOSO *et al.*, 2012; BEBENDO, 2018). Ao microscópio, observam-se hifas emitindo conidióforos eretos e hialinos, conídios produzidos em cadeia basipetal, oblongos a ovais, unicelulares, com dimensões variando entre 13-20 μm e 21-36 μm (AUER *et al.*, 2016; BEDENDO, 2011). Os sintomas na parte abaxial das folhas são lesões verde-clara a amarelo intensa, podendo formar pontos necróticos e anéis concêntricos. Nas brotações e gemas, quando não há morte, apresentam as folhas com limbo enrugadas, afilado e uma metade mais estreita que a outra. O ataque severo retorce as folhas e há queda de flores, frutos e folhas, morte de ramos novos e desenvolvimento limitado da planta (BEDENDO, 1995). Quando as estruturas do patógeno se encontram ressecadas, observam-se lesões de cor castanha, dispersas e de forma não regular (FERREIRA, 1997). Em plantios jovens de eucalipto, de até 1 ano de idade, o oídio pode provocar envassouramento e redução de crescimento em plantas com alta severidade. O sintoma de envassouramento foi relatado nas espécies *Corymbia citriodora*, *Eucalyptus benthamii*, *Eucalyptus dunnii* e *Eucalyptus grandis* (SANTAROSA; JÚNIOR; GOULART, 2014).

De acordo com Bedendo (2018), há uma redução de produção de até 40% em consequência do ataque pelo patógeno. As perdas podem atingir altos níveis se a doença não for controlada imediatamente em viveiros, estufas e condições de campo (BIZI, 2006). Agrios (2005) relatou que o oídio não mata o hospedeiro, porém retira dele nutrientes, reduz a fotossíntese, aumenta a respiração e a transpiração, diminui o crescimento da planta e a produção do vegetal.

Os oídios são parasitas biotróficos obrigatórios e adaptam-se constantemente ao hospedeiro para obtenção de nutrientes, formando haustórios no interior das células sem matar as plantas. (STADNIK; RIVERA, 2001). A infecção do *Oidium* inicia-se quando o conídio (esporos formados através da mitose nas extremidades dos conidióforos) chega na superfície da folha. Este forma um tubo germinativo curto, do qual os conídios do patógeno germinam na superfície foliar, formando o apressório que penetra nas células epidérmicas. Na face inferior do apressório há o grampo de penetração, onde o patógeno penetra na célula epidérmica do hospedeiro (KUNOH *et al.*, 1996; TAKAHASHI *et al.*, 1985; CARVER *et al.*, 1995). O patógeno forma então o haustório no interior das células do hospedeiro com o talo fúngico na parte externa da planta, para assim realizar as funções de parasita (STADNIK, 2001). Na superfície foliar, há o crescimento micelial em forma de colônias e estas colônias formam diversos haustórios que retiram nutrientes das células epidérmicas e mesofílicas, produzindo os conidióforos e conídios (AGRIOS, 2005; BEBENDO, 2018).

O ambiente pode influenciar o ciclo e as atividades do patógeno, assim como a interação entre a planta hospedeira e o patógeno. O oídio, depende de alta ou baixa umidade, clima frio ou quente e condições sem precipitação. As diversas condições climáticas são devido aos esporos liberarem, germinarem e infectarem a planta, sem a necessidade de água (AGRIOS, 1998).

De maneira geral, o oídio apresenta condições favoráveis em temperaturas entre 18°C e 22°C, mesmo o esporo germinando nas folhas entre 6°C e 33 °C e apresentar melhor germinação e crescimento do micélio entre 21°C e 30°C (OLIVEIRA, 1999). O micélio é a principal fonte de inóculo, pois sobrevive durante o inverno nas gemas (GARRIDO; SÔNEGO, 2003; BEDENDO, 2011).

Outra condição favorável é o molhamento foliar, representado pela UR acima de 90%, que corresponde ao período de tempo que a parte aérea da planta permanece molhada (SUTTON *et al.*, 1984). A umidade favorável para o patógeno é geralmente alta, mas também pode ocorrer com umidade relativa baixa, sem a formação do filme de água na folha (AGRIOS, 1988). No trabalho realizado por Oliveira (1999), as temperaturas entre 20°C e 25°C e baixa umidade, favoreceram o ataque de oídio em feijão. Para outros pesquisadores, quando há o molhamento foliar intenso, o oídio perde a viabilidade e a germinação devido à formação do filme de água na superfície (REIS, 2004; CARVER, 1988; STADNIK; RIVERA, 2001).

A radiação solar varia em ambientes protegidos e a céu aberto. Em ambientes protegidos, ocorre a reflexão e absorção da energia radiante, sendo menor a radiação (CARDOSO *et al.*, 2010; FARIAS *et al.*, 1993). A radiação fotossinteticamente ativa (PAR – do inglês Photosynthetically Active Radiation) é um fator essencial para a penetração e formação de conídios. Em sistema de cultivo protegido de videira, a temperatura aumenta enquanto a PAR diminui, reduzindo a severidade de oídio em duas aplicações nesse sistema e dezessete aplicações em sistema aberto (CHAVARRIA *et al.*, 2007).

A disseminação depende do contato entre plantas doentes e sadias, PAR, temperatura, precipitação, evapotranspiração, condensação de água, umidade relativa e vento (AUST; HOYNINGEN-HUENE, 1986; BIZI, 2006).

3.3 Caracterização molecular de patógenos fúngicos

A necessidade de um sistema eficiente de identificação em nível de espécie poderia favorecer o entendimento de doenças e monitorar os padrões espaciais e temporais das distribuições e migrações. O motivo é o comércio internacional, as vias de transporte e a movimentação humana aumentarem os riscos de introdução e disseminação de insetos infestantes, ervas daninhas e doenças infecciosas nas plantas. Somente os fungos representam um total de 50% das doenças fitopatogênicas. Mundialmente, são mais de 700 espécies de fungos na lista de doenças quarentenárias, e os principais gêneros são *Phytophthora*, *Fusarium*, *Gymnosporangium*, *Puccinia*, *Cronartium*, *Mycosphaerella*, *Phoma*, *Diaporthe*, *Peronosclerospora* e *Tilletia* (GAO; ZHANG, 2013; XU; ADAMOWICZ, 2016).

A região de identificação dos fungos é o espaçador transcrito interno (ITS - do inglês Internal transcribed sequence) do DNA ribossômico (SCHOCH *et al.*, 2012). Com cerca de 600 pares de base (pb) de comprimento, possui dois espaçadores variáveis, os chamados ITS-1 e ITS-2, que são separados pelo gene 5,8S, regiões altamente conservadas (WHITE *et al.* 1990). A região ITS é flanqueada pelo gene 18S rRNA, na extremidade do espaçador 5' ITS-1 e pelo gene 28S rRNA, no espaçador 3' ITS-2. Os genes 18S, 5.8S e 28S rRNA são altamente conservados e permitem que “primers universais” amplifiquem o ITS-1, ITS-2 ou toda a região ITS.

A região nuclear de rDNA ITS que inclui o 18S (subunidade pequena), ITS1, ITS2 e rRNA 28S (subunidade grande) são amplificados pela reação em cadeia da

polimerase (PCR) usando primers ITS1 e ITS4. Os amplificadores de PCR são expostos a eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão TAE (Tris-Acetato-EDTA). A banda desejada é observada sob luz ultravioleta de comprimento de onda longa (KOVÁCS; JANKOVICS; KISS, 2011; SZENTIVANYI *et al.*, 2005). O método comumente utilizado para diagnosticar doenças em plantas é o sequenciamento de Sanger. Este método consiste em copiar o DNA alvo repetidamente, para produzir fragmentos com diferentes comprimentos. Os nucleotídeos terminadores de cadeia emitem fluorescência para marcar os finais dos fragmentos e a sequência definida. Após o sequenciamento, este é comparado com as sequências disponíveis no banco internacional de sequências no genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), realiza-se o BLASTn e identifica-se a espécie (ALTSCHUL *et al.*, 1990).

3.4 Métodos de controle do oídio

O controle de doenças compreende em manter os agentes em níveis economicamente toleráveis e relacionar a biologia do patógeno ao hospedeiro, pois o controle será mais efetivo com a diminuição dos danos da doença na produção e consequente redução das perdas financeiras (MIZUBUTI; MAFFIA, 2006; KIMATI; BERGAMIN FILHO, 1995). Este controle é comumente usado com pesticidas e de forma calendarizada, com aplicação semanal ou quinzenal, pois em sua maioria, a agricultura convencional busca um retorno econômico rápido e de fácil aplicação (KIMATI *et al.*, 1997; BIZI, 2006). Porém, nem sempre é eficiente e ecológica a erradicação total da doença, mas desejável manter em limites baixos para não haver perdas (MIZUBUTI; MAFFIA, 2006).

No site da AGROFIT (www.agrofit.agricultura.gov.br), há quatro ingredientes ativos registrados para o controle de oídio em eucalipto: azoxistrobina + difenoconazol (200L/ha ou 20mL/m²), difeconazol (200L/ha ou 20mL/m²) e piraclostrobina + metconazol (300L/ha ou 30mL/m²).

O produto composto de tebuconazole + trifloxistrobim (1,0mL/L) apresenta eficiência no controle da doença em mudas de eucalipto (BARBOSA, 2015). Outra técnica é o controle realizado com pulverização semanal e quinzenal em mudas de *Corymbia citriodora* no viveiro com triadimenol (50g/100L) (FERREIRA; MILANI, 2002).

Mesmo havendo eficiência dos produtos químicos, a seleção de linhagens resistentes do oídio, custos de produção, a contaminação humana e ambiental são os maiores desafios (BETTIOL, 2004; PAULA JÚNIOR *et al.*, 2005). Logo, os controles alternativos tem sido empregados, como o uso de extratos de plantas de *Gingko biloba* a 10%, óleos essenciais de plantas da flora nativa, microrganismos, biofertilizantes, solução de bicarbonato de sódio e suspensões de bacilos em extrato de esterco (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2000; CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003; AUER *et al.*, 2016). O leite cru de bovinos mostrou-se eficiente em pulverizações semanais na concentração entre 10 e 20% (BIZI *et al.*, 2005), na cultura adulta e em minicepas, porém, as concentrações entre 5 e 50% podem causar fitotoxidez e favorecer a fumagina causada por *Cladosporium* spp. (ALFENAS, 2009). A irrigação por aspersão realizada pela manhã, sob diferentes lâminas de água, reduziu a severidade do oídio com maiores lâminas de água aplicada na cultura de ervilha (OLIVEIRA, 1999).

3.5 Epidemiologia descritiva

A epidemiologia descritiva é uma abordagem para comparações diretas. Estas comparações são deduções, conformidade com conceitos preexistentes e visuais. A partir destas abordagens, podem ser elaboradas análises estatísticas e estabelecidos objetivos para comparações de experimentos.

Zadoks (1979) observou que resultados, observações ou experiências levam às hipóteses através de deduções. A partir das noções básicas, Vanderplank introduziu conceitos matemáticos na epidemiologia. Exemplos de conceitos são as taxas de infecção, equações diferenciais para descrever o crescimento epidêmico e os modelos epidemiológicos (VANDERPLANK, 1982).

A conformidade com conceitos preexistentes refere-se à comparação do fenômeno observado com a teoria. A epidemiologia estudada é comparada à teoria de doença monocíclica ou policíclica para entender o ciclo de vida do patógeno. Com as informações obtidas, é possível observar o período de infecção, taxa de infecção e ainda se as funções das curvas de progresso da doença estão adequadas matematicamente. Dependendo do patossistema é necessário o ajuste e escolha do melhor modelo ou a criação do modelo mais adequado. Por exemplo, a epidemia melhor explicada para a crosta da maçã causada pela *Venturia inaequalis*,

tem a função de Bertalanffy e Gompertz como as mais utilizadas e da meleira do mamoeiro causada pelo *Papaya meleira virus*, o modelo de Gompertz com melhor ajuste (ANALYTIS, 1973; COSMI *et al.*, 2017).

As comparações visuais são realizadas pela plotagem simples de curvas de progresso das doenças, através de coleta de dados no campo ou laboratorial e a tabulação de dados. Após a obtenção dos resultados, utilizam-se funções matemáticas para validação das hipóteses, como por exemplo, o progresso logístico da epidemia (AMORIM *et al.*, 1995).

Em geral, a epidemiologia descritiva é a primeira parte de uma investigação epidemiológica, com registros, observações das doenças e os possíveis fatores causais.

3.6 O uso do graus-dia no estudo epidemiológico

O graus-dia (GD) ou tempo térmico é uma variável de uso na epidemiologia. Entende-se por GD como o acúmulo de unidades de calor acima de uma temperatura base-limite em um período de 24 horas. Na epidemiologia, o GD é usado para determinar taxas de colonização, crescimento e desenvolvimento de microrganismos com influência da temperatura (REAUMUR, 1735; BONHOMME, 2000). Como exemplo, essa variável foi aplicada para modelar o crescimento e desenvolvimento do patógeno *Mycosphaerella graminicola* em trigo e *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae* no antúrio (FUKUI *et al.*, 1999).

Para a criação de modelos de previsão de doenças que utilizam variáveis de temperatura, o GD agrega informações de início e extensão da doença. A pesquisa realizada por Xu (1999a), com o *Podosphaera leucotricha* em maçã e por Pfender (2003), com *Puccinia graminis* f.sp. *graminicola* (ferrugem do caule) são exemplos do sucesso de uso e predição. Essas doenças manifestam-se o ano todo e dados de temperatura das estações, por si só, não são suficientes para explicar sua ocorrência. O GD contribui para o entendimento do acúmulo de calor para seu surgimento, progressão ou desaparecimento da doença no hospedeiro.

A importância de seu uso está na contribuição de observações e comparações mais significativas na epidemiologia, principalmente para doenças policíclicas (LOVELL, 2004). Os parâmetros epidemiológicos observados, como o inóculo inicial e a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) tornam-se

não confiáveis quando o GD não é calculado. Adicionalmente, as doenças policíclicas demandam avaliações por um longo período de tempo e que podem variar ao longo das mesmas estações. O cálculo de GD assume tendência linear ou logística, de acordo com o tempo térmico e não através do tempo físico, como as temperaturas diárias registradas naquela estação (LOVELL, 2004).

O cálculo para estimar o GD é através da equação:

$$\frac{\text{Temperatura máxima} + \text{Temperatura mínima}}{2} - \text{Temperatura base}$$

As temperaturas máxima e mínima são referentes ao dia da avaliação e a temperatura base é aquela que, abaixo de uma temperatura, o crescimento do patógeno cessa e, portanto, o acúmulo do GD também cessa. A temperatura base normalmente é fixada em 0°C, quando a taxa de desenvolvimento no sistema é linear com o aumento da temperatura. Quando a temperatura base é diferente de 0 °C, estima-se através do limite mais baixo para atividades biológicas, como a infecção e esporulação. Xu e colaboradores (1999b) observaram que a temperatura mínima, ótima e máxima para o crescimento do oídio da família Erysiphaceae eram de 3 °C, 21 °C e 33 °C, logo, temperatura base de 3 °C. Com base nessas temperaturas, são necessários até 24 GD em um dia, para que haja manifestação do patógeno.

O GD também diminui erros nos dados quando são coletados as folhas para avaliação, sendo as superiores do dossel com maiores radiações diretas do que as inferiores, com radiações difusas. Em geral, o GD identifica momentos importantes para o controle do desenvolvimento de epidemias e evita erros quando os locais experimentais diferem em seus perfis de temperatura e medidas diariamente.

3.7 Sistema de previsão de doenças

Com o objetivo de orientar os agricultores na tomada de decisão, relacionada a quando aplicar um determinado produto químico ou natural, o sistema de previsão é fundamental no controle das doenças. Além disso, o sistema de previsão visa prever o início da infecção e a evolução da doença de acordo com o clima, a cultura estudada e o patógeno (REIS, 2004).

O sistema de previsão baseia-se em variáveis climáticas regionais como a

temperatura do ar, GD, radiação fotossinteticamente ativa (PAR), precipitação e horas de molhamento foliar (HM), estabelecendo assim os níveis de severidade de doenças (COSTA *et al.*, 2002; GARCIA-MOZO, 2011; GENT; SCHWARTZ, 2003). No caso dos biotróficos, estes infectam os hospedeiros com períodos relativamente curtos de molhamento. Como exemplo, os agentes causais dos oídios podem infectar os hospedeiros na ausência de molhamento foliar (BEDENDO, 2018).

Para o sistema de previsão de doenças ser eficiente, deve-se ter a confiabilidade dos dados climáticos, simplicidade do sistema, importância da doença para ser estudada, utilidade ao agricultor, operacionalidade, no que tange a acessibilidade, economia para o produtor e aplicabilidade em outras doenças (BEDENDO, 2018).

Conforme Fernandes e colaboradores (2007), os dados da ecologia do patógeno e da epidemiologia da doença, em campo ou em estufa, podem ser utilizados para a elaboração de modelos lógicos e matemáticos. Logo, o modelo apresentará uma dada variável em progresso ao longo do tempo. A técnica utilizada seria o monitoramento do inóculo e sua quantificação.

De acordo com Reis (2004), os equipamentos necessários para monitorar a doença oídio são radiômetros, termo-higrógrafos e pluviômetros. Os sensores devem ser mantidos num abrigo para evitar radiação direta e excesso de água, com acesso livre para circulação de ar. Os sensores devem ser vistoriados com frequência durante períodos de ventos fortes.

Guzman-Plazola (2003) estudou os dados diários da temperatura máxima, média e umidade relativa que influenciavam na severidade da doença oídio em tomate. Os critérios para o seu estudo foram $T > 27,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, número de horas de $27,5 \leq T \leq 32,4\text{ }^{\circ}\text{C}$, número de horas com $5 \leq HM \leq 10$, número de horas de $17,5 \leq HM \leq 22,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $UR \geq 40\%$ e número de horas com $T \geq 32,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. As condições apresentadas foram classificadas como favoráveis, moderadas ou não favoráveis ao desenvolvimento da doença. Num período de 24 horas, foram registrados e inseridos numa função discriminante linear, a qual apresentou a devida classificação.

O modelo da tabela de Mills também auxilia no entendimento da severidade e previsão de doenças, mencionando períodos críticos e a evolução do patógeno relacionados às variáveis climáticas ideais. A temperatura, número de horas de molhamento foliar e precipitação estão relacionados à infecção do patógeno (MILLS;

LAPLANTE,1954). A tabela proposta por Mills foi desenvolvida para a previsão da infecção da sarna da macieira, de acordo com as condições favoráveis. Para o patógeno *Venturia inaequalis*, observa-se maior incidência na presença de água livre e a atuação por período variável conforme a temperatura (MILLS, 1944). Com observações da severidade ao longo de um período estabelecido e satisfeitas as condições, é elaborado um sistema que indica o clima favorável ao patógeno e que deve ser feita a pulverização preventiva. A tabela de Mills também é usada como modelo para outras doenças. Na podridão da batata causada pela *Phytophthora infestans*, os dados utilizados são a precipitação superior a 30 mm por 10 dias consecutivos e temperatura de 7,2°C a 25,5 °C por 5 dias. Para a pinta preta do tomateiro, causada por *Alternaria solani*, os dados usados são a temperatura média no período noturno, enquanto que o estudo do míldio da videira, causada pela *Plasmopara viticola*, baseia-se em dados de temperaturas mínimas e precipitação para a ocorrência da doença (ANGELOTTI *et al.*, 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização morfológica e molecular do fungo

A identificação do patógeno foi realizado no Laboratório de Patologia Florestal e Microbiologia do solo no Departamento de Proteção Vegetal e no Departamento de Genética do Instituto Biológico da UNESP. A identificação do gênero e espécie foi realizado através da caracterização morfológica e molecular. Com a remoção superficial do patógeno com o auxílio de fita adesiva, foram avaliadas as estruturas fúngicas de 50 conídios e conidióforos em microscopia de luz com aumento de 40x; presença ou ausência de corpos de fibrosina; natureza da conidiogênese; características do conidióforo, comprimento e largura da célula, posição do septo basal; formato do conídio e dimensões segundo Stadinik (2001).

As amostras foram coletadas a partir de folhas sintomáticas, os esporos raspados com um pincel esterilizado e a concentração dos esporos obtidos através da filtragem em papel filtro com água destilada e posterior secagem em estufa. Os filtros foram cortados e colocados em microtubos de 2mL.

A técnica de extração do DNA utilizado foi o CTAB 10% de Doyle e Doyle (1987) com modificações. Cerca de 20mg de esporos foram macerados em nitrogênio líquido como etapa de rompimento das paredes e membranas celulares mantendo-os em microtubos. Em cada microtubo foram adicionados 700 μ L de solução de extração CTAB (2%) com PVP e 2 μ L de β mercaptoetanol por mL, em capela de exaustão a solução foi homogeneizada para que toda a solução entrasse em contato com o material. Após a adição, foi realizada a agitação em vórtex por 1 minuto e as amostras incubadas em banho-maria a 65°C, por 30 minutos como etapa da lise. Após o resfriamento do tubo foi realizada a primeira extração, com 700 μ L de clorofórmio-álcool-isoamílico (CIA 24:1 v/v) e agitação no vórtex como etapa de purificação. Então, foi centrifugado por 5 minutos a 12000 rpm a 10°C, separando-se a fase orgânica e aquosa. A fase aquosa (sobrenadante) foi retirada e transferida para um novo microtubo, como etapa de purificação da amostra. Adicionou-se 50 μ L de CTAB 10% em cada tubo e homogeneizou-se levemente. As amostras foram novamente submetidas à centrifugação por 10 minutos a 12000 rpm, obtendo-se a separação em duas fases. O sobrenadante foi cuidadosamente retirado e transferido para um novo microtubo, onde se adicionou 400 μ L de álcool isopropílico como a etapa de precipitação do DNA. Nessa etapa o material poderia

ser mantido congelado em $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou incubados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos. Em seguida, centrifugou-se por 5 minutos a 12000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o precipitado (pellet) lavado com 500 μL de etanol a 70 % por 5 minutos, duas vezes consecutivas e uma vez com etanol a 95% por 5 minutos. O pellet foi seco na estufa e após a secagem, adicionou-se 100 μL RNase na concentração de 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ por 1 hora a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 10 minutos a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, como etapa de ressuspensão da amostra. As amostras foram acondicionadas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ para uso posterior.

Após a extração do DNA genômico, foi realizada a quantificação do DNA obtido com Nanodrop[®], da Thermo Scientific. O resultado obtido com o uso de 1 μL do DNA foi diluído para 30 ng/ μL .

As reações de PCR ocorreram de acordo com o trabalho de Takamatsu e Kano (2000). O volume do material para PCR totalizou em 15 μL . Os volumes utilizados para a reação foram 1 μL de DNA a 30 ng, 7,5 μL da Gotaq, 5,9 μL de água ultrapura autoclavada e 0,3 μL de primers ITS1 e ITS4 de cada um dos oligonucleotídeos iniciadores (Tabela 1).

A amplificação no termociclador foi programada de acordo com a literatura (MORI *et al.*, 2000). A desnaturação inicial foi conduzida a 94°C por 4 minutos, seguida de 34 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, amplificação a 60°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 10 minutos, com finalização da extensão por 5 minutos.

A confirmação da amplificação foi visualizada no gel e, posteriormente, no transiluminador. Os produtos da PCR no volume de 7 μL , juntamente com o tampão de carregamento na metade do volume da amostra, foram colocados em gel de agarose a 1%, 120 Volts, durante 60 minutos. Os géis foram visualizados sob luz ultravioleta e o tamanho dos fragmentos do mesmo padrão molecular de 1kb Plus DNA Ladder (Invitrogen). A reação ocorreu adequadamente quando a amplificação da região do DNA foi próxima a 600 pares de base (pb).

Após o resultado obtido da eletroforese, realizou-se o sequenciamento das amostras, com os mesmos primers utilizados nas reações de PCR. O sequenciamento pelo método de Sanger foi realizado no Instituto de Biotecnologia da Unesp/Botucatu (IBTec). As sequências foram editadas utilizando o software Geneious (Bioinformatic Software for Sequence) e comparadas com as sequências disponíveis no GenBank com Blastn no *National Center for Biotechnology Information* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (ALTSCHUL *et al.*, 1997).

A árvore filogenética baseou-se na sequência ITS do *Podosphaera pannosa* em diversos hospedeiros, disponíveis no Genbank. As sequências totalizaram em 14, para serem alinhadas com a sequência do isolado de Botucatu (Tabela 1). O *outgroup* escolhido foi o *Cystotheca lanestris*, na fabácea *Quercus agrifolia* (FONSECA *et al.*, 2017). A análise foi realizada com o algoritmo MUSCLE através do programa GENEIOUS, seguido por ajustes manuais. A árvore filogenética foi realizada através da inferência bayesiana usando o programa MrBayes v. 3.1.2 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003). O Critério de Informação de Akaike (AIC) foi utilizado para o modelo de substituição. O algoritmo MCMC (cadeia de Markov acoplada a Metropolis, Monte Carlo) foi aplicado para a probabilidade posterior na distribuição das árvores, com duas cadeias de uma árvore aleatória e 1×10^7 gerações executadas, com remoção de 25% iniciais da árvore. As árvores filogenéticas foram visualizadas com FigTree v.1.3.1 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/>). As bases ambíguas foram codificadas usando os códigos da IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada - do inglês International Union Pure and Applied Chemistry).

Tabela 1 - Hospedeiro, localização, número de acesso no genbank, referência do material do *Podosphaera pannosa* e outgroup *Cystotheca lanestris* (Tabela modificada de Fonseca *et al.*, 2017)

Hospedeiro	Localização	Nº acesso Genbank	Referência
<i>Eucalyptus</i> sp.	Botucatu- SP	MT663533	KUROKAWA, 2020
<i>Rosa</i> sp.	Viçosa - MG	KX355453	FONSECA <i>et al.</i> , 2017
<i>Eucalyptus</i> sp.	Viçosa - MG	KX185528	FONSECA <i>et al.</i> , 2017
<i>Rosa</i> sp.	México	KM001666	FELIX-GASTELUM <i>et al.</i> , 2014
<i>Rosa</i> sp.	México	KM001669	FELIX-GASTELUM <i>et al.</i> , 2014
<i>Catharanthus roseus</i>	Estados Unidos	KF703448	ROMBERG <i>et al.</i> , 2014
<i>Prunus cerasus</i>	França	JN654341	HUBERT <i>et al.</i> , 2012
<i>Rosa</i> sp.	França	DQ139421	LEUS <i>et al.</i> , 2006
<i>Rosa</i> sp.	Alemanha	DQ139425	LINDE; DEBENER, 2003
<i>Rosa</i> sp.	Alemanha	DQ139427	LEUS <i>et al.</i> , 2006
<i>Prunus laurocerasus</i>	Bélgica	DQ139429	LEUS <i>et al.</i> , 2006
<i>Eucalyptus</i> sp.	Austrália	AF298543	CUNNINGTON <i>et al.</i> , 2003
<i>Rosa multiflora</i>	Japão	AB525939	TAKAMATSU <i>et al.</i> , 2010
<i>Rosa rubiginosa</i>	Argentina	AB525937	TAKAMATSU <i>et al.</i> , 2010
<i>Rosa</i> sp.	Japão	AB022348	MORI <i>et al.</i> , 2000
<i>Quercus agrifolia</i>	Sem localização	AB022353	TAKAMATSU <i>et al.</i> , 2000

4.2 Caracterização da área de estudo

O levantamento de doenças foi conduzido no Viveiro Florestal (S 22°51'37" W 048°26'15") do Departamento de Ciência Florestal da Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", em Botucatu, São Paulo, com início em maio de 2018 e encerramento em maio de 2019.

O município de Botucatu possui clima temperado quente e úmido (Cfa), moderado chuvoso, com temperatura média do mês mais quente igual a 22 °C (janeiro) e de 15,6 °C (julho) no mês mais frio, com média anual de 19,1°C, segundo a classificação de Köppen. A precipitação pluviométrica média anual é de 1324 mm, mais concentrada no verão, com 229 mm (janeiro) e 34mm (julho) para os meses de maior e menor precipitação, respectivamente (DA SARTORI *et al.*, 2010; CUNHA; MARTINS, 2009).

O experimento foi avaliado em dois ambientes, o jardim clonal com teto coberto e a céu aberto ambos com sistema de irrigação por gotejamento. As cepas foram acondicionadas em estruturas formadas por 6 canaletões de fibrocimento (0,8 x 4,60 m), com um metro de altura, subdivididos em parcelas de 0,8 x 1 m, inclinação de 1%, e interior com 8 cm de seixo rolado e 15 cm de areia. No jardim clonal com teto coberto, o plástico utilizado para cobertura foi de polietileno extrusado em multicamadas, que protege as plantas contra os raios ultravioleta. O delineamento experimental utilizado foi o delineamento em blocos casualizados (DBC), composto de dois tratamentos e três repetições, sendo a área útil de cada clone constituída por 15 plantas, espaçadas a 15 cm entre linhas e 10 cm entre cepas. Cada repetição foi composta por quatro clones: I144 (C1), IPB 13 (C2), IPB 02 (C3) e Toreliodora (C4) (Figuras 1 e 2).

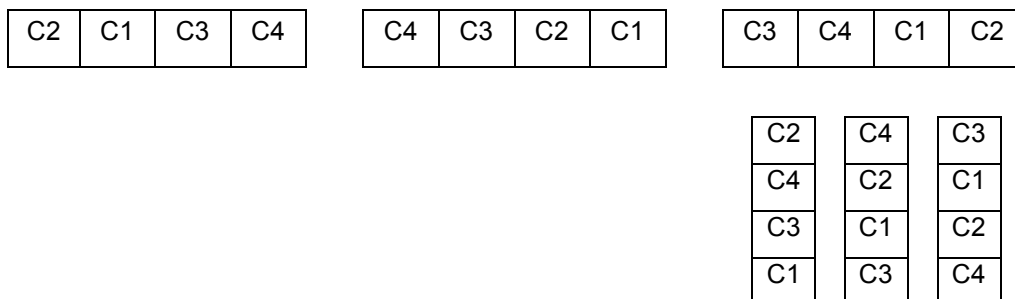
Os clones utilizados nesse experimento são materiais genéticos comerciais do Brasil. O clone AEC I144 da empresa ArcelorMittal é um híbrido natural de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake e é tolerante a doenças como ferrugem, *Ceratocystis* sp. e condições de déficit hídrico. O material genético IPB 02 (H15) e IPB 13 (H1069) da empresa Arbogen são híbridos de *E. urophylla* e *E. grandis* e tolerantes às mesmas doenças do I144, além da *Ralstonia* sp. O "Toreliodora" da Aperam é um híbrido natural de *Corymbia torelliana* Hook e *Corymbia citriodora* F. V. Muell, indicado para serraria e uso múltiplo.

Figura 1 - Vista aérea do experimento do localizado no viveiro da Faculdade de Ciências Agronômicas - FCA, Câmpus de Botucatu.



Fonte: RUIZ (2019) com modificações

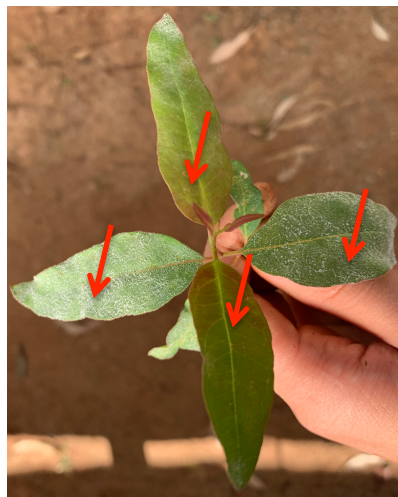
Figura 2 - Croqui do experimento do viveiro de eucalipto representando os blocos e os clones I144 (C1), IPB 13 (C2), IPB 02 (C3) e “Toreliodora” (C4).



Os dados da severidade foram coletados em condições naturais de infecções, semanalmente, no período de 10 de maio de 2018 e 1 de maio de 2019. As folhas das cepas foram classificadas de acordo com a escala diagramática do oídio em eucalipto. A escala diagramática proposta por Ruiz (2019) possui as seguintes notas: N1 = 0% (sem sintomas ou sinais); N2 = 3%; N3 = 6%; N4 = 12%; N5 = 24%;

N6 = 48%; N7 = 80%, N8 = 100%, respeitando a acuidade visual, de acordo com a lei de Weber-Fechner (HORSFALL; COWLING, 1978). As 15 minicepas centrais foram avaliadas em folhas do terço médio (Figura 3). As folhas velhas possuíam mais oídios do que as folhas jovens. Logo, o terço médio não subestimava e não superestimava os resultados. As variáveis climáticas e a idade da folha afetam na produção, viabilidade e dispersão do conídio (WARD; MANNER, 1974; BUTT, 1978; BUTT; JEGER, 1986; SIVAPALAN, 1993a; SIVAPALAN, 1994; XU *et al.*, 1995a apud XU, 1999).

Figura 3 - Avaliação da severidade do oídio no terço médio das plantas do eucalipto



4.3 Coleta dos dados climáticos

As coletas dos dados meteorológicos da área com teto coberto foram feitas na estação meteorológica localizada no Viveiro Florestal da UNESP/ FCA em Botucatu (Figura 4), com sensores de temperatura e umidade relativa (Vaisala modelo HMP50 e abrigo multiplaca RM Young modelo 41002), radiação solar global (MJ/m^2) com sensor Kipp & Zonen modelo CMP3. A Estação Meteorológica Automática é a Campbell Scientific Inc. modelo CR23X. Os dados meteorológicos da área a céu aberto foram coletados da estação meteorológica instalada no Departamento de Ciência do Solo e Recursos Ambientais da UNESP/FCA. Os dados climáticos foram transferidos em planilhas eletrônicas do Microsoft Excel® e calculadas as médias diárias de cada variável e a média horária por dia. As médias calculadas foram a temperatura mínima, média e máxima, temperatura média noturna (das 18:30 às 5:30), temperatura média diurna (das 6:00 às 18:00), GD,

umidade relativa (UR), duração do molhamento foliar (HM) e molhamento de orvalho (HO) com UR acima de 90%, precipitação e a PAR.

Figura 4 - Estação metereológica para coleta de dados metereológicos na área com teto coberto



4.4 Fórmulas para o cálculo da AACPD e graus dia (GD)

A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e as curvas de progresso da doença em função do tempo foram calculadas de acordo com a expressão:

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{(Y_{i+1} + Y_i)}{2} \times (T_{i+1} - T_i)$$

Em que Y_i é a severidade na semana da avaliação i , Y_{i+1} é a severidade na semana da avaliação $i+1$, T_i é a semana da avaliação i ; T_{i+1} é a semana da avaliação $i+1$ e n o número de observações (CAMPBELL; MADDEN, 1990; ABREU *et al.*, 2015). Além da AACPD obtida por integração trapezoidal, também é possível calculá-la pela soma da severidade semanal do clone até a última avaliação.

O cálculo para estimar o GD é através da equação:

$$\frac{T_{max} + T_{min}}{2} - T_{base}$$

Em que a temperatura máxima (Tmax) e a temperatura mínima (Tmin) em graus Celsius são coletadas no dia da avaliação e a Temperatura base (Tbase) é mantida em 3 °C, de acordo com o trabalho de Xu e colaboradores (1999b).

4.5 Análises estatísticas

Os dados horários e diários de cada variável climática foram correlacionados com a severidade do oídio do eucalipto durante um ano de avaliação. Os dados foram organizados em planilhas eletrônicas do Microsoft Excel[®] e então, elaborados gráficos de severidade do patógeno. As análises estatísticas entre clones e condições ambientais foram realizadas utilizando o programa SAS versão 9.4 (SAS Institute Inc., 2014).

Os modelos de previsão foram elaborados utilizando o *Stepwise* no *Minitab* 16[®] (MINITAB LCC, 2010). O *Stepwise* tem a função de remover e adicionar termos ao modelo, com o objetivo de identificar um subconjunto útil dos termos inseridos, que serão os candidatos para o modelo final (*Technical Support by Minitab* 16[®]). Neste estudo foram testados métodos de *Stepwise*, como o *forward selection* e o *backward elimination*. *Forward selection* é um método que inicia com uma fórmula vazia ou inclui termos específicos, a serem inseridos no modelo inicial ou em todos os modelos. O programa adiciona os termos mais significativos para cada etapa e encerra quando as variáveis tem valores p maiores que o alpha. *Backward elimination* inicia com todos os termos que são potenciais e remove os termos menos significativos para cada etapa. O *Minitab*[®] finaliza a equação quando todas as variáveis do modelo têm valores p inferiores ou iguais ao alpha = 0,1. O modelo de severidade obtido foi adequado, de acordo com as variáveis precipitação, temperatura, molhamento foliar, GD e PAR. O modelo escolhido baseou-se nos coeficientes de determinação (R^2), correlação de Pearson (ρ) e quadrado médio dos desvios (QMR). O R^2 mais próximo de 1 aumenta a precisão do modelo (AMORIM *et al.*, 2018). A correlação de Pearson mede o grau entre variáveis de escala métrica, assumindo valores entre -1 e 1, sendo 1, uma correlação perfeita positiva entre as duas variáveis, -1 uma correlação perfeita negativa entre as duas variáveis e 0 apresentando as duas variáveis independentes linearmente uma da outra (CAMPBELL; MADDEN, 1990; HAU, 1988).

4.6 Tabela modificada de Mills e Fluxograma

As médias diárias de cada variável climática foram inseridas na tabela modificada de Mills, de acordo com a severidade. As variáveis climáticas na tabela foram a precipitação, horas de molhamento foliar (HM), temperaturas médias, mínimas e máximas, GD, GD correspondentes a 3 dias anteriores a avaliação e PAR.

A severidade apresentou 3 classificações considerando cada condição, em doença severa, moderada e leve à nula. A classificação da severidade foi diferente entre as condições. No jardim clonal a céu aberto, a doença foi severa quando variou entre 6% e 12%, moderada em 3% e leve em 0%. Na condição com teto coberto, considerou-se severa quando variou entre 24 e 48%, moderada entre 6 e 12% e leve em 3% ou nulo.

Os fluxogramas elaborados basearam-se em cada condição e nas variáveis climáticas apresentadas na tabela modificada de Mills. Em seguida, foram simplificadas com dados de precipitação, horas de molhamento foliar acima de 90% e temperatura média. Ao final, os modelos de previsão foram inseridos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

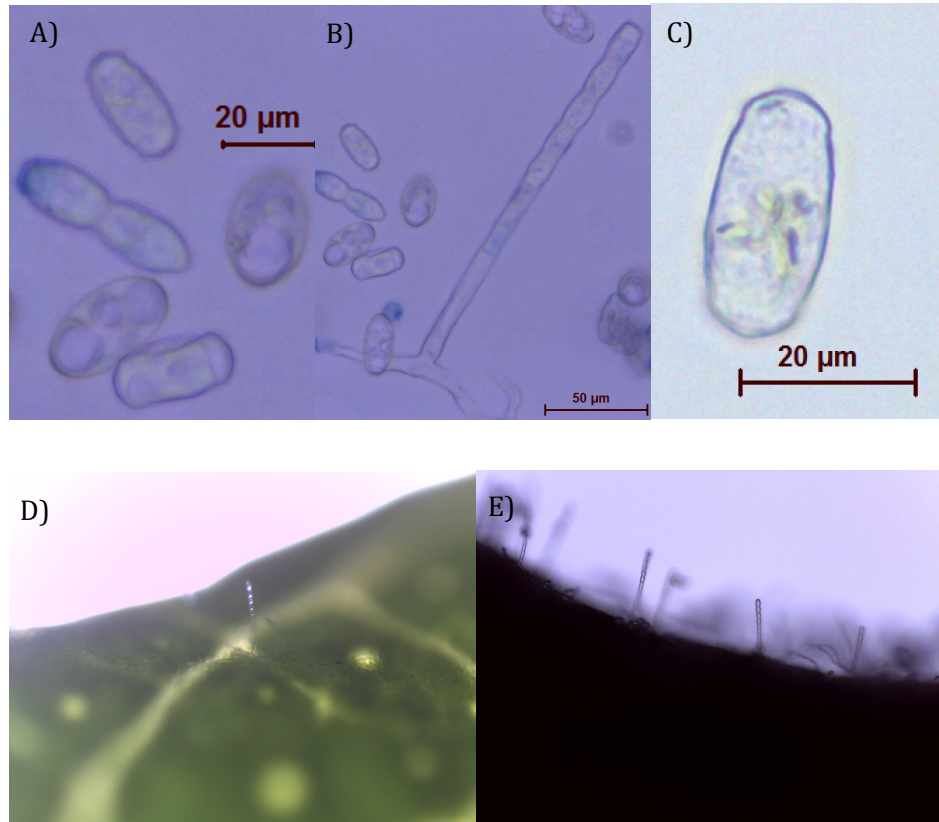
5.1 Morfometria e caracterização molecular do patógeno

A morfometria e morfologia (Tabela 2 e Figura 5) é característica do gênero *Podosphaera*, o mesmo relatado por Fonseca e colaboradores (2017) e Braun (1987). Fonseca e colaboradores (2017) descreveram o fungo como conídio em cadeia, hifa septada, hialina, conidióforo epifítico, septado, célula basal cilíndrica, variando entre 42 - 68 μm x 7,3 - 9,5 μm , conídios produzidos em cadeia no ápice do conidióforo, com formato elipsóide-ovóide, variando de 21,6 - 32,5 μm x 10,9 - 19 μm e asseptado, sendo as mesmas características observadas e mensuradas neste trabalho.

Tabela 2 - Características morfológicas do oídio do eucalipto

Origem do isolado	Características morfológicas assexuais			
<i>Eucalyptus</i> spp.	Tamanho do conidióforo (μm)	Célula basal do conidióforo		
	(68,9-)115,5(-219,8)	Posição do septo basal (μm)	Dimensões (μm) (compr. x larg.)	
		(0,0-) 2,14 (-9,33)	(33,55-) 48,45 (76,68) X (6,24-) 9,51 (-12,58)	
	Conídios			
	Formato	Dimensões (μm) (compr. X larg)	Corpos de fibrosina	Conidiogênese
	Elipsóide-Ovóide	(21,80-)26,35(30,16) x (10,95-)14,40(-17,49)	+	<i>Euoidium</i>

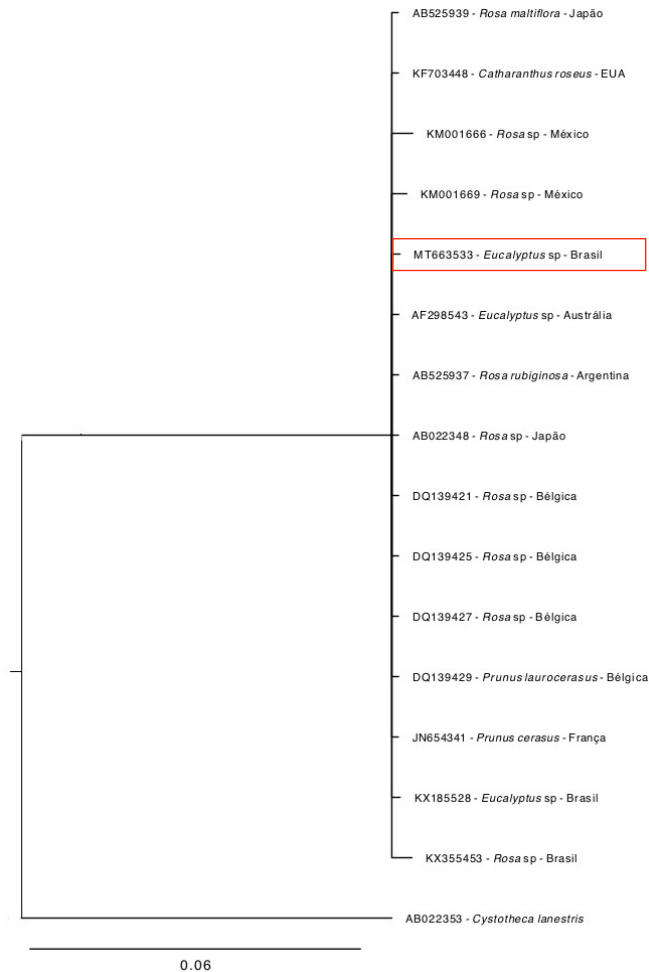
Figura 5 - Morfologia do conídio e conidióforos do oídio A) Conídios em diferentes formatos B) Conidióforo C) Tamanho do conídio D) Conidióforo em cadeia com visualização em lupa na superfície foliar E) Conidióforo em microscopia com 10x de aumento



Após a reação de PCR, os amplicons obtidos foram bidirecionalmente sequenciados (número de acesso Genbank MT663533) e apresentaram 99% de identidade com o isolado *Podosphaera pannosa* acc. n° LC530272 (524/527 identidade do nucleotídeos).

A árvore filogenética baseada na região ITS apresentou o patógeno estudado em um único clado (Figura 6). Portanto, os 14 isolados de *Podosphaera pannosa* em diferentes hospedeiros são da mesma espécie encontrada em Botucatu. Takamatsu (2010) relata que os isolados de oídio em rosáceas e mirtáceas, em diferentes países, são da mesma espécie do Brasil.

Figura 6 - Árvore filogenética da região ITS da espécie *Podospheera pannosa* de *Eucalyptus* sp., *Rosa* sp., *Prunus* sp. e *Catharanthus* sp. O *Cystotheca lanestrís* foi usado como outgroup e a sequência do estudo em destaque.



5.2 Epidemiologia descritiva

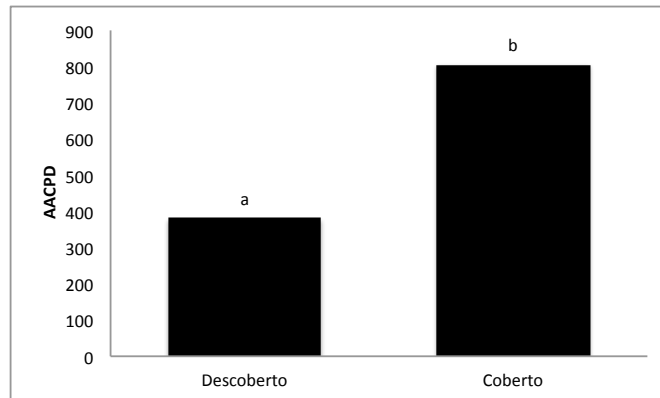
5.2.1 Comportamento da doença em condições com teto coberto e a céu aberto no período de avaliação

O comportamento da doença foi inicialmente avaliado de acordo com as condições do ambiente, independentemente do clone. As condições de céu aberto e teto coberto diferiram significativamente no comportamento da doença, como apresentado na Figura 7, pela área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD). A média da AACPD a céu aberto foi de 381 e com teto coberto, 805 de área foliar lesionada. É possível inferir que, sob condições abertas, houve uma severidade menor do patógeno causador do oídio do eucalipto em relação ao ambiente protegido.

Tessmann e Caixeta (2004) relatam que culturas submetidas à redução de

luminosidade estão mais predispostas às doenças. O oídio é um exemplo, que intensifica os sinais com a redução da luminosidade, além da contribuição pela falta de pluviosidade (CANIZARES, 1998).

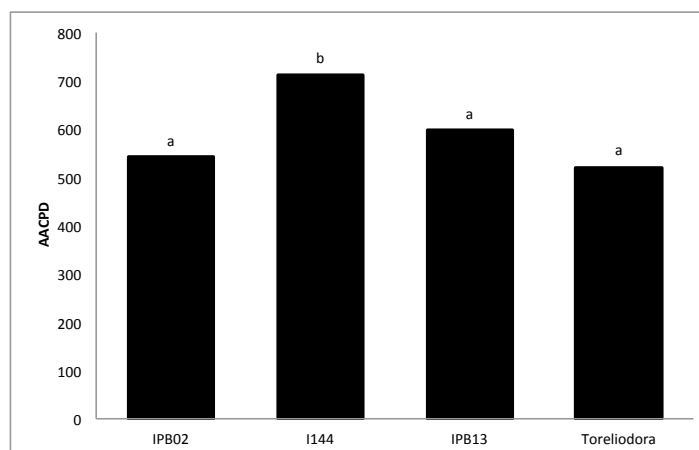
Figura 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) do oídio do eucalipto nas condições a céu aberto e teto coberto



Médias com mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%; Diferença Mínima Significativa (DMS) = 7,85 e Coeficiente de variação (CV)= 13,49%

Entre os clones, independente do ambiente, o I144 apresentou maior valor de AACPD e diferença significativa, se comparado aos outros clones. Os clones IPB13, IPB2 e Toreliodora apresentaram AACPD semelhantes. Foram observadas médias gerais da AACPD entre as condições com teto coberto e a céu aberto de 731 para o clone I144, 607 para o clone Toreliodora, 597 para o clone IPB13 e 541 para o clone IPB02 de área foliar lesionada (Figura 8).

Figura 8 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) nos clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora



Médias com mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%; Diferença Mínima Significativa (DMS) = 15,0819 e Coeficiente de variação (CV)= 13,49%

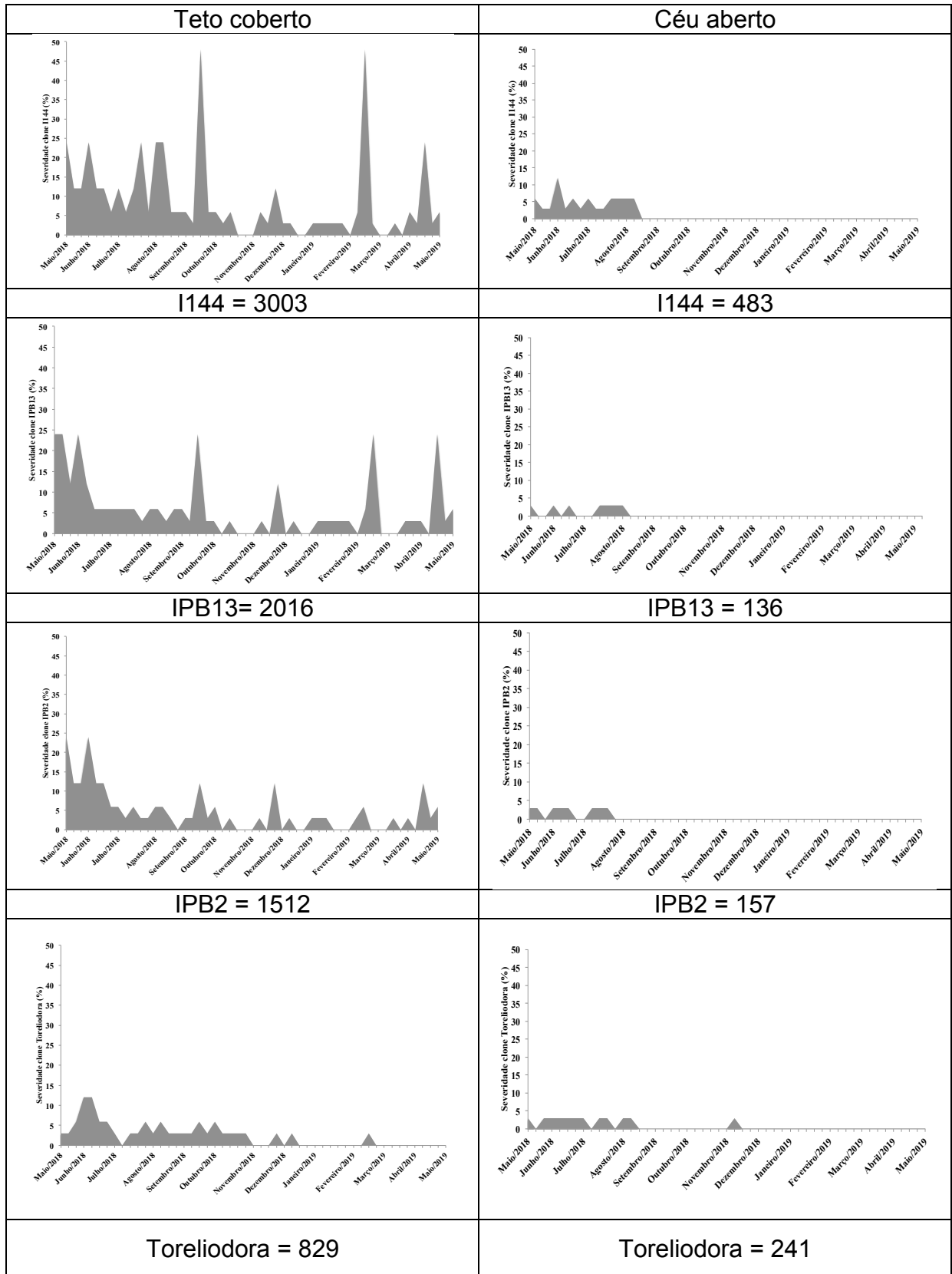
A AACPD da Figura 9 apresentou a AACPD por clone e condição. Todos os clones apresentaram área foliar lesionada por dia de avaliação, maiores em condições com teto coberto do que a céu aberto. Entre os clones, o I144 apresentou maiores valores de AACPD se comparado com os outros clones. O IPB2 em condição a céu aberto apresentou os menores valores se comparado com os outros clones.

Na área a céu aberto, a epidemia do oídio ocorreu com maior intensidade no início da avaliação, entre maio e agosto de 2018, que coincide com períodos mais frios e secos na região de Botucatu. O gênero *Podosphaera* apresenta condições favoráveis para seu aparecimento em temperaturas entre 20 e 25 °C, umidade relativa próxima à saturação, precipitação baixa ou nula, luz reduzida e fotoperíodo de 12 horas (YARWOOD, 1957; JHOOTY; MCKEEN, 1965; MUCCI *et al.*, 1980; SILVA, 2003). Após agosto de 2018, não houve severidade da doença, exceto o clone Toreliodora, com 3% de severidade em novembro de 2018. Os conídios não germinaram devido a ocorrência de água livre na superfície do hospedeiro, que já foi descrito na literatura como condição desfavorável a germinação de oídios (YARWOOD, 1957; AUST; HOYNINGEN-HUENE, 1986; SILVA; 2001). A severidade dos clones iniciou entre 3 e 6%, com um máximo de 12% de área foliar lesionada. Entre os clones, o I144 foi o mais suscetível ao longo dos meses, enquanto os demais clones apresentaram suscetibilidade similares.

Diferentemente do que ocorreu na área a céu aberto, as cepas mantidas sob cobertura plástica apresentaram a doença o ano todo e de maneira mais acentuada. A severidade foi constante ao longo dos meses, iniciando entre 3 e 24%, com máxima de 48%. Os maiores picos da doença ocorreram em setembro de 2018 e fevereiro de 2019. Nos meses de outubro de 2018 ao final fevereiro de 2019, a severidade foi a mais baixa do período. Entre os clones, assim como na condição a céu aberto, o mais suscetível foi o I144 ao longo dos meses, seguido pelo IPB13, IPB2 e Toreliodora. Segundo Yarwood (1957), os picos das severidades, ocorrem com maior frequência em condições mais secas, com maior germinação dos conídios.

De acordo com Bergamin Filho e Amorin (1996), a AACPD possibilita entender a época de início e fim, bem como a duração da epidemia, a quantidade de inóculo inicial e a taxa de desenvolvimento da doença.

Figura 9 - Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) em cada clone, em condições de teto coberto e a céu aberto



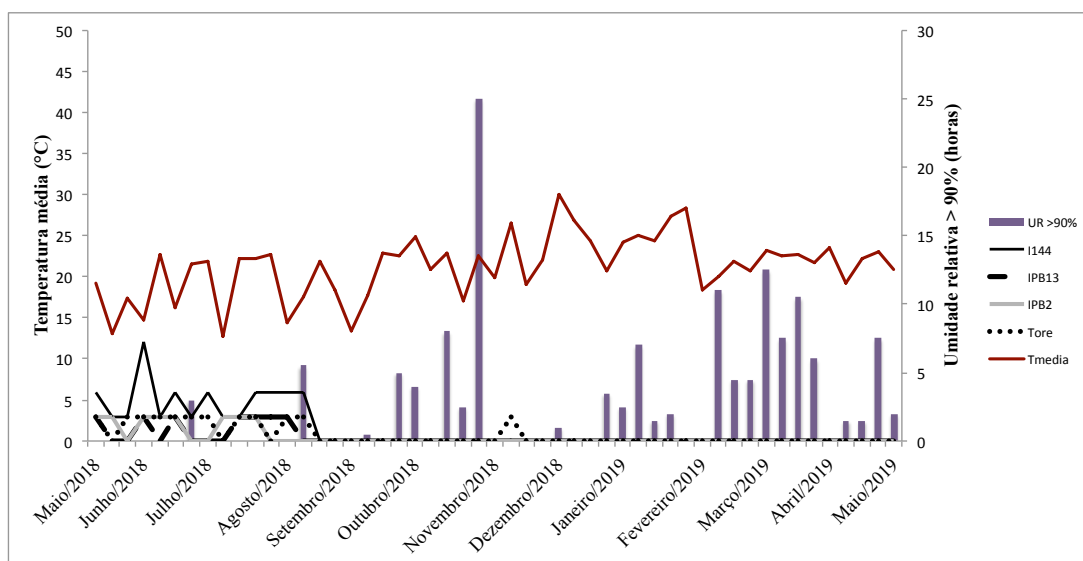
5.2.2 Severidade do oídio em função das variáveis climáticas

As temperaturas e umidade superior a 90% apresentadas em condição a céu aberto, na Figura 10, referem-se ao dia da avaliação. As temperaturas para a ocorrência da severidade foram $T_m = 13$ a 23 °C, a $T_{min} = 8$ a 19 °C e a $T_{max} = 18$ a 29 °C. Kranz (2003) relata que as doenças podem ser r ou k estrategista. O oídio é uma doença r estrategista, pois reage rapidamente com rápida esporulação e de forma explosiva, quando as condições são favoráveis.

A maior severidade da doença ocorreu no período de molhamento baixo e pouco frequente. As maiores horas de molhamento ocorreram nos meses subsequentes, período que não houve severidade do oídio. Segundo Reis (2004), as condições climáticas desfavorecem a disseminação do oídio com molhamento foliar intenso, impedindo a germinação dos conídios, pela formação do filme de água na superfície.

Ao analisar os fatores ambientais combinados, como a temperatura com a umidade maior que 90%, observou-se que temperaturas máximas entre 18 °C e 35 °C com até 24 horas de molhamento, não houve ocorrência de oídio. Dutzmann (1985) observou que a concentração conidial do oídio em cevada não estava relacionada a um único fator ambiental, confirmando nossos resultados. Xu e Butt (1993) constataram *Podosphaera leucotricha* em maçã, com baixa intensidade, em presença de chuva e água livre nas folhas (XU; BUTT, 1993).

Figura 10 - Severidade em função das variáveis climáticas de temperatura média (°C) e umidade relativa superior a 90% (HM) na condição a céu aberto nos clones IPB2, I144, IPB13 e Toreliodora



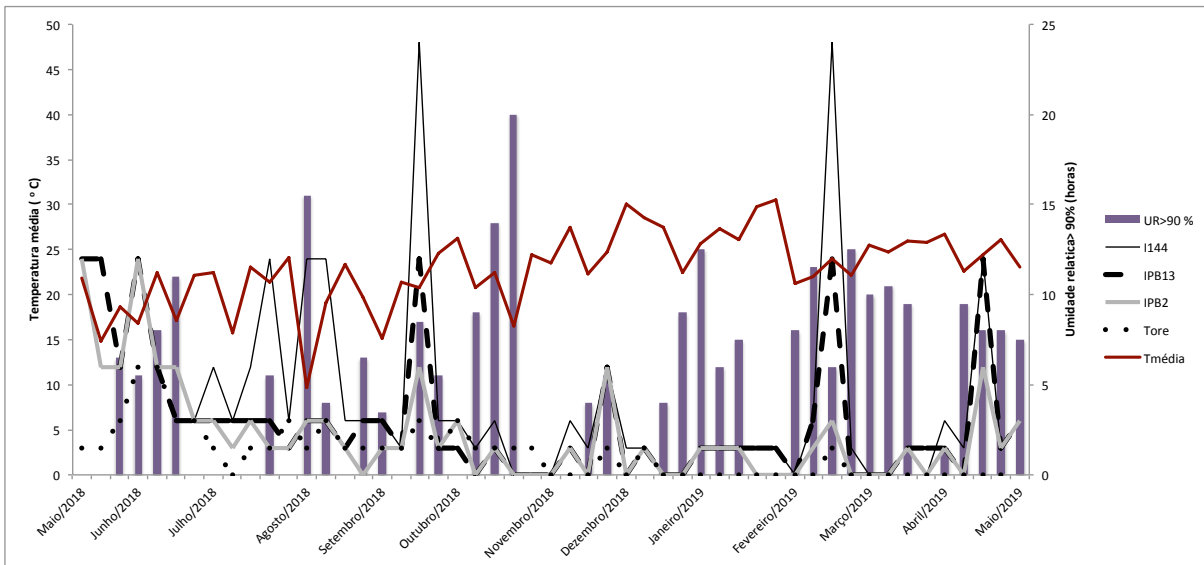
A temperatura média e umidade superior a 90% coletadas em condição com teto coberto, na Figura 11, referem-se ao dia da avaliação. Os picos das doenças ocorreram em 7 períodos, especialmente quando havia uma diminuição da temperatura. Observa-se essa situação em maio, junho, agosto e setembro de 2018, bem como em fevereiro e abril de 2019. As temperaturas para ocorrência da alta severidade foram $T_m = 10$ a 24 °C, a $T_{min} = 1$ a 21 °C e a $T_{max} = 24$ a 34 °C. Quando a variação das temperaturas foi $T_m = 16$ a 28 °C, a $T_{min} = 10$ a 22 °C e $T_{max} = 20$ a 36 °C, a severidade foi nula. A severidade nula para a maioria dos clones ocorreu em outubro, novembro e dezembro de 2018, fevereiro e março de 2019.

As horas de molhamento ocorreram aleatoriamente. A severidade da doença em 48% ocorreu no período de molhamento de 6 a 9 horas, a exemplo de setembro de 2018 e fevereiro de 2019. Quando o molhamento foi nulo e até 20 horas do dia da avaliação, a severidade não foi observada, como em outubro, novembro e dezembro de 2018 e fevereiro e março de 2019.

Ao analisar a temperatura em conjunto com a umidade, observa-se que em $T_m = 10$ a 24 °C, com horas de molhamento médio de 0 a 16 horas houve severidade entre 24 % e 48 %. Em $T_m = 16$ a 28 °C, com horas de molhamento médio de 0 a 20 horas, a severidade foi nula. Trabalhos anteriores relataram que a infecção do oídio em cevada é favorecida em temperaturas baixas e molhamento foliar alto (HAU; DE VALLAVIEILLE-POPE, 1998).

A ausência de chuva pode ser um dos fatores responsáveis para a continuidade da epidemia durante o ano todo.

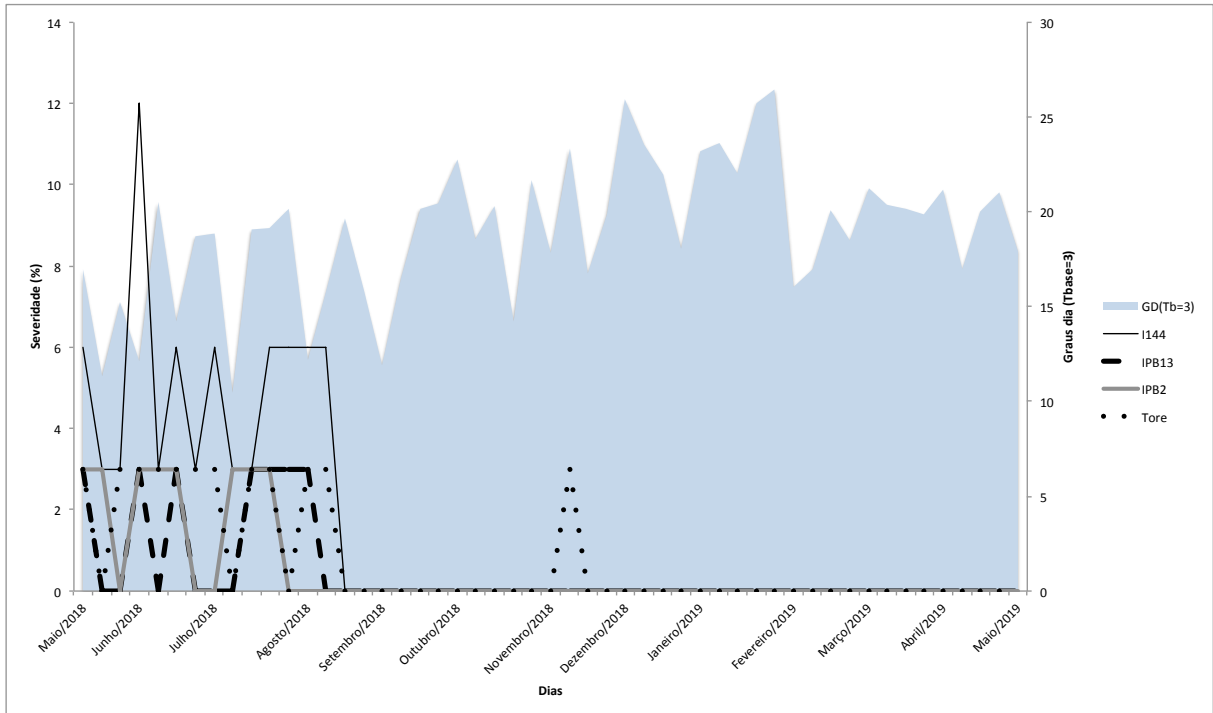
Figura 11 - Severidade em função das variáveis climáticas de temperatura média (°C) e umidade relativa superior a 90% (HM) na condição com teto coberto nos clones IPB2, I144, IPB13 e Toreliodora



Os dados de graus dia podem interferir na severidade da doença na área a céu aberto (Figura 12). Com a temperatura base em 3 °C, os graus dia entre 10 e 21, favoreceram a severidade em todos os clones, principalmente para o I144, no mês de junho de 2018. O GD acumulado de 3 dias consecutivos à data de avaliação foi de 36 a 62. De acordo com Petruzzello (2017) são necessários de 3 a 14 dias para a produção de um novo conídio.

Os graus dia entre 11 e 27 desfavoreceram a disseminação da doença, com destaque para os meses de dezembro de 2018 e janeiro de 2019, com os GD mais elevados. O GD acumulado de 3 dias consecutivos à data de avaliação foi de 35 a 79. Carisse e colaboradores (2009) relatam que calcular o GD possibilita o alerta de risco do oídio em uva, sendo viável seu estudo antes de iniciar qualquer programa de manejo e prever o número de pulverizações necessárias. Lovell e colaboradores (2004) realizaram um experimento sobre a perspectiva da medida do tempo em epidemiologia de doenças em plantas e observaram a influência dos graus dia com intervalo entre 3 e 7 dias para o aparecimento da doença.

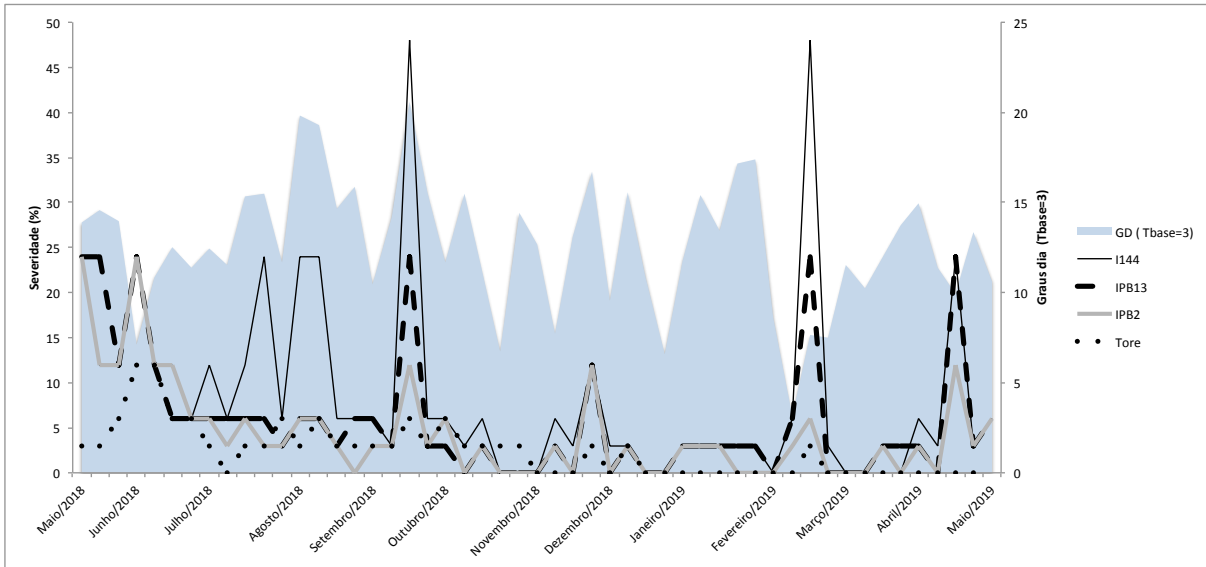
Figura 12 - Severidade em função do graus dia em condição a céu aberto nos clones IPB2, I144, IPB13 e Toreliodora



O GD mais baixo favoreceu o aumento da severidade na área com teto coberto (Figura 13). Quando observou-se uma queda dos graus dia, houve aumento da severidade, exemplo dos meses de maio, junho, agosto e setembro de 2018 e em fevereiro e abril de 2019, com GD de 7 a 23. O GD acumulado de 3 dias consecutivos à data de avaliação foi de 29 a 70.

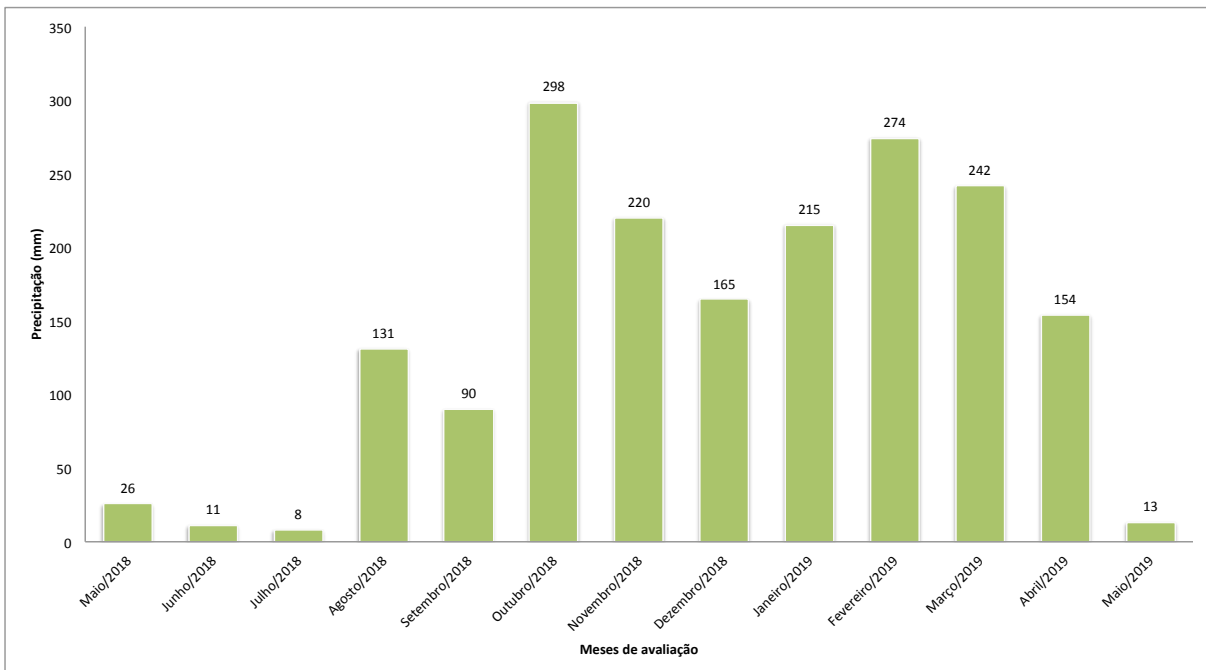
O GD entre 12 e 26 e o GD acumulado de 3 dias à data de avaliação variaram de 58 a 82, desfavorecendo a ocorrência da doença, por serem os mais elevados.

Figura 13 - Graus dia em condição com teto coberto comparadas com a severidade nos clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora



A precipitação apresentada na Figura 14 ocorre em menor volume entre os meses de maio e julho de 2018 e em maio de 2019, com volume variando de 8 a 26 mm. Os meses com maior precipitação ocorreram entre agosto de 2018 e abril de 2019, com volume entre 90 e 298 mm. A severidade da doença foi mais alta quando houve menor volume de chuva.

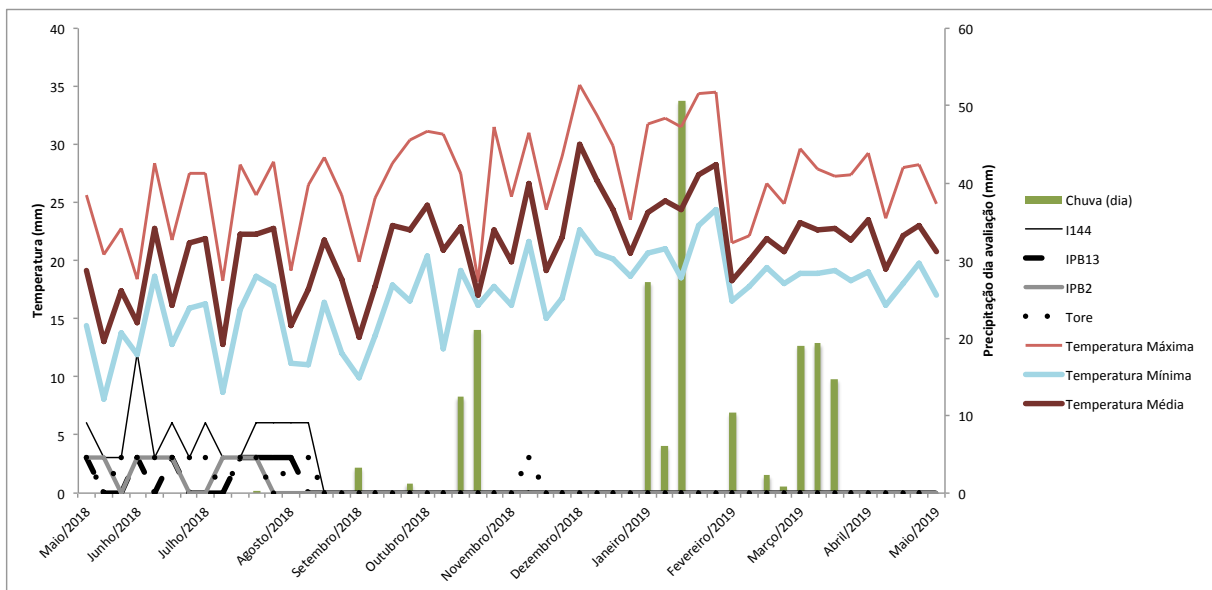
Figura 14 - Precipitação média mensal entre os meses de maio de 2018 e maio de 2019



A Figura 15 apresenta a precipitação e temperaturas como fatores para a predisposição de ocorrência do oídio no jardim clonal a céu aberto. Quando a

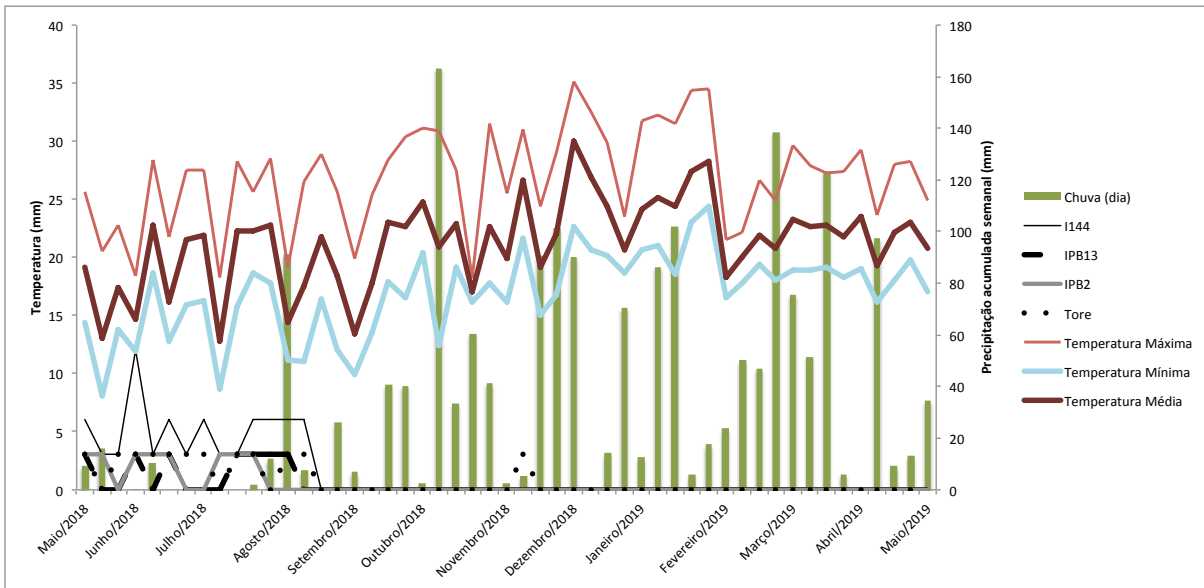
precipitação foi nula no dia da avaliação, houve maior severidade da doença, observadas no período de maio a agosto de 2018. Ao apresentar precipitação nula juntamente com $T_m = 13$ a 23 °C, $T_{min} = 8$ a 19 °C e a $T_{max} = 18$ a 29 °C, a severidade avaliada foi a mais alta. Quando a precipitação variou de nula a 52mm e em $T_m = 13$ a 29 °C, $T_{min} = 9$ a 25 °C e $T_{max} = 18$ a 35 °C, não houve ocorrência de oídio. Esses resultados estão de acordo com o estudo de Xu e Butt (1993), em que a doença *Venturia inaequalis* na maçã aumentou com a precipitação e água livre nas folhas, porém, foi desfavorável ao *Podosphaera leucotricha*.

Figura 15 - Variáveis climáticas de temperatura mínima (°C), média (°C) e máxima (°C), e precipitação no dia da avaliação (mm), em condição a céu aberto, comparadas com a severidade nos clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora



A Figura 16 apresenta a precipitação acumulada por semana e temperatura, como fatores para a predisposição do oídio na condição de viveiro a céu aberto. Pelos resultados, a precipitação acumulada mais baixa foi apresentada no início da avaliação, compreendendo os meses de maio a julho de 2018, coincidindo com as maiores severidades. Entre a metade de agosto de 2018 a maio de 2019, foram observados como os meses de maiores precipitações acumuladas, com média de 7 mm, sem a ocorrência da doença. Boughey (1949) e Santos (2001) observaram que durante a época mais seca, o oídio se manifesta com maior intensidade e diminui quando há aumento da precipitação.

Figura 16 - Variáveis climáticas de temperatura mínima (°C), média (°C), máxima(°C) e precipitação semanal (mm) em condição a céu aberto, comparadas com a severidade nos clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora



5.3 Tabela modificada de Mills

Após a análise de todos os picos da doença e da ausência da doença influenciada por condições específicas, foi elaborada a Tabela modificada de Mills. A tabela modificada de Mills apresenta informações no dia da avaliação e 2 dias anteriores à ocorrência da severidade, seja a doença classificada como severa, moderada ou nula.

O principal parâmetro para a tomada de decisão foi a precipitação. Nas situações em que a precipitação fosse de 7 mm ou superior, outros fatores não seriam necessários para a tomada de decisão. Kurozawa e colaboradores (2005) relatam que a ausência de precipitação e sistema de cultivo protegido com irrigação por gotejamento, aumenta a severidade da doença. Portanto, na ausência de precipitação, seriam necessárias as avaliações de todos os fatores climáticos apresentados, como a temperatura mínima, média e máxima por 3 dias, horas de umidade relativa acima de 90% no dia da avaliação, GD no dia da avaliação, GD acumulado por 3 dias e PAR.

As Tabelas 4 e 5 apresentam dados da ocorrência da doença em condições a céu aberto e com teto coberto, respectivamente. As variáveis foram selecionadas de acordo com os maiores picos das doenças do I144, e quando a doença foi

moderada ou nula. O clone I144 foi selecionado por ser o mais suscetível à doença oídio. Dessa forma, este clone foi usado como referência aos outros clones.

Na condição a céu aberto, os maiores picos da doença foram 12%, seguido de 6% e 3%. Na condição com teto coberto, os maiores picos foram 48%, 24%, 12%, 6% e 3%. Os dados climáticos foram comparados com a severidade em 7, 5, 3, 2 e 1 dia anteriores à avaliação. Com os resultados de 3 dias consecutivos de temperatura, molhamento foliar e graus dia, na faixa apresentada, há produção de novos conídios e assim é possível classificar a doença como severa, moderada ou leve à nula (PETRUZZELLO, 2017).

Na condição a céu aberto (Tabela 3), com precipitação nula, $T_m = 13$ a 25 °C, umidade relativa acima de 90% com até 14 horas, GD de 10 a 21 e PAR de 0 a 9 MJ/m², deve ser realizado o controle da doença, já que nessas condições apresenta-se como severa, dado que a germinação e maturação do oídio são favorecidas pela baixa luminosidade no tecido do hospedeiro (SCHNATHORST, 1965).

Por outro lado, quando a precipitação for elevada, $T_m = 13$ a 29 °C, com umidade relativa acima de 90% até 24 horas, GD de 11 a 27 e PAR de 2 a 17 MJ/m², não deve ser feito o controle do oídio, pois o sintoma é leve ou nulo. Logo, temperaturas mais elevadas, molhamento foliar mais elevado e PAR mais altos, a doença é menos frequente.

Na condição com teto coberto (Tabela 4), com $T_m = 10$ a 25 °C, umidade acima de 90% até 21 horas, GD de 7 a 24 e PAR de 1 a 9 MJ/m², deve ser feito o controle da doença, já que esta apresenta ser severa. Já para $T_m = 16$ a 29 °C, molhamento foliar até 20 horas, GD de 12 a 29 e PAR de 1 a 9 MJ/m², não deve ser feito o controle do oídio, pois o sintoma é leve ou nulo. Assim, temperaturas médias mais elevadas, molhamento foliar variável e PAR mais alta, a doença é menos frequente.

Comparando as Tabelas 3 e 4, em T_{min} abaixo de 21 °C e T_m até 25 °C, PAR de 0 a 9 MJ/m², observa-se fatores climáticos favoráveis para a ocorrência da doença em ambas condições estudadas. Por outro lado, T_m abaixo de 29 °C e GD acima de 25 não foram favoráveis para a ocorrência da doença, para as duas condições.

Pelos dados descritos nas tabelas para a ocorrência de doença leve e severa, na condição com teto coberto, os intervalos das variáveis estudadas são mais proeminentes do que na condição a céu aberto. Por exemplo, enquanto o

molhamento da condição a céu aberto variou de 0 a 14, para a ocorrência da doença severa, em condição com teto coberto, houve uma variação de 0 a 21. Amorim e colaboradores (2018) relatam em seu trabalho que o oídio esporula com umidade relativa abaixo do ponto de saturação, porém, pode haver preferências por maiores níveis de umidade relativa entre as diferentes espécies de oídio. A mesma conclusão é obtida quando observamos a variação da T_{min} de 10 a 21 °C (intervalo de 11 °C), na condição a céu aberto, enquanto a T_{min} varia de 0 a 21 °C (intervalo de 21 °C), na condição com teto coberto, a qual amplia a possibilidade de ocorrência da doença severa, e que explica a ocorrência da doença em diversos momentos da avaliação do experimento. Para Grigoletti Júnior e Sônego (1993) e Cañizares (1998), o sistema de cultivo com coberturas plásticas, além de restringir a precipitação, aumentar a temperatura e diminuir a PAR, favorece o surgimento do oídio em videira. Neste trabalho, todos os fatores foram influenciados por essas condições para que a severidade do oídio fosse alta.

Tabela 3 - Tabela modificada de Mills para tomada de decisão do controle do oídio em condição a céu aberto

A céu aberto I144	Severa	Moderada	Leve
Precipitação (mm)	0	1 a 6	7 ou acima
Temperatura mínima (°C)	10 a 21	7 a 20	9 a 25
Temperatura média (°C)	13 a 25	11 a 23	13 a 29
Temperatura máxima (°C)	14 a 29	17 a 28	18 a 35
Umidade > 90% (horas)	0 a 14	0 a 4	0 a 24
GD dia	10 a 21	9 a 21	11 a 27
GD acumulado de 3 dias	36 a 62	34 a 58	35 a 79
PAR (MJ/m ²)	0 a 9	3 a 8	2 a 17

Tabela 4 - Tabela modificada de Mills para tomada de decisão do controle do oídio em condição com teto coberto

Com teto coberto I144	Severa	Moderada	Leve
Temperatura mínima (°C)	1 a 21	8 a 23	10 a 23
Temperatura média (°C)	10 a 25	15 a 27	16 a 29
Temperatura máxima (°C)	15 a 34	24 a 38	20 a 40
Umidade >90% (horas)	0 a 21	0 a 14	0 a 20
GD dia	7 a 24	3 a 17	12 a 29
GD acumulado de 3 dias	29 a 70	55 a 68	58 a 82
PAR (MJ/m ²)	1 a 9	2 a 7	1 a 9

As Tabelas 3 e 4 foram simplificadas nas Tabelas 5 e 6. As Tabelas 5 e 6 apresentam dados de doença severa referente às Tabelas 3 e 4 e a doença leve faz referência aos parâmetros diferentes de doença severa. Através dos dados pontuais, o agricultor pode ter um conhecimento breve do comportamento do oídio. Este modelo apresenta de que forma o agricultor poderá tomar a decisão e quando deve fazer o controle. Para os casos em que os dados climáticos estejam fora dessa faixa, o agricultor pode optar em aguardar a variação desses dados para, então, tomar providências. O produtor, ao observar as condições favoráveis à severidade, necessita estar alerta, já que são necessários três dias consecutivos para a severidade aparecer em alta intensidade.

Tabela 5 - Tabela simplificada de Mills das médias dos 3 dias para o controle do oídio em condição a céu aberto

A céu aberto I144	Severa	Leve
Precipitação (mm)	0	7 ou acima
Temperatura mínima (°C)	10 a 21	22 a 25
Temperatura média (°C)	13 a 25	26 a 29
Temperatura máxima (°C)	14 a 29	30 a 35
Umidade > 90% (horas)	0 a 14	15 a 24
GD dia	10 a 21	21 a 27
GD acumulado de 3 dias	36 a 62	63 a 79
PAR (MJ/m ²)	0 a 9	10 a 17

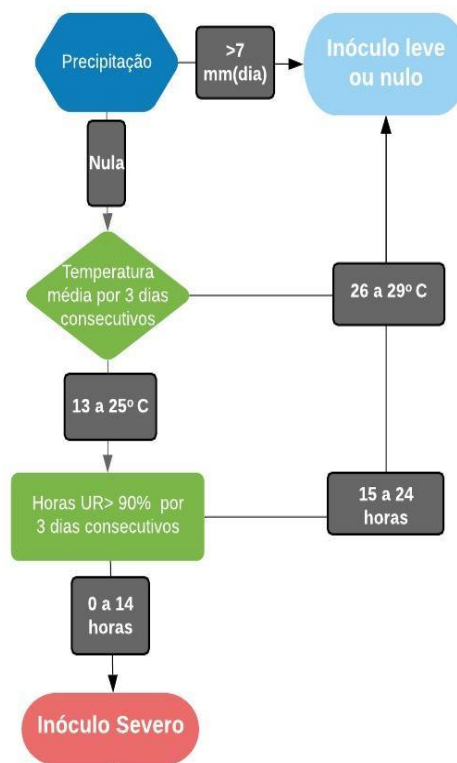
Tabela 6 - Tabela simplificada de Mills das médias dos 3 dias para o controle do oídio em condição com teto coberto

Com teto coberto I144	Severa	Leve
Temperatura mínima (°C)	1 a 21	22 a 23
Temperatura média (°C)	10 a 25	26 a 29
Temperatura máxima (°C)	15 a 34	35 a 40
Umidade > 90% (horas)	0 a 21	0 a 20
GD dia	7 a 24	25 a 29
GD acumulado de 3 dias	29 a 70	71 a 82
PAR (MJ/m ²)	1 a 9	1 a 5

5.4 Fluxograma e Modelos de previsão

Os fluxogramas são interessantes por possuírem a facilidade de se visualizar os parâmetros envolvidos no estudo. Os fluxogramas apresentados nas Figuras 17 e 18 basearam-se nas Tabelas 5 e 6. Devido ao molhamento foliar não diferir entre doença severa ou leve na condição com teto coberto, a referência foi de 48%, que corresponde à severidade mais alta no período de avaliação.

Figura 17 - Fluxograma com base no clone I144 e modelo de previsão para os clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora em condição a céu aberto



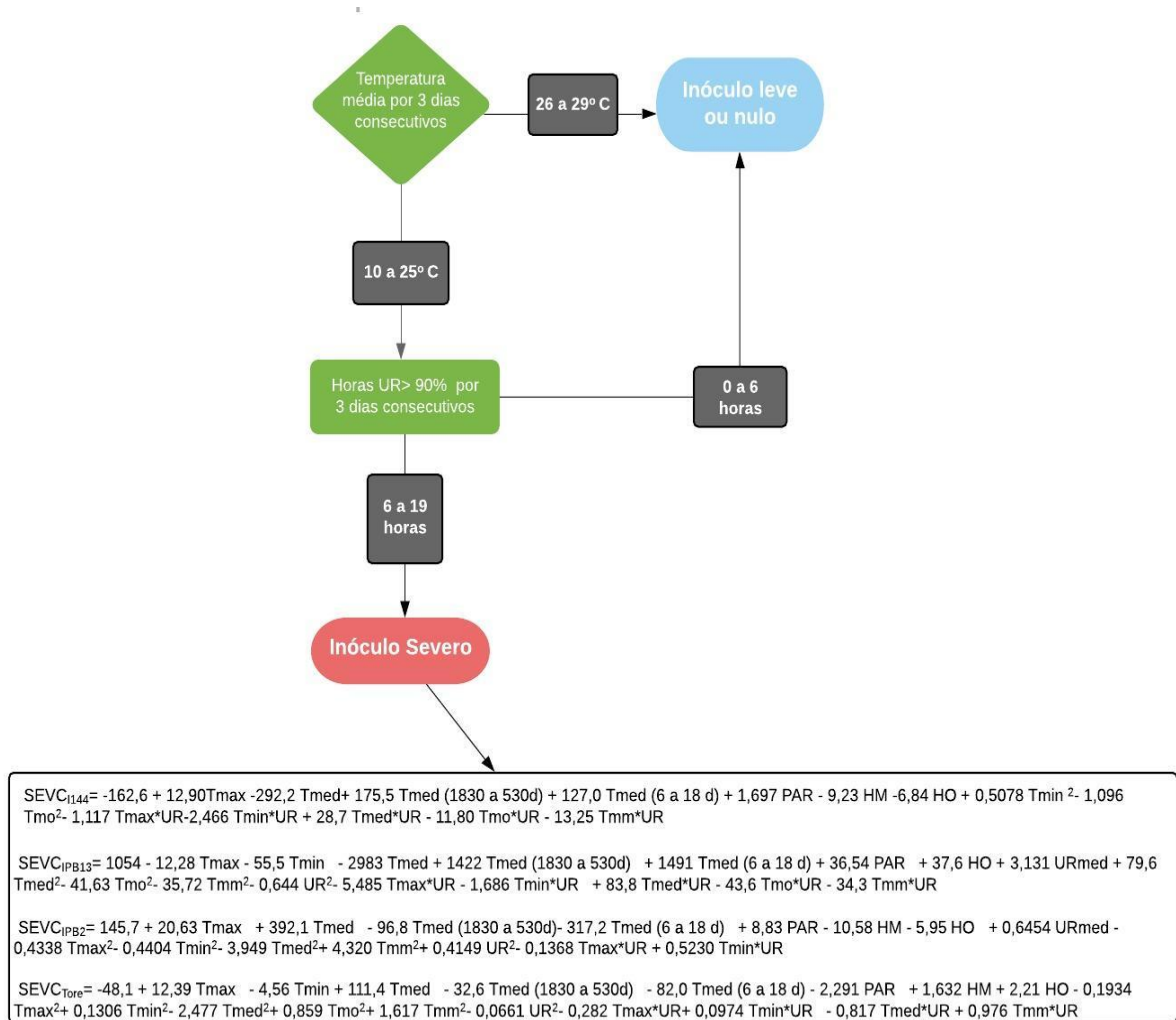
$$SEVD_{I144} = 135,957 + 4,18258 T_{max} - 4,90912 T_{min} + 1606,67 T_{med} - 722,266 T_{med}(1830 \text{ a } 530d) - 895,569 T_{med}(6 \text{ a } 18 d) + 17,8490 HM - 12,3266 HO - 1,21944 PAR - 45,1636 PPT + 0,296020 UR_{med} - 36,9912 Tm^2 + 18,5358 Tmo^2 + 18,9285 Tmm^2$$

$$SEVD_{IPB13} = 285,8 - 0,5068UR^2 + 1,877T_{med}^2 + 0,1254UR \cdot T_{med} - 0,4742T_{mo}^2 - 0,5258T_{mm}^2 - 0,539T_{min}^2 + 0,1333T_{max}^2 + 3,389PAR - 35,81PPT + 0,3362UR_{med} + 28,98GD - 20,35T_{max} - 31,17 T_{med}$$

$$SEVD_{IPB2} = 94,71 - 0,321UR^2 + 0,8978T_{med}^2 + 0,0752UR \cdot Tm - 0,3416T_{mo}^2 - 0,2529T_{mm}^2 - 0,0587T_{min}^2 + 0,1152T_{max}^2 + 2,878 PAR - 22,1PPT + 0,3997UR_{med} - 4,109GD - 6,731T_{max} - 4,178T_{med}$$

$$SEVD_{Tore} = -45,54 - 0,457 T_{min} + 121,8 T_{med} - 52,1 T_{med}(1830 \text{ a } 530d) - 62,9 T_{med}(6 \text{ a } 18 d) - 1,149 PAR - 2,84 Tm^2 + 1,283 Tmo^2 + 1,389 Tmm^2$$

Figura 18 - Fluxograma com base no clone I144 e modelo de previsão para os clones IPB02, I144, IPB13 e Toreliodora em condição com teto coberto.



Ao comparar os dois fluxogramas (Figura 17 e 18), observa-se que a temperatura média se manteve muito próxima nas duas condições, ao contrário do molhamento foliar. Para a condição com teto coberto, o molhamento foliar foi maior para a ocorrência da doença, variando de 6 a 19 horas. Na condição a céu aberto, o molhamento foliar com média de 2 horas e máxima de 14 horas, foram favoráveis a doença.

Ao aplicar o *stepwise* do programa *Minitab*[®], foram elaboradas funções do oídio por clone e condição. Os modelos apresentaram análises de regressão múltiplas para encaixar um modelo com os preditores e eliminar os preditores que não têm uma relação estatisticamente significativa com a resposta. As funções apresentaram R² variando de 0,7322 e 0,999, correlação de 0,71 e 0,99, apresentando-se como modelos confiáveis para a previsão da doença em condições a céu aberto e com teto coberto. É importante destacar que um coeficiente de

determinação mais próximo de 1, aumenta a precisão do modelo (AMORIM *et al.*, 2018). Os modelos elaborados apresentam dados de severidade presente, logo, em casos de severidade nula, o modelo não foi calculado, pois a porcentagem da severidade tem importância na presença e não na ausência da doença. Caso o modelo seja aplicado com severidade nula, os resultados serão nulos, negativos ou acima de 100%. Assim, para resultados obtidos pelo modelo muito discrepantes, pode-se concluir que não há doença no campo, constatando o fim da epidemia.

As equações para o jardim clonal a céu aberto (Tabela 7) apresentaram maiores precisões e menores QMRs se comparadas à condição com teto coberto (Tabela 8). As precisões na condição a céu aberto variaram de 0,7645 a 0,999, sendo o clone I144 e IPB2 com os maiores R^2 entre os modelos. Observam-se nas equações de SEVD (severidade a céu aberto) do clone I144, IPB13 e IPB2, os maiores coeficientes negativos, representados pela precipitação e temperatura média, sendo estes fatores os mais influentes nas funções. Na Tabela 8, para o Toreliodora, a precipitação não foi um fator determinante para a severidade da doença, por isso, não foi apresentada na equação. O aumento da precipitação influencia diretamente na redução da incidência de oídio em todo o mundo e na ausência de precipitação, aumenta a incidência, devido aos esporos não serem removidos pela lâmina de água na superfície foliar (BOUGHEY, 1949; AMORIM *et al.*, 2018).

As equações na condição com teto coberto (Tabela 8) apresentaram precisões entre 0,7322 e 0,9168, e correlação variando de 0,71 a 0,95. A partir desses resultados, o clone IPB2 foi o que apresentou a melhor equação. Os clones I144, IPB13 e Toreliodora apresentaram altas amplitudes climáticas e QMR, o que pode explicar as menores precisões obtidas.

No presente trabalho, a % de severidade avaliada varia para cada clone (Tabela 7). A severidade é calculada acima de 6% para os clones I144, IPB13 e IPB2. Para o Toreliodora, a equação pode ser aplicada apenas a partir da severidade de 3%. Logo, severidade leve ou nula não é calculada nas equações apresentadas.

Em todas as equações, o coeficiente mais influente nos resultados de severidade está relacionado com a temperatura média. Amorim e colaboradores (2018) acreditam que a temperatura favorável colabora com a resistência das plantas às doenças, devido ao aumento de produção de compostos fenólicos e

mecanismos de defesa contra a colonização do patógeno. Ainda no verão, há redução do processo de infecção do oídio em feijão caupi, com o aumento da temperatura (SANTANA *et al.*, 2012).

Tabela 7 - Equações e coeficientes de determinação (R^2) obtidas em regressão múltipla, para dados de severidade de *Podosphaera pannosa* no eucalipto em função das variáveis climáticas em condição a céu aberto

Equação em Condição a céu aberto	R^2	QMR
$\text{SEVD}_{I144} = 135,957 + 4,18258 T_{\text{max}} - 4,90912 T_{\text{min}} + 1606,67 T_{\text{med}} - 722,266 T_{\text{med}}(1830 \text{ a } 530\text{d}) - 895,569 T_{\text{med}}(6 \text{ a } 18 \text{ d}) + 17,8490 \text{ HM} - 12,3266 \text{ HO} - 1,21944 \text{ PAR} - 45,1636 \text{ PPT} + 0,296020 \text{ UR}_{\text{med}} - 36,9912 T_{\text{m}}^2 + 18,5358 T_{\text{mo}}^2 + 18,9285 T_{\text{mm}}^2$	0,999 $\rho = 0,999$	0,001
$\text{SEVD}_{\text{IPB13}} = 285,8 - 0,5068 \text{ UR}^2 + 1,87 T_{\text{med}}^2 + 0,1254 \text{ UR} * T_{\text{m}} - 0,4742 T_{\text{mo}}^2 - 0,5258 T_{\text{mm}}^2 - 0,539 T_{\text{min}}^2 + 0,1333 T_{\text{max}}^2 + 3,389 \text{ PAR} - 35,81 \text{ PPT} + 0,3362 \text{ UR}_{\text{med}} + 28,98 \text{ GD} - 20,35 T_{\text{max}} - 31,17 T_{\text{med}}$	0,9364 $\rho = 0,952$	0,2143
$\text{SEVD}_{\text{IPB2}} = 94,71 - 0,3210 \text{ UR}^2 + 0,8978 T_{\text{med}}^2 + 0,0752 \text{ UR} * T_{\text{m}} - 0,3416 T_{\text{mo}}^2 - 0,2529 T_{\text{mm}}^2 - 0,05872 T_{\text{min}}^2 + 0,1152 T_{\text{max}}^2 + 2,878 \text{ PAR} - 22,10 \text{ PPT} + 0,3997 \text{ UR}_{\text{med}} - 4,109 \text{ GD} - 6,731 T_{\text{max}} - 4,178 T_{\text{med}}$	0,8076 $\rho = 0,867$	0,6269
$\text{SEVD}_{\text{Tore}} = -45,54 - 0,457 T_{\text{min}} + 121,8 T_{\text{med}} - 52,1 T_{\text{med}}(1830 \text{ a } 530\text{d}) - 62,9 T_{\text{med}}(6 \text{ a } 18 \text{ d}) - 1,149 \text{ PAR} - 2,84 T_{\text{m}}^2 + 1,283 T_{\text{mo}}^2 + 1,389 T_{\text{mm}}^2$	0,7645 $\rho = 0,827$	0,6500

SEVD= severidade na área a céu aberto, UR= Umidade relativa acima de 90% (horas), URmed= Umidade relativa média diária, Tmed= Temperatura média, Tmin=Temperatura mínima, Tmax= Temperatura máxima, HM= horas de molhamento na semana, HO= horas de orvalho na semana, Tmo= Temperatura média de orvalho, Tmm= Temperatura média de molhamento, PAR= radiação fotossinteticamente ativa, PPT= precipitação, GD= Graus dia diário

Tabela 8 - Equações e coeficientes de determinação (R^2) obtidas em regressão múltipla, para dados de severidade de *Podosphaera pannosa* no eucalipto em função das variáveis climáticas em condição com teto coberto

Equação em Condição Com teto coberto	R^2	Severidade de calculada a acima de	QMR
$\text{SEVC}_{I144} = -162,6 + 12,90 T_{\text{max}} - 292,2 T_{\text{med}} + 175,5 T_{\text{med}}(1830 \text{ a } 530\text{d}) + 127,0 T_{\text{med}}(6 \text{ a } 18 \text{ d}) + 1,697 \text{ PAR} - 9,23 \text{ HM}$	0,8004 $\rho = 0,84$	6 %	31,93

$6,84 \text{ HO} + 0,5078 \text{ Tmin}^2 - 1,096 \text{ Tmo}^2 -$ $1,117 \text{ Tmax*UR} - 2,466 \text{ Tmin*UR} + 28,7 \text{ Tmed*UR} -$ $11,80 \text{ Tmo*UR} - 13,25 \text{ Tmm*UR}$			
$\text{SEVC}_{\text{IPB13}} = 1054 - 12,28 \text{ Tmax} - 55,5 \text{ Tmin} -$ $2983 \text{ Tmed} + 1422 \text{ Tmed (1830 a 530d)}$ $+ 1491 \text{ Tmed (6 a 18 d)} + 36,54 \text{ PAR} + 37,6 \text{ HO}$ $+ 3,131 \text{ URmed} + 79,6 \text{ Tmed}^2 - 41,63 \text{ Tmo}^2 -$ $35,72 \text{ Tmm}^2 - 0,644 \text{ UR}^2 - 5,485 \text{ Tmax*UR} -$ $1,686 \text{ Tmin*UR} + 83,8 \text{ Tmed*UR} - 43,6 \text{ Tmo*UR} -$ $34,3 \text{ Tmm*UR}$	0,7322 $\rho=0,71$	6%	49,52
$\text{SEVC}_{\text{IPB2}} = 145,7 + 20,63 \text{ Tmax}$ $+ 392,1 \text{ Tmed} - 96,8 \text{ Tmed (1830 a 530d)}$ $317,2 \text{ Tmed (6 a 18 d)} + 8,83 \text{ PAR} - 10,58 \text{ HM} -$ $5,95 \text{ HO} + 0,6454 \text{ URmed} - 0,4338 \text{ Tmax}^2 -$ $0,4404 \text{ Tmin}^2 - 3,949 \text{ Tmed}^2 + 4,320 \text{ Tmm}^2$ $+ 0,4149 \text{ UR}^2 - 0,1368 \text{ Tmax*UR} + 0,5230 \text{ Tmin*UR}$	0,9168 $\rho= 0,957$	6%	3,328
$\text{SEVC}_{\text{Tore}} = -48,1 + 12,39 \text{ Tmax} - 4,56 \text{ Tmin}$ $+ 111,4 \text{ Tmed} - 32,6 \text{ Tmed (1830 a 530d)}$ $82,0 \text{ Tmed (6 a 18 d)} - 2,291 \text{ PAR} + 1,632 \text{ HM}$ $+ 2,21 \text{ HO} - 0,1934 \text{ Tmax}^2 + 0,1306 \text{ Tmin}^2 -$ $2,477 \text{ Tmed}^2 + 0,859 \text{ Tmo}^2 + 1,617 \text{ Tmm}^2 -$ $0,0661 \text{ UR}^2 - 0,282 \text{ Tmax*UR} + 0,0974 \text{ Tmin*UR} -$ $0,817 \text{ Tmed*UR} + 0,976 \text{ Tmm*UR}$	0,7369 $\rho= 0,85$	3%	1,9049

SEVC= severidade na área com teto coberto, UR= Umidade relativa acima de 90% (horas), URmed= Umidade relativa média diária, Tmed= Temperatura média, Tmin=Temperatura mínima, Tmax= Temperatura máxima, HM= horas de molhamento na semana, HO= horas de orvalho na semana, Tmo= Temperatura média de orvalho, Tmm= Temperatura média de molhamento, PAR= radiação fotossinteticamente ativa, PPT= precipitação, GD= Graus dia diário

Na Tabela 9, as equações representam a média de severidade de todos os clones. A equação em condição com teto coberto apresenta maior confiabilidade do que a equação em condição a céu aberto, sugerindo resultados opostos aos obtidos com os modelos anteriores, os quais estão de acordo com os dados experimentais. A média da severidade foi leve entre clones na condição a céu aberto, o que justifica a menor confiabilidade do modelo, já que a severidade pouco variou nas semanas de avaliações. Em condição com teto coberto, a severidade foi mais alta e o modelo foi melhor explicado, em virtude de o modelo apresentar melhor desempenho em

condições de alta severidade. Os modelos que consideram a média dos clones não parecem representar a realidade deles, pois a incidência de oídio é variável para cada clone. Dessa maneira, os modelos representados na Tabela 10 parecem subestimar o resultado de severidade.

Tabela 9 - Equação da média dos clones na condição com teto coberto e a céu aberto para determinar a severidade

Equação em Condição a céu aberto	R ²	Severidade calculada acima de	QMR
$\text{SEVD}_{\text{Med}} = 73,3 - 4,156 \text{ Tmáx} - 2,366 \text{ Tmín} - 751 \text{ Tmed} + 340,4 \text{ Tmed (1830 a 530d)} + 404 \text{ Tmed (6 a 18 d)} + 2,375 \text{ HO} + 3,044 \text{ PAR} - 12,77 \text{ PPT} + 0,2496 \text{ URmed} + 17,85 \text{ Tm}^2 - 8,77 \text{ Tmo}^2 - 8,79 \text{ Tmm}^2$	0,7939 $\rho = 0,802$	2%	0,26041
Equação em Condição com teto coberto	R ²	Severidade calculada acima de	QMR
$\text{SEVC}_{\text{Med}} = -300,1 + 123,6 \text{ Tmáx} + 10,35 \text{ Tmin} + 1176 \text{ Tmed} - 394,4 \text{ Tmed (1830 a 530d)} - 891,6 \text{ Tmed (6 a 18 d)} - 11,24 \text{ HM} + 12,25 \text{ HO} + 1,320 \text{ Urmed} - 1,984 \text{ Tmax}^2 - 1,418 \text{ Tmin}^2 - 22,63 \text{ Tmed}^2 + 9,34 \text{ Tmo}^2 + 15,96 \text{ Tmm}^2 - 1,279 \text{ Tmax*UR} + 1,457 \text{ Tmin*UR} - 7,238 \text{ Tmed*UR} + 6,814 \text{ Tmm*UR}$	0,8801 $\rho = 0,938$	5%	5,451

SEVC= severidade na área com teto coberto, UR= Umidade relativa acima de 90% (horas), URmed= Umidade relativa média diária, Tmed= Temperatura média, Tmin=Temperatura mínima, Tmax= Temperatura máxima, HM= horas de molhamento na semana, HO= horas de orvalho na semana, Tmo= Temperatura média de orvalho, Tmm= Temperatura média de molhamento, PAR= radiação fotossinteticamente ativa, PPT= precipitação, GD= Graus dia diário

Em campo, podem ser realizadas aplicações práticas das informações apresentadas. O produtor, com sua estação metereológica, pode optar pelo uso da tabela modificada de Mills, fluxograma ou pela própria estação metereológica instalada, para emitir alerta da doença com a função inserida no datalogger do programa.

6 CONCLUSÕES

O patógeno identificado na cultura do eucalipto foi o *Podosphaera pannosa*, encontrado em Botucatu - São Paulo.

Dentre as variáveis climáticas, a precipitação na condição a céu aberto foi o fator climático de maior relevância para determinar a severidade da doença. Tanto na condição com teto coberto como na céu aberto, a temperatura média foi o fator mais influente nas funções.

A tabela modificada de Mills e o fluxograma foram elaborados para cada clone, apresentando as variáveis de ocorrência do patógeno para doença severa, moderada, leve/nula.

As equações de previsão de doença em condição com teto coberto por plástico e a céu aberto, apresentaram boa precisão (0,7322 a 0,999) e correlação (0,71 a 0,99) com a taxa de crescimento da doença no viveiro, permitindo sua utilização na previsão do aparecimento de *Podosphaera pannosa* em eucalipto. Comparando os clones, as equações com as maiores precisões e menores QMRs foram as dos clones I144 e IPB13, em jardim clonal a céu aberto.

REFERÊNCIAS

- ABREU *et al.* A Current Overview of the Papaya meleira virus, an Unusual Plant Virus. **Viruses**, Basel, v.7, n.4, p.1853-1870, 2015.
- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. **Academic**, San Diego, v.3, p.295-298, 1998.
- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. **Elsevier**, Nova York, v.5, p.922, 2005.
- AGROFIT. *In*: AGROFIT, 2020. Disponível em : www.agrofit.agricultura.gov.br. Acesso em 5 ago. 2019.
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W; BLACKWELL, M. Introductory Mycology. **Wiley & Sons**, Nova York, v.4, p. 869, 1996.
- ALFENAS, A.C. *et al.* Clonagem e doenças do eucalipto. **Imprensa Universitária**, Viçosa, p.500, 2009.
- ALVES, E. S.; CARDOSO, J. E.; SILVA, L. G. C.; LIMA, J. S. L. Interação das condições edafoclimáticas com a resinose do cajueiro. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 1320-1345, 2013.
- ALTSCHUL, S.F *et al.*, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology** 215, p.403–410, 1990.
- ALTSCHUL, S.F. *et al.*, BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**, v.25, p. 3389-3402, 1997.
- AMORIN, L.; BERGER, R.D.; BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B.; WEBER, G.E.; BACCHI, L.M.A.; VALE, F.X.R.; SILVA, M.B. A simulation model to describe epidemics of rust of phaseolus beans II. Validation. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 85, p.722-727, 1995
- ANALYTIS, S Methodik der Analyse von Epidemien dargestellt am Apfelschorf (*Venturia inaequalis* (Cooke).Aderh.). **Acta Phytotaxonomia**, p.1-76, 1973.
- ANGELOTTI, F. *et al.* Sistema de alerta e previsão para doenças da videira. **Embrapa Semiárido Documentos**, Brasília, DF, v. 251, p. 34, 2012. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/954176>>. Acesso em: 10 set. 2019.
- ABRAF. **Anuário estatístico 2013**: ABRAF, Brasília, DF, p.1-148, 2013.
- AUER, C.G.; DOS SANTOS, A.F.; FURTADO, E.L. Doenças do Eucalipto. *In*: AMORIM, L. *et al.* **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2016. p.337.
- AUST, H. J.; HOYNINGEN-HUENE, J. V. Microclimate in relation to epidemics of powdery mildew. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 24, p. 491-510, 1986.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELULOSE E PAPEL. **IBÁ 2014**: Indústria brasileira de Árvores, São Paulo, p. 1-80, 2014.

BAKER, C.J. *et al.* Genetic variability and host specialization in the Latin American clade of *Ceratocystis fimbriata*. **Phytopathology**, São Paulo, v. 93, p. 1274-1284, 2003.

BARBOSA, M. A **Tecnologia de aplicação de produtos alternativos no controle de *Oidium* spp. em eucalipto**. 2015. Dissertação (Mestrado em Agricultura tropical)- Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2015.

BEDENDO, I. P. Oídios. *In*: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Editora Ceres, 1995, p. 866 - 871.

BEDENDO, I. P. Oídios. *In*: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Editora Ceres, 2011, p. 473 - 477.

BEDENDO, I.P. Oídios. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2018, p.351-355.

BERGAMIN FILHO, A. AMORIM, L. **Doenças tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Editora Ceres, 1996, p.289.

BERTOLA, A. Eucalipto - 100 anos de Brasil- “Falem mal, mas continuem falando de mim!”. **Setor de Inventário Florestal – V&M Florestal Ltda**, Curvelo, p. 91, 2013.

BERTOLUCCI, F.; REZENDE, G.; PENCHEL, R. Produção e utilização de híbridos de eucalipto. **Silvicultura**, São Paulo, v. 51, n. 8, p. 12-16, 1995.

BETTIOL, W. Leite de vaca cru para controle de oídio. **Comunicado técnico da EMBRAPA**, Jaguariúna, SP, n. 14, p.3, 2004.

BIZI, R. M.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; AUER, C. G. Seleção de fungicidas para controle de oídio em eucalipto. **Boletim de pesquisa florestal EMBRAPA**, Colombo, PR, n.51, p.165-179, 2005.

BIZI, R. M. **Alternativas de controle do mofo-cinzento e do oídio em mudas de eucalipto**. 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BONHOMME, R. Bases and limits to using degree day units. **European Journal of Agronomy**, Amsterdã, v.13, p.1–10, 2000.

BOUGHEY, A. S. The ecology of fungi which cause economic plant diseases. **Transactions of the British Mycological Society**, Reino Unido, v. 32, p. 179-189, 1949.

BRAUN U. A monograph of the Erysiphales (powdery mildews). **Beihefte zur**, Nova Hedwigia, p.89, 1987.

- BRAUN, U, TAKAMATSU, S. Phylogeny of Erysiphe, Microsphaera, Uncinula (Erysipheae) and Cystotheca, Podosphaera, Sphaerotheca (Cystothecaceae) inferred from rDNA ITS sequences some taxonomic consequences. **Schlechtendalia**, Nova Hedwigia, v.4, p.1-33, 2000.
- BROWN, B.N. Management of disease during eucalypt propagation. In: KEANE, P. J.; KILE, G. A.; PODGER, F. D.; BROWN, B. N. **Diseases and pathogens of Eucalypts**. Collingwood: CSIRO Publish, 2000, p. 487-517.
- CAMPANHOLA, C., BETTIOL, W. Métodos alternativos de controle fitossanitário. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, SP, p. 279, 2003.
- CAMPBELL, C.L.;MADDEN, L.V. **Introduction of plant disease epidemiology**. Nova Iorque: John Wiley, 1990, p.591.
- CÑIZARES, K.A.L. A cultura do pepino. In: Goto, R. & Tivelli, S.W. (Eds.) **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. Botucatu. UNESP, 1998, p.195-224.
- CARDOSO, J. *et al.* Monitoramento de Doenças na Cultura do Cajueiro. **Documentos 47**, Fortaleza, p.26, 2006.
- CARDOSO, L.S *et al.* Padrões de interceptação de radiação solar em vinhedos com e sem cobertura plástica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal,SP, v. 32, p. 161-171, 2010.
- CARDOSO *et al.* Controle Químico do Oídio do Cajueiro. **Comunicado Técnico 196** Fortaleza, p. 4, 2012.
- CARISSE, O. *et al.* A degree-day model to initiate fungicide spray programs for management of grape powdery mildew [Erysiphe necator]. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 31, n. 2, p. 186–194, 2009.
- CARVER, T. L. W. Pathogenesis and host-parasite interaction in cereal powdery mildew. In: HESS, W. *et al.* **Experimental and Conceptual Plant Pathology**. Nova Iorque, v.2, p. 351-381, 1988.
- CARVER, T. L. W.; ZEYEN, R. J.; LYNGKJAER, M. F. **Plant cell defences to powdery mildew of gramineae**. Warwickshire, UK: Association of Applied Biologists, 1995, p. 257- 266.
- CHAVARRIA, G. *et al.* Incidência de doenças e necessidade de controle em cultivo protegido de videira. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal,SP, v. 29, n. 3, p. 477-482, 2007.
- COELHO JÚNIOR, L.M. *et al.* Análise temporal da borracha natural brasileira. **Cerne**, Lavras, v.15, n.1, p.19-26, 2009.
- COSMI, F. C. *et al.* Análise epidemiológica da evolução temporal da meleira do mamoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.43, n.4, p. 303–309, 2017.

COSTA, R. V.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; MIZUBUTI, E. S. G. Previsão da requeima da batateira. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília,DF, v. 27, p. 349-354, 2002.

COTTERRIL, P.P.; BROLIN, A. Improving Eucalyptus wood, pulp and paper quality by genetic selections. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPT, 1997, Salvador. **Proceedings**. Colombo:EMBRAPA- Centro Nacional de Pesquisa de Florestas, 1997, p.1-13.

CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, Botucatu,SP, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2009.

DA SARTORI, A. A. C. *et al.* Variabilidade temporal e mapeamento dos dados climáticos de botucatu-sp. **Irriga**, Botucatu,SP, v. 15, n. 2, p. 131–139, 2010.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation produce for small quantities of fresh leaf tissue, **Phytochemical Bulletin**, Nova York, Estados Unidos, v.19, p.11-15, 1987.

DUTZMAN, S. Analyse der Beziehungen zwischen Klimadaten und Sporenproduktion und Sporenverbreitung von Erysiphe graminis f. sp. hardei. **Z Pflanzenkr Pflanzenschutz**, Amsterdã, v. 92, p. 629 - 642, 1985.

FARIAS, J. R. B. *et al.* Efeito da cobertura plástica de estufa sobre a radiação solar. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, RS, v. 1, n. 1, p. 31-36, 1993.

FERREIRA, F. A. A cultura do eucalipto II. Enfermidades do eucalipto no Brasil. Doenças em viveiros de eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo horizonte, MGv.18, p. 5-19, 1997.

FERREIRA, F.A.; MILANI, D. Diagnose visual e controle das doenças abióticas e bióticas do eucalipto no Brasil. **International Paper**, Mogi Guaçu, SP, p.98-104, 2002.

FERNANDES, J. M. C.; PAVAN, W.; VALDEBENITO SANHUEZA, R. M. Uso da informática na PI: SisAlert um estudo de caso. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PRODUÇÃO INTEGRADA DE FRUTAS, Bento Gonçalves. **Anais**, Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2007, p. 31-38.

FOELKEL, C. As plantações de florestas no Brasil. In: BORÉM, A. (Ed.). **Biotecnologia florestal**. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2007, p. 13-24.

FONSECA, N. R. *et al.* Eucalypt powdery mildew caused by Podosphaera pannosa in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, MG, v. 42, n. 4, p. 261–272, 2017.

FUKUI, R; FUKUI, H; ALVAREZ, A.M. Effect of temperature on the incubation period and leaf colonisation in bacterial blight of anthurium. **The American Phytopathological Society**, p.1007–1014, 1999.

FURTADO, E. L. *et al.* Doenças em viveiro de Eucalyptus sp.: diagnóstico e manejo. Botucatu: Votorantim Celulose e Papel, **Unidade Florestal**, p.23, 2001.

GAO, R.; ZHANG. 2013. Potential of DNA barcoding for detecting quarantine fungi. *Phytopathology*, 103: 1103–1107, 2013. GARCÍA-MOZO H. The use of aerobiological data on agronomical studies. **Annals of Agriculture and Environment Mediterranica**, Bethesda, n. 18, p. 159–164, 2011.

GARRIDO, L. R.; SÔNEGO, O. R. **Uvas viníferas para processamento em regiões de clima temperado: doenças fúngicas e medidas de controle**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, Sistema de Produção, 2003. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/index.htm>. Acesso em: 10 jun 2019.

GENT, D. H.; SCHWARTZ, H. F. Validation of potato early blight disease forecast models for Colorado using various sources of meteorological data. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, p. 78-84, 2003.

GOMES, C. *et al.* Inoculação de ceratocystis finbriata Ellis "Halsted em Eucalyptus spp. e avaliação da diversidade genética por marcadores ISSR. **Scientia Forestalis**, v. 47, n. 123, p. 579–587, 2019.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; SÔNEGO, O. R. Principais doenças fúngicas da videira no Brasil. Comunicado técnico 17, Bento Gonçalves, RS, p.36, 1993.

GUZMAN-PLAZOLA, R.A.; DAVIS, R.M.; MAROIS, J.J. Effects of relative humidity and high temperature on spore germination and development of tomato powdery mildew (*Leveillula taurica*). **Crop Protection**, v. 22, p. 1157–1168, 2003.

HAU B, DE VALLAVIEILLE-POPE C. Wind-dispersed diseases. In: Garreth-Jones D (ed) **The epidemiology of plant diseases**. Kluwer, Dordrecht, p. 323-347, 1998.

IBÁ. **Indústria Brasileira de Árvores 2019**, São Paulo, p. 1-80, 2019. Disponível em: <<https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>> Acesso em 2 ago. 2019.

JHOOTY, J. S.; MCKEEN, W. E., Water relation of a sexual spore of *Sphaerotheca macularis* (Well. Ex. Fr.) Cook and Erysiphe polygoni D.C. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.11, n.3, p.531–538, 1965.

KIMATI, H.; BERGAMIM FILHO, A. Princípios gerais de controle. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia**. v.1. São Paulo: Ed. Ceres, 1995, p. 692-709, 1995.

KIMATI, H. *et al.* Guia de Fungicidas Agrícolas – Recomendações por Cultura. **Grupo Paulista de Fitopatologia**, Jaboticabal, SP, v.1, p. 225, 1997.

KOVÁCS, G. M.; JANKOVICS, T.; KISS, L. Variation in the nrDNA ITS sequences of some powdery mildew species: Do routine molecular identification procedures hide valuable information. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, n. 1, p. 135–141, 2011.

KRANZ, J. **Comparative Epidemiology of Plant Diseases**.v.3. Giessen: Springer, v.3, 2003, p. 1-212.

KUNOH, H.; MATSUOKA, K.; KOBAYASHI, I.. Ultrastructure of appillae induced in barley coleoptile cells by a pathogen, *Erysiphe graminis*, and a nonpathogen, *E. pisi*. **Revista Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 418-425, 1996.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R. Doenças das solanáceas (berinjela, jiló, pimentão e pimenta). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 2005, p. 589-596.

LOVELL, D. J. *et al.* A perspective on the measurement of time in plant disease epidemiology. **Plant Pathology**, York, UK, v. 53, n. 6, p. 705–712, 2004.

MARCHIORI, J.N.C. Primórdios da silvicultura no Rio Grande do Sul. 1-**Nota sobre a introdução do gênero Eucalyptus**, Santa Maria, RS, n.44, p.21-31, 2014.

MILLS W. Efficient use of sulfur dusts and sprays during rain to control apple scab. **Cornell Extension Bulletin**, Massachusetts, v. 630, p.1–4, 1944.

MILLS W., LAPLANTE A. Diseases and insect in the orchard. **Cornell Extension Bulletin**, Massachusetts, p. 711-7255, 1954.

MINITAB, LLC 2010. Disponível em www.minitab.com. Acesso em: 01 jul. 2020.

MIZUBUTI, E. S. G.; MAFFIA, L. A. **Introdução á Fitopatologia**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006, p. 190p., 2006.

MORI, Y; SATO, Y; TAKAMATRU,S; Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. **Mycologia**, Tsu, Japão, v.92, n.1, p.74-93, 2000.

MUCCI, E. S. F.; PITTA, G. P. S.; YOKOMIZO, N. K. S. O oídio em mudas de eucalipto. **Instituto Florestal**, São Paulo, 1980. Mimeografado.

OLIVEIRA, S. H. F. **DOENÇAS DO FEIJOEIRO**: guia de identificação, fenologia e controle. São Paulo: Instituto Biológico, 1999, p.58.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; MORANDI, M. A. B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. B. da. Controle Alternativo de Doenças de Plantas – Histórico. In: VENEZON, M; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Eds.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, 2005.p. 135-162.

PETRUZZELLO, M. **Powdery Mildew**. Miami: Encyclopaedia Britannica. 2017 Disponível em: <https://www.britannica.com/science/powdery-mildew>. Acesso em: 01 jul. 2020.

- PFENDER, W.F. Prediction of stem rust infection favourability, by means of degree-hour wetness duration, for perennial ryegrass seed crops. **Phytopathology**, Bathesda, EUA, v.93, p.467–77, 2003.
- PINTO, O. R. D. O. *et al.* Importância do oídio em plantas cultivadas: abordagem em frutíferas e olerícolas. **Enciclopédia Biosfera - Centro Científico Conhecer**, v. 10, n. 18, p. 19–29, 2014.
- REIS, E.M. *et al.* **Doenças na Cultura da Soja**. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 2004, p.1-177.
- REIS, A. **Atenção para o oídio em hortaliças**. Brasília: Embrapa hortaliças, 2013. Disponível: <http://www.cnpq.embrapa.br/paginas/imprensa/releases/oidio_em_hortaliças.html>, acesso: 27 de set de 2019.
- RÉAUMUR, R.A. Observations du thermomètre faites pendant l'année MDCCXXXV comparées à celles qui ont été faites sous la ligne à l'Isle-de-France, à Alger et en quelques-unes de nos Isles de l'Amérique. **Mémoires de l'Académie Royal des Sciences**, p.545–76, 1735.
- REUVENI R, ROTEM J. Epidemics of *Leveillula tau rica* on tomatoes and pepper as affected by the conditions of humidity. **Journal of Phytopathology**, Bet Dagan, Israel, v. 76, p.153-157, 1973.
- ROBERTS, D.A.; BOOTHROYD, C.W. **Fundamentals of Plant Pathology**. San Francisco: W.H. Freeman, 1975. p.1-402.
- RONQUIST, F.; J.P. HUELSENBECK. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, Upssala, v.19, n.12, p.1572-1574, 2003.
- RUIZ, A. M. **Intensidade de sintomas de oídio em minijardim clonal de eucalipto sob diferentes ambientes de cultivo**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2019.
- SANTAROSA, E.; JÚNIOR, J. F. P.; GOULART, I. C. G. DOS R. Cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda, **Infoteca Embrapa**, Brasília, DF, p.1-140, 2014.
- SANTOS, Á. F. DO; AUER, C. G.; JUNIOR, A. G. Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle. **Circular Técnica Embrapa Florestas**, Curitiba, PR, p. 1–20, 2001.
- SANTOS R. P.; CARVALHO FILHO, M. R.; MARTINS, I. Avaliação de Isolados de *Trichoderma* spp. e *Gliocladium virens* na Promoção de Crescimento em Mudanças de Eucalipto e na Produção de Ácido Indolacético In Vitro. **Embrapa recursos genéticos e Biotecnologia**, Brasília, p. 1–21, 2008.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. D. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 12, p. 129–137, 2000.

SILVA, L. F. Propagação vegetativa do eucalipto: experiência da International Paper do Brasil. **IPEF Notícias**, Piracicaba, v. 25, n. 156, p. 4-5, 2001.

SILVA, Maria D. D. *et al.* Germinação de conídios de *Sphaerotheca pannosa* obtidos de eucalipto. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p.1-4, 2003.

SCHOCH *et al.* Fungal Barcoding Consortium Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Pensilvânia, EUA, v.109, p.6241–6246, 2012.

STADNIK, M. J.; RIVERA, M. C. Oídios. **Embrapa Meio Ambiente**, Jaguariúna, SP, p.484, 2001.

SUTTON, J.C.; GILLESPIE, T.J.; HILDBRAND, P.D. Monitoring weather factors in relation to plant disease. **Plant Disease**, Ontario, Canada, v.68, p.78-84, 1984.

SZENTIVÁNYI *et al.* *Ampelomyces mycopar*- asites from apple powdery mildew identified as a distinct group based on single-stranded conformation polymorphism analysis of the rDNA ITS region. **Mycological Research**, Budapeste, Hungria, v. 109, p. 429–438, 2005.

TAKAHASHI, K.; AIST, J. R.; ISRAEL, H. W.. Distribution of hydrolitic enzymes at barley powdery mildew encounter sites: implications of resistance associated with papilla formation in a compatible system. **Physiological Plant Pathology**, Palo Alto, v.27, p. 167- 184, 1985.

TAKAMATSU, S; KANO, Y. PCR primers useful for nucleotide sequencing of rDNA of the powdery mildew fungi. **Mycoscience**, Tsu, Japão, v.42, p.135– 139, 2001.

TAKAMATSU, S. Molecular phylogenetic analyses reveal a close evolutionary relationship between *Podosphaera* (Erysiphales: Erysiphaceae) and its rosaceous hosts. **Persoonia**, Tsu, Japan, v. 24, p.38–48, 2010.

TESSMANN, D. J.; R, J.; CAIXETA, M. P. Manejo de Doenças de Plantas em Cultivo Protegido. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.29, p. 355–372, 2004.

VANDERPLANK, J.E. Host-Pathogen Interactions in Plant Disease. **Academic Press**, Nova Iorque, USA, p.1- 207, 1982.

WHITE, T. J. *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A. (Eds.). **PCR protocols: a guide to methods and applications**. San Diego: Academic, 1990, p. 315-322.

XU, J.; ADAMOWICZ, S. Fungal DNA barcoding ¹. **Genome**, Ontario, Canada, v. 59, n. 11, p. 913–932, 2016.

XU X.M; BUTT D.J., PC-based warning systems for use by apple growers. **Bulletin OEPP**, Eslovênia, v.23, p.595-600, 1993.

XU, X.M. Modelling and forecasting epidemics of apple powdery mildew (*Podosphaera leucotricha*). **Plant Pathology**, Kent, Reino Unido, v.48, p.462–471, 1999a.

XU, X. M. Effects of temperature on the length of the incubation period of rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*). **European Journal of Plant Pathology**, v. 105, n. 1, p. 13–21, 1999b.

YARWOOD, C. E. Powdery mildews. **The Botanical Review**. California, EUA, v.13, p.235–278, 1957.

ZADOKS, J.C.; SCHEIN, R.D. Epidemiology and Plant Disease Management. **Oxford University Press**, Nova Iorque, EUA, p 1-427. 1979.