

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE BALSAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE**

MARCIANE FURTADO FREITAS

**RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS DE *Eucalyptus* SOB INOCULAÇÃO DE
*Ceratocystis fimbriata***

Balsas
2021

MARCIANE FURTADO FREITAS

**RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS DE *Eucalyptus* SOB INOCULAÇÃO DE
*Ceratocystis fimbriata***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Afonso Mazzei Moura de Assis Figueiredo

Balsas
2021

F866r

Freitas, Marciane Furtado.

Respostas ecofisiológicas de *eucalyptus* sob inoculação de *Ceratocystis fimbriata* / Marciane Furtado Freitas. – Balsas, 2021.

37f.

Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Agricultura e Ambiente, Centro de Estudos Superiores de Balsas, Universidade Estadual do Maranhão, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Afonso Mazzei Moura de Assis Figueiredo

1. *Ceratocystis fimbriata*. 2. *Eucalyptus* ssp. 3. Ecofisiologia. 4. Severidade I. Título.

MARCIANE FURTADO FREITAS

**RESPOSTAS ECOFISIOLÓGICAS DE *Eucalyptus* SOB INOCULAÇÃO DE
*Ceratocystis fimbriata***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente. Orientador: Prof. Dr. Fábio Afonso Mazzei Moura de Assis Figueiredo

Aprovado em 23/12/2021

BANCA EXAMINADORA



Dr. Fábio Afonso Mazzei Moura de Assis Figueiredo – UEMA (Orientador)



Dr. Weverton Pereira Rodrigues – UEMASUL (Membro)



Dra Erlen Keila Candido e Silva – UEMA (Membro)

Balsas - MA

2021

AGRADECIMENTOS

À minha querida família pelo apoio e incentivo, em especial ao meu esposo que sempre me auxiliou e me apoiou nos momentos difíceis e ao meu querido filho;

Ao Prof. Fábio Figueiredo, pela orientação, por toda paciência, dedicação, disponibilidade e buscou de todas as formas me manter no mestrado para eu não desistir. Por ser a ponte de conhecimento e incentivo durante o período de mestrado;

Ao Programa de Pós-graduação em Agricultura e Ambiente - PPGAA;

A Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa;

À Universidade Estadual do Maranhão - UEMA;

A pós-doutoranda Jailma e ao colega Patrick, pelo apoio, dedicação, atenção, por suas contribuições no desenvolvimento desse trabalho e pelos seus conhecimentos;

Ao Prof. Fabrício por ter disponibilizado matérias e as estruturas para a realização do trabalho;

A Professora Alice por ter disponibilizados os produtos e espaço no laboratório para execução do trabalho e seus conhecimentos;

A professora Erlen por toda paciência, apoio, atenção. Por todos conhecimentos essenciais na execução do trabalho;

Aos colegas de laboratório Larisse, Leo, pelo apoio, atenção e contribuições na execução do projeto;

Ao Prof. Heder Braun, por todo o auxílio com as análises estatísticas.

RESUMO

O eucalipto é uma espécie de ciclo de crescimento rápido e bastante utilizada para a produção de celulose e papel. Nas últimas décadas a expansão do cultivo tem registrado um aumento agressivo de doenças em viveiros e nas plantações florestais. É uma das doenças mais graves que a cultura do eucalipto vem enfrentando é a Murcha causada pelo fungo *Ceratocystis fimbriata*. Este fungo, quando coloniza a planta, irá obstruir o sistema vascular, e como resposta a planta forma tilos, géis ou material fúngico, que irão promover o bloqueio físico dos vasos do xilema e aumentar a resistência ao fluxo de água das raízes às folhas, induzindo a planta a um estresse hídrico. Em decorrência disso, o funcionamento fisiológico da planta será afetado e seu crescimento reduzido, levando a planta a ter sintomas como murcha, cancrs e podridão nas raízes, podendo chegar até a morte. Com isso, esse estudo objetivou avaliar as respostas ecofisiológicas de plantas de *Eucalyptus spp.* inoculadas com o fungo *C. fimbriata*. Os tratamentos utilizados foram os isolados LPF 1512, 1806, 1607, 1657, procedentes de São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso do Sul, respectivamente, e um tratamento testemunha, utilizando apenas água destilada. Os isolados de *C. fimbriata* foram cultivados em placa de Petri por 15 dias, foi realizado o preparo da suspensão para inoculação, adicionando 10 mL de água destilada e esterilizada nas placas com o crescimento fúngico. A inoculação foi realizada nas plantas 60 dias após o plantio. Com auxílio de um bisturi foi feita uma incisão longitudinal na epiderme das plantas com aproximadamente 1 cm de comprimento e 0,2 cm de profundidade e a uma altura de três centímetros do colo das plantas. Sendo aplicados 500 µL da suspensão de conídios com uma micropipeta automática. Após a inoculação realizou-se análises de crescimento, trocas gasosas, temperatura foliar e fluorescência da clorofila a. Pode-se concluir que a resistência ao fluxo de água nos vasos do xilema, imposta pela colonização por *C. fimbriata* no clone de *Eucalyptus* VCC 795, independente do isolado utilizado, resultou em déficit hídrico nas folhas e acarretou numa redução das trocas gasosas, além de prejudicar o desempenho fotossintético, observado através das reduções na densidade de centro de reações ativos (RC/ABS) e no índice fotossintético (Pi), e todos esses mecanismos desencadeados resultaram em uma redução no crescimento das plantas. Além disso, a análise de severidade do fungo indica que dos isolados utilizados no estudo o LPF 1657 foi o que mais afetou a fisiologia e o crescimento das plantas do clone de *Eucalyptus* VCC 795, fato esse que foi comprovado pelos menores valores em altura, A, gs e E, nas plantas inoculadas com esse isolado.

Palavras-chave: *Ceratocystis fimbriata*; *Eucalyptus spp.*; Ecofisiologia; Severidade.

ABSTRACT

Eucalyptus is a species with a fast growth cycle and is widely used for the production of pulp and paper. In the last decades, the expansion of cultivation has registered an aggressive increase of diseases in nurseries and in forest plantations. And one of the most serious diseases that the *Eucalyptus* crop has been facing is the wilt caused by the fungus *Ceratocystis fimbriata*. This fungus, when colonizing the plant, will obstruct the vascular system, and in response the plant forms tyloses, gels or fungal material, which will promote the physical blockage of the xylem vessels and increase the resistance to the flow of water from the roots to the leaves, inducing the plant to water stress. As a result, the physiological functioning of the plant will be affected and its growth reduced, leading the plant to have symptoms such as wilting, cankers and root rot, and may even die. Therefore, this study aimed to evaluate the ecophysiological responses of *Eucalyptus* spp. inoculated with the fungus *C. fimbriata*. The treatments used were the isolates LPF 1512, 1806, 1607, 1657, from São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso do Sul, respectively, and a control treatment, using only distilled water. The *C. fimbriata* isolates were cultivated in a Petri dish for 15 days, the suspension was prepared for inoculation, adding 10 mL of sterile distilled water to the fungal growth plates. Inoculation was performed on the plants 60 days after planting. With the aid of a scalpel, a longitudinal incision was made in the epidermis of the plants approximately 1 cm long and 0.2 cm deep and at a height of three centimeters from the neck of the plants. 500 μ L of the conidia suspension were applied with an automatic micropipette. After inoculation, analyzes of growth, gas exchange, leaf temperature and chlorophyll a fluorescence were performed. The study suggests that the resistance to water flow in the xylem vessels, imposed by the colonization by *C. fimbriata* in the *Eucalyptus* clone VCC 795, regardless of the isolate used, resulted in water deficit in the leaves and resulted in a reduction in gas exchange, in addition to impair photosynthetic performance, observed through reductions in active reaction center density (RC/ABS) and photosynthetic index (Pi), and all these triggered mechanisms resulted in a reduction in plant growth. In addition, the fungus severity analysis indicates that of the isolates used in the study, LPF 1657 was the one that most affected the physiology and growth of the *Eucalyptus* clone VCC 795 plants, a fact that was confirmed by the lowest values in height, A, gs and E, in plants inoculated with this isolate.

Keywords: *Ceratocystis* wilt; *Eucalyptus* spp.; Ecophysiology, Severity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	9
2.2 Objetivo Geral	9
2.3 Objetivos Específicos	9
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3.1 Cultura do eucalipto	10
3.2 O fungo <i>Ceratocystis fimbriata</i> X <i>Eucalyptus</i>	11
3.3 Comportamento ecofisiológico de plantas	12
4 MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 Área de estudo	16
4.2 Implantação do experimento	16
4.3 Variáveis ambientais	16
4.4 Tratamentos	17
4.5 Inoculação <i>Ceratocystis fimbriata</i>	17
4.6 Avaliações biométricas	18
4.7 Trocas gasosas	18
4.8 Fluorescência da clorofila <i>a</i>	19
4.9 Intensidade de verde	19
4.10 Termografia por infravermelho	19
4.11 Severidade do fungo	19
4.12 Delineamento experimental e análise dos dados	20
5 RESULTADOS	21
6 DISCUSSÃO	27
7 CONCLUSÃO	30
8 REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

Os povoamentos florestais, no Brasil, se expandem cada vez mais devido à uma crescente demanda por matéria prima para os diversos fins. Segundo o relatório anual da Indústria Brasileira de Árvores a área de florestas plantadas no Brasil totalizou 9,0 milhões de hectares em 2019, sendo que, aproximadamente, 77% desse total é composto por plantios de eucalipto (6,97 milhões de hectares) (IBÁ, 2020).

A indústria nacional, que tem como base a utilização do eucalipto, é focada para a produção, principalmente, de papel e celulose. Com o objetivo de atender a crescente demanda industrial foi necessário o desenvolvimento de clones com melhor adaptação a diferentes condições microclimáticas e alta produtividade (ZAUZA et al., 2004; ALFENAS et al., 2004; SILVA et al., 2012). Arelado à expansão do cultivo, tem sido registrado um aumento de doenças em viveiros e nos plantios florestais. Uma das doenças mais agressivas nas plantações de eucalipto é a murcha de ceratocystis, causada pelo fungo *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted, (ALFENAS et al., 2009; FERREIRA et al., 2013; SILVA et al., 2018). A ocorrência dessa doença no país já foi registrada nos estados da Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Maranhão e no Pará (ALFENAS et al., 2009; FERREIRA, 2009; GOMES et al., 2019), provocando prejuízos em várias espécies de importância econômica como, por exemplo: acácia negra (*Acacia mearnsii*), batata-doce (*Ipomoea batatas*), cacau (*Theobroma cacao*), café (*Coffea arabica*), citrus (*Citrus* spp.), Manga (*Mangifera indica*), eucalipto (*Eucalyptus* spp) e seringueira (*Hevea brasiliensis*) (FIRMINO, 2011). Este fungo, quando coloniza a planta, impede o fluxo normal de água e nutrientes através dos vasos do xilema, pois ao obstruir o sistema vascular, a planta responde ao ataque formando tilos, géis ou material fúngico, que irão promover o bloqueio físico dos vasos do xilema e aumentar a resistência ao fluxo de água das raízes às folhas, induzindo a planta a um estresse hídrico (TUMURA et al., 2012; PARK et al., 2013; BISPO et al., 2016a; SILVA et al., 2018).

Como resposta ao déficit hídrico a planta fecha os estômatos a fim de minimizar a perda de água para atmosfera, reduzindo a transpiração e conseqüentemente entrada de CO₂ na folha (BISPO et al., 2016a; 2016b; SILVA et al., 2018), além de aumentar a temperatura foliar (KASHIWAGI et al., 2008; BIJU et al., 2018). O estresse hídrico acompanhado de altas temperaturas, também pode promover a degradação das clorofilas, e acarretar em danos no aparato fotossintético das plantas, levando a uma redução na assimilação fotossintética de CO₂ (BHARGAVA et al., 2014; CAVALCANTE et al., 2018), prejudicando o crescimento da

planta, podendo causar murcha, cancrios e podridão nas raízes, e levar a planta a morte (BAKER et al., 2003; MAFIA et al., 2013; FIRMINO et al., 2013).

Neste sentido, considerando que a infecção pelo fungo *Ceratocystis fimbriata* pode impedir o fluxo de água e nutrientes na planta e que a intensidade dessa infecção pode estar associada a diferentes tipos de isolados deste fungo, o presente trabalho teve como objetivo estudar as respostas ecofisiológicas de plantas de *Eucalyptus spp.* inoculadas com diferentes isolados do fungo *C. fimbriata*.

2 OBJETIVOS

2.2 Objetivo Geral

Estudar as respostas ecofisiológicas de plantas de *Eucalyptus spp.* inoculadas com quatro isolados de *Ceratocystis fimbriata*.

2.3 Objetivos Específicos

- Identificar o grau de severidade de diferentes isolados de *Ceratocystis fimbriata* em plantas jovens de *Eucalyptus spp.*;
- Determinar os efeitos da inoculação de *Ceratocystis fimbriata* no comportamento ecofisiológico de plantas jovens de *Eucalyptus spp.*

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cultura do eucalipto

Nos primeiros anos de introdução, o eucalipto no Brasil teve como finalidade compor áreas de paisagismo, cercas vivas de quebra-ventos e extração de óleos essenciais (OLIVEIRA & PINTO JUNIOR, 2021), e depois, o uso da sua madeira para atender a demanda na construção de ferrovias (SAMPAIO, 1961; CASTRO et al., 2016). Atualmente, o crescimento da cultura no país tem sido em decorrência da utilidade da madeira para fins industriais e comerciais, como fonte energética, na produção de móveis, painéis de madeira e celulose, além do seu uso para reposição florestal e sistemas integrados de lavoura-pecuária-floresta (COSTA & OLIVEIRA, 2019; OLIVEIRA & PINTO JUNIOR, 2021). O aumento do cultivo dessas áreas se dá em grande parte ao rápido crescimento da espécie e fácil adaptação nos solos brasileiros, fazendo do Brasil um dos países mais eficientes na produção de matéria-prima de eucalipto (ASSIS, 2015; CASTRO et al., 2016; VECHI & JÚNIOR, 2018).

O eucalipto se desenvolve de maneira satisfatória em diversas condições edafoclimáticas, e já existem mais de 700 espécies descobertas, sendo que 20 dessas são exclusivamente para fins comerciais, destacando-se as espécies, *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla* (e seus híbridos interespecíficos), *E. benthamii*, *E. dunii*, *E. saligna* e *Corymbia citriodora* (BALDIN et al., 2017). Com o uso de boas práticas de manejo, o melhoramento genético e as condições edafoclimáticas, o Brasil se tornou reconhecido em todo mundo pela alta produtividade comparada a produção de outros países, com uma área plantada de 6,97 milhões de hectares. (IBÁ, 2020).

No país, aproximadamente 80% dos cultivos são mudas provenientes de clones e os demais 20% com mudas produzidas a partir de sementes (FOWLER, 2021). Os maiores detentores de áreas plantadas de eucalipto são os estados de Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, seguidos pelo estado de São Paulo, o Maranhão vem se alinhando aos demais como novos territórios com grande extensão de áreas plantadas de eucaliptos (RODRIGUES et al., 2021).

O Brasil apresenta uma produtividade média de 35,3 m³/ha ao ano nos cultivos de eucalipto. Apresentando uma leve queda na produção que estar associada ao efeito das mudanças climáticas, expansão para novas áreas, fatores bióticos e abióticos (IBÁ, 2020). Com o avanço nas áreas com plantios de eucalipto, tende a aumentar também o número de plantações que sofrem com o ataque de fitopatógenos, dentre estes, os fungos estão entre os microrganismos que mais provocam doença em espécies florestais (BALDIN et al., 2017).

O uso repetido das mesmas áreas, atrelado a regiões quentes e úmidas, torna-se propício ao aparecimento de doenças (JUNGHANS, 2000; FURTADO et al., 2008; MASSON et al., 2011). Nesse contexto, os cultivos introduzidos no Norte e Nordeste, que estão em larga expansão, estão mais susceptíveis a doenças fúngicas e bacterianas, devido suas condições edafoclimáticas como altas temperaturas, umidade do ar e radiação (IBÁ, 2018; OLIVEIRA et al., 2019)

3.2 O fungo *Ceratocystis fimbriata* X *Eucalyptus*

O gênero *Ceratocystis* compreende várias espécies de fungos amplamente distribuídas pelo mundo, registradas em nível de gênero como *Ceratocystis cacaofunesta*, *Ceratocystis paradoxa* e *Ceratocystis fimbriata*., onde *C. fimbriata* é considerada uma das espécies fitopatogênicas mais importantes no Brasil (FIRMINO, 2011; FIRMINO et al., 2018). Os primeiros registros desta doença, para a cultura do eucalipto, no país, foram em 1997, em cultivos monoclonais de híbridos de *Eucalyptus urophylla* com *Eucalyptus grandis*, no sudeste da Bahia (GOMES et al., 2019).

Ceratocystis fimbriata é um fungo polífago, com ampla distribuição geográfica e que causa doenças em diversas plantas lenhosas (PIVETA et al., 2013). O fungo pertence ao clado latino-americano do complexo de espécies de *C. fimbriata*, apresenta grande variabilidade genética e um amplo número de hospedeiros (OLIVEIRA et al., 2013). O fungo penetra na planta através das raízes ou por feridas frescas no tronco, geralmente causadas por ferramentas e equipamentos utilizados em práticas culturais ou lesões causadas por estresses de condições ambientais adversas (FERREIRA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2015), formando estrias radiais escuras ((FERREIRA & MILANI, 2002; RIZATTO, 2010; FERREIRA et al., 2013). Em seguida, se desloca por meio dos tecidos do xilema provocando uma descoloração na estrutura do tecido (BAKER et al, 2003; ZAUZA et al, 2004), levando a murcha da copa e galhos (FERREIRA & MILANI, 2002; RIZATTO, 2010; FERREIRA et al., 2013).

Internamente os tecidos do caule apresentam lesões radiais de coloração castanho-avermelhada que iniciam a partir dos ferimentos e podem se prolongar até as ramificações dos galhos (PIVETA et al., 2013), causando murcha e secamento da planta, que se processa rapidamente, permanecendo as folhas mortas aderidas a planta por muito tempo (RIZATTO, 2010). A doença é caracterizada por murcha e seca dos galhos laterais ou na copa da árvore, podendo causar morte da planta (FERREIRA et al., 2006; ALFENAS et al. 2009; MAFIA et al., 2013).

Os sintomas de murcha podem ser provocados em consequência da ativação dos mecanismos de defesa da planta que bloqueiam partes dos vasos do xilema (FIRMINO et al., 2018). As folhas murchas tendem a permanecer presas ao longo do tronco, e posteriormente as plantas apresentam baixo desenvolvimento, com brotações ao longo do fuste, morte de ponteiros e, até mesmo a morte da planta (MAFIA et al., 2011). Ferreira et al. (2013) descreveram que os sintomas internos através de cortes transversais no sentido radial em plantas de eucalipto, apresentam estrias escuras da medula que progridem no sentido radial, sem atingir o câmbio vascular e a casca interna. Os mesmos autores afirmam que nas regiões de continuidade da lesão na casca externa, as estrias atingiam o câmbio e os tecidos da casca interna, e a descoloração pode ocorrer por longa distância a partir das raízes aos ramos.

Segundo Pimenta et al. (2017), a doença vem sendo estudada pela sua importância nas plantações de eucalipto devido aos danos à produção e as dificuldades de controle. Além disso, um ponto importante da doença é alta variabilidade genética encontrada do fungo *Ceratocystis fimbriata* (FERREIRA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2015; SANTOS et al., 2020), se tornando um obstáculo na obtenção de um genótipo vegetal com resistência em campo. Portanto, é preciso estudos aprofundados e novas estratégias para compreender interação de diferentes isolados do fungo com plantas de eucalipto (SANTOS et al., 2020).

Esse patógeno também pode afetar as respostas ecofisiológicas da planta, pois, à medida que a folha vai murchando e perdendo sua atividade, a capacidade de trocas gasosas reduz e consequentemente afeta o processo fotossintético (SHTIENBERG, 1992; SILVA et al., 2018). A ação do fungo nos vasos condutores de seiva provoca uma resposta na planta, como a formação de tilos, géis ou material fúngico, que bloqueiam fisicamente os vasos do xilema, aumentando a resistência ao fluxo de água das raízes às folhas, mimetizando um estresse hídrico na planta (PARK et al., 2013; BISPO et al., 2016a; SILVA et al., 2018). Como a infecção vascular de *C. fimbriata* pode aumentar a resistência ao fluxo de água no xilema, torna-se importante entender como esses mecanismos funcionam, ou seja, características ecofisiológicas como trocas gasosas, temperatura foliar e fluorescência da clorofila *a*, têm sido consideradas como bons indicadores do estresse provocado pela ação de *C. Fimbriata* na planta (SILVA et al., 2018).

3.3 Comportamento ecofisiológico de plantas

As respostas ecofisiológicas têm sido usadas para identificar possíveis estresses ou danos à planta, que podem ser causados por fatores bióticos ou abióticos. O fungo *C. fimbriata* é um patógeno que afeta o sistema vascular das plantas, gerando como respostas a formação de

géis ou material fúngico que são depositados nos vasos do xilema, bloqueando assim a passagem de seiva para a parte aérea (PARK et al., 2013; BISPO et al., 2016a; SILVA et al., 2018).

O bloqueio dos tecidos vasculares resulta na diminuição na condutividade hidráulica e conseqüentemente, no fluxo de água e nutrientes para a parte superior da planta (PARKE et al., 2007; SCHENK et al., 2013; BISPO et al., 2016b), em respostas a essas reduções de água, ocorre os déficits hídricos internos e o aparecimento do sintoma de murcha (AL-ADAWI et al., 2006; BISPO et al., 2016b).

Essas alterações causadas pelo fungo na planta podem afetar o desempenho fotossintético, através de reduções nos teores de clorofilas e conseqüentemente influenciar na fluorescência da clorofila a. Além disso, afeta as trocas gasosas pelo fechamento estomático, induzindo a uma queda da transpiração e da assimilação fotossintética de CO₂, além de aumentar a temperatura foliar (BAKER & ROSENQVIST, 2004; ECCO et al., 2017; SILVA et al., 2018).

A taxa de transpiração nas folhas é determinada especialmente pela radiação, umidade e temperatura (SANTOS FILHO, 1984; CAVALCANTE et al., 2001). Porém, quando em condições de alta radiação e temperatura ou baixa disponibilidade hídrica o processo da fotossíntese na planta é reduzido, inibindo o crescimento e conseqüentemente a produtividade da mesma (GABARDO et al. 2020). O baixo desempenho fotossintético causado pelo déficit hídrico ocorre, pois a planta sofre limitações na abertura estomática, e inicia o estágio de privação de água e redução na fixação de CO₂, dificultando a assimilação fotossintética de CO₂ (FLEXAS et al., 2004a; FLEXAS et al., 2007; BISPO et al., 2016b). As plantas possuem mecanismos que detém a capacidade de reduzir o potencial hídrico, aliada a adaptações morfológicas, anatômicas e fisiológicas (NOGUEIRA et al., 2005; FERNANDES et al., 2015). Sob essas condições algumas plantas por estratégia, reduzem o número de folhas, outras produzem maior quantidade de cera na superfície da folha ou produzem maior quantidade de tricoma, com finalidades de reduzir a transpiração. Além disso, a planta aumenta a espessura da lâmina foliar que armazena mais umidade e CO₂ no interior da folha, e também a redução na densidade estomática ou estômatos menores, e todas essas estratégias contribuem na redução da perda de água por transpiração (REIS, 2018). A restrição da fotossíntese e/ou aumento da respiração limita a absorção do CO₂ e, conseqüentemente, interfere no acúmulo de biomassa pela planta (CATUCHI et al., 2012; GABARDO et al, 2020).

No sistema interno das plantas, durante a abertura dos estômatos ocorre o aumento da transpiração, conseqüentemente, produz-se um efeito de resfriamento na superfície da folha. Já

quando a planta se encontra sob estresse hídrico, ocorre o fechamento estomático parcial ou total para reduzir as taxas de transpiração e reduzir a perda de água para a atmosfera (BIJU et al., 2018). Em consequência da redução na absorção de água pela planta, também, ocorre a perda da turgescência celular, o que influencia na queda da condutância estomática (FLEXAS; MEDRANO, 2002; FLEXAS et al., 2004b; COSTA et al., 2015). Assim, a planta reduz a perda excessiva de água pela transpiração evitando a desidratação dos tecidos (ALBUQUERQUE et al., 2013; COSTA et al., 2015). Porém, as variações de temperatura no interior da planta estão relacionadas com o processo da condutância estomática e também da transpiração, o qual é um indicador essencial nas respostas de estresse (EATON & BELDEN, 1929; JACKSON et al., 1977; NILSSON, 1995; BIJU et al., 2018).

O estresse hídrico causado pelo fungo pode caracterizar a perda de clorofila que afeta a capacidade fotossintética das plantas (SILVA et al., 2014). As clorofilas são pigmentos verdes vitais para o processo da radiação luminosa e são convertidos em energia química, os quais estão associados com a eficiência fotossintética das plantas. Portanto, uma redução desses pigmentos na planta influencia no crescimento, produtividade e adaptação das plantas (SILVA et al., 2019).

A clorofila tem uma função importante no processo da fotossíntese, pois é capaz de captar energia luminosa, em especial a clorofila *a*, o principal pigmento dos complexos coletores de luz (LHC) para as reações fotoquímicas (TAIZ; ZEIGER, 2009; SILVA et al., 2014). Portanto, estudos sobre os pigmentos fotossintéticos são grandes ferramentas que auxiliam na avaliação da sanidade e integridade dos aparatos internos da célula durante o processo de fotossíntese (RONG-HUA et al., 2006; SILVA et al., 2014).

Pesquisas apontam que a fluorescência da clorofila *a* apresenta informações essenciais tanto da estrutura como do funcionamento do aparato fotossintético, especialmente do fotossistema II (FSII) (STRASSER et al., 1995; SILVA et al., 2011). A eficiência quântica máxima do fotossistema II (F_v/F_m), a densidade de centros de reações ativos (RC/ABS) e o índice fotossintético (P_i) são técnicas não destrutivas, qualitativas e quantitativas da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo fotossistema II e das relações com o processo fotossintético (SOUZA et al., 2020). Esses parâmetros fornecem meios para estimar a inibição ou o dano no processo de transferência de elétrons do fotossistema II (PSII) (KALAJI et al., 2016; SOUZA, 2020).

Assim, análises que permitam observar o funcionamento do aparato fotossintético são consideradas um bom indicador para verificar a vulnerabilidade das plantas a estresses como o causado por patógenos como *C. fimbriata*, principalmente por ser uma análise não invasiva,

altamente sensível, rápida e confiável (OLIVEIRA et al., 2018). Tornando uma ferramenta de grande importância que pode detectar respostas morfológicas e fisiológicas durante o desenvolvimento da planta quando submetida a alguma condição de estresse (SILVA et al., 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, nas dependências da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, localizada no município de São Luís, estado do Maranhão (02°35'30,6" S e 44°12'43,4" O), Brasil. O clima da região é caracterizado como quente e úmido (Aw), segundo a classificação de Koppen e Geiger (TRINTA, 2007).

4.2 Implantação do experimento

Foram utilizadas mudas de eucalipto do clone híbrido VCC 795 (*Eucalyptus grandis* com *Eucalyptus urophylla*). As mudas, com aproximadamente 90 dias de idade e produzidas em tubetes de polietileno com capacidade volumétrica de 53 cm³, foram adquiridas junto ao viveiro Enraize Industria e Comercio de Produtos Agrofloretais, localizado no município de Açailândia/MA.

O transplante das mudas foi realizado no dia 16/11/2020 em vasos de polipropileno com capacidade volumétrica de 15 litros, preenchidos com solo previamente esterilizado em autoclave a uma temperatura de 121°C, a 01 atm de pressão, por duas horas.

O resultado da análise de solo realizada, apresentou: 1 g/dm⁻³ de Matéria orgânica (MO), pH_{CaCl₂} = 4,0; 37,0 mg/dm⁻³ de Fósforo (Presina), 0,9 mmolc/dm⁻³ de Potássio (K), 2,0 mmolc/dm⁻³ de Cálcio (Ca), 5,0 mmolc/dm⁻³ de Magnésio (Mg), 29,0 mmolc/dm⁻³ de Hidrogênio (H) mais Alumínio (Al), 2,0 mmolc/dm⁻³ de Sódio, 0 de Al, 29,0 mmolc/dm⁻³ de H e 0,7 g/dm⁻³ de Carbono, areia grossa = 410 g kg⁻¹, areia fina = 450 g kg⁻¹, silte = 40 g kg⁻¹, argila = 100 g kg⁻¹.

A adubação foi efetuada antes do transplante, com 100 g de NPK na formulação (18-18-18) por vaso. A irrigação diária das plantas, feita por sistema do tipo gotejamento, visou manter o substrato na capacidade de campo.

4.3 Variáveis ambientais

Na casa de vegetação foi instalada uma micro estação climatológica (WatchDog, série 1000, modelo 1400, SPECTRUM Technologies Inc., Illinois, USA) para o registro e monitoramento dos dados climatológicos, como temperatura, umidade relativa do ar, radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e o déficit de pressão de vapor (DPV) (FIGURA 1).

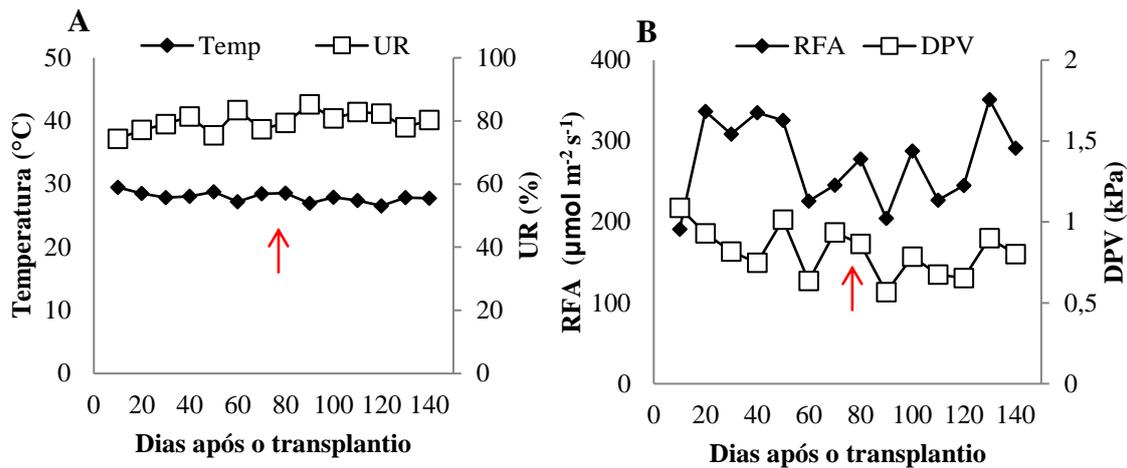


Figura 1. Valores médios diários de: temperatura e umidade relativa do ar - UR (A), radiação fotossinteticamente ativa - RFA e déficit de pressão de vapor do ar-DPV (B), durante o período de cultivo das plantas (18 de novembro de 2020 a 04 de abril de 2021). A seta indica o momento em que ocorreu a inoculação das plantas.

4.4 Tratamentos

Os tratamentos consistiram de quatro isolados de *C. fimbriata* (tabela 1) e um tratamento testemunha inoculado, apenas, com água destilada. Cada tratamento foi composto por seis réplicas, totalizando 30 unidades experimentais.

Tabela 1. Isolados, espécie e origem dos isolados *C. fimbriata* doados pelo Laboratório de Patologia Florestal/Bioagro da Universidade Federal de Viçosa/MG.

ISOLADO	ESPÉCIE	Procedência
LPF 1512	<i>C. fimbriata</i>	Suzano/SP
LPF 1806	<i>C. fimbriata</i>	Minas gerais
LPF 1607	<i>C. fimbriata</i>	Queimados/BA
LPF 1657	<i>C. fimbriata</i>	Três lagoas/MS

Os isolados de *C. fimbriata* utilizados neste estudo, foram provenientes de quatro estados de ocorrência da doença - Bahia, Minas Gerais, Mato Grosso Sul e São Paulo, doados pelo Prof. Acelino Couto Alfenas, do Laboratório de Patologia Florestal/Bioagro da Universidade Federal de Viçosa.

4.5 Inoculação *Ceratozystis fimbriata*

Os isolados de *C. fimbriata* foram cultivados em placa de Petri preenchidas com meio de cultura BDA (200g de batata, 20g de dextrose, 17 g de Agar e um litro de água destilada), e

armazenados em incubadora do tipo BOD, a uma temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo de 12 horas, por 15 dias (MAFIA et al., 2011).

Ao término do período de crescimento fúngico, foi realizado o preparo da suspensão para inoculação, adicionando 10 mL de água destilada e esterilizada nas placas com o crescimento fúngico. Com o auxílio de uma alça Drigalski esterilizada, foi realizada a raspagem da superfície da colônia fúngica para a obtenção da suspensão dos esporos. A suspensão de esporos passou por processo de filtragem em dupla camada de gaze e a concentração foi determinada em câmara de Neubauer para $2,5 \times 10^6$ esporos mL⁻¹ (LAIA et al., 2000; MEZZOMO et al., 2019).

A inoculação da suspensão de conídios foi realizada nas plantas 60 dias após o transplantio. Com auxílio de um bisturi foi realizada uma incisão longitudinal na epiderme das plantas com aproximadamente 1 cm de comprimento e 0,2 cm de profundidade e a uma altura de três centímetros do colo das plantas. Sendo aplicado 500 µL da suspensão de conídios com uma micropipeta automática. O local da incisão foi envolvido por algodão umedecido com água destilada e revestido com filme de PVC para evitar a evaporação da suspensão, garantir a colonização dos tecidos pelo patógeno e evitar a contaminação por outros microrganismos (GOMES et al., 2019).

4.6 Avaliações biométricas

A altura das plantas foi mensurada com o auxílio de uma régua graduada em centímetros, a partir do colo até o ponto de inserção do último par de folhas. A determinação do diâmetro caulinar foi realizada à altura da base do colo. As avaliações biométricas foram realizadas aos 0 e 60 dias após a inoculação (d.a.i.).

4.7 Trocas gasosas

A avaliação das trocas gasosas foi realizada no período de 7:00 às 9:00 horas da manhã, com o auxílio de um analisador de gás por infravermelho (IRGA, LI-6400XT, Li-Cor, Lincoln, NE, USA). A assimilação fotossintética de CO₂ (A , µmols CO₂ m⁻²s⁻¹), condutância estomática (g_s , mol H₂O m⁻²s⁻¹) e a transpiração (E , mmol H₂O m⁻²s⁻¹) foram determinadas sob condições de temperatura de 27-30 °C, fluxo interno de ar da câmara de 500 µmol, concentração de CO₂ de 400 ppm e luz artificial de 1500 µmol fôtons m⁻²s⁻¹. As trocas gasosas foram realizadas semanalmente, entre o período 0 d.a.i até os 60 d.a.i. Todas as medições foram realizadas em

folhas totalmente expandidas, saudáveis e expostas à radiação solar, selecionadas no terço médio da copa das plantas.

4.8 Fluorescência da clorofila *a*

As avaliações de fluorescência da clorofila foram realizadas nas mesmas folhas utilizadas para as avaliações das trocas gasosas, com o auxílio de fluorímetro não modulado, portátil, modelo Pocket – PEA (Hansatech, Norfolk, UK). Foram avaliados o rendimento quântico máximo do fotossistema II (F_v/F_m), a densidade de centros de reação ativos com base na absorção (RC/ABS) e o índice Fotossintético (P_i).

4.9 Intensidade de verde

A intensidade de verde das folhas foi avaliada com o auxílio do medidor portátil de clorofila SPAD-502 (Konica Minolta, Japão), no período da manhã, entre 07:00 e 09:00 horas. As avaliações foram realizadas em 5 folhas do terço médio da planta.

4.10 Termografia por infravermelho

As avaliações da termografia foram realizadas 13 dias após a inoculação, após isso, foram realizadas no intervalo de sete dias até os 60 d.a.i., às 10:00h. Utilizou-se uma câmera de infravermelho de onda média Flir 8 wifi (Flir Systems, EUA) com emissividade da câmera ajustada para 0,95 para a captação das imagens térmicas. Com detector de matriz de plano focal, foram produzidas imagens de resolução 320 x 240 pixels (76.800 pixels) com precisão de $\pm 2\%$. Para estas medidas, o equipamento foi posicionado, aproximadamente, a uma distância de 0,50 m acima da planta. As imagens registradas foram armazenadas na memória do equipamento e importadas com o auxílio do Software FLIR Tools versão 6.4.18039.1003, Copyright 2021 Teledyne FLIR LLC, em que foi realizado o processamento das imagens e ajustes dos parâmetros temperatura atmosférica e umidade relativa do ar, de acordo com os registros das variáveis ambientais, assim como a distância entre o aparelho e a planta.

4.11 Severidade do fungo

A determinação da severidade dos isolados foi efetuada aos 60 d.a.i., ao realizar um corte longitudinal das plantas e feita a mensuração interna do comprimento da lesão (CL). O valor relativo de severidade (S), em porcentagem, foi obtido pela razão entre comprimento dos

tecidos lesionados (CL) e altura das plantas (HP), segundo metodologia de Gomes et al. (2019), pela fórmula: $S (\%) = CL \times 100/HP$.

4.12 Delineamento experimental e análise dos dados

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos e seis repetições, totalizando 30 unidades experimentais. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. O software estatístico utilizado para a execução das análises foi o R versão 4.1.1.

5 RESULTADOS

A inoculação com fungo *C. Fimbriata* afetou todas as variáveis estudadas, porém, apenas as variáveis altura de plantas e trocas gasosas (*A*, *gs* e *E*) apresentaram diferença significativa entre os isolados usados neste estudo. Para a altura de plantas houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os períodos de avaliação, 0 e 60 d.a.i., e entre os tratamentos com diferentes isolados do fungo (Tabela 2).

Dentre os isolados do fungo *C. fimbriata* estudados, o LPF 1806, apresentou menor valor de altura aos 60 DAI, com 103,7 cm, porém não diferindo significativamente do LPF 1657. Em relação ao diâmetro do caule, houve diferença significativa apenas entre os dias após a inoculação, no entanto, pôde-se observar que as plantas inoculadas com o LPF 1512 apresentaram menores valores de diâmetro de coleto, indicando que essa variável foi mais afetada por esse isolado.

Tabela 2. Altura de plantas (Altura, em cm) e diâmetro do caule (DC, em mm) aos 0 e 60 dias após a inoculação (DAI), de plantas de eucalipto inoculadas com isolados do fungo *C. fimbriata*, (n=6). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade entre os dias após a inoculação e minúsculas entre os tratamentos.

Tratamentos	Variáveis			
	Altura (0 DAI)	Altura (60 DAI)	DC (0 DAI)	DC (60 DAI)
1512	68,58 ± 0,63Ba	119,1 ± 1,99Aab	8,63 ± 1,40Ba	14,07 ± 2,78Aa
1806	74,50 ± 0,78Ba	103,7 ± 2,58Aabc	9,43 ± 2,05Ba	15,85 ± 1,68Aa
1607	75,67 ± 1,12Ba	130,9 ± 2,12Aa	8,85 ± 1,33Ba	16,98 ± 3,55Aa
1657	77,33 ± 1,23Ba	104,8 ± 2,66Aabc	9,73 ± 2,70Ba	16,38 ± 1,68Aa
Testemunha	68,42 ± 1,17Ba	90,8 ± 0,95Ac	10,05 ± 1,43Ba	16,43 ± 2,95Aa

Em relação às trocas gasosas, observou-se diminuição em *A*, *gs* e *E*, de 31%, 42% e 32%, respectivamente, dos 20 aos 60 d.a.i. (Figura 2A, C e E). Ao considerar os tratamentos com os diferentes isolados, foi verificada redução média de 29% na assimilação fotossintética do carbono em plantas inoculadas com o isolado LPF 1657 em comparação às inoculadas com o isolado LPF 1512, que apresentou a maior taxa de assimilação fotossintética de carbono (Figura 2B). Quanto à condutância estomática, plantas inoculadas com o isolado LPF 1607 apresentaram diminuição média de 42% em contraste às inoculadas com o isolado LPF 1806, com os maiores valores de *gs* (Figura 2D). A respeito da transpiração, plantas inoculadas com o isolado 1657 demonstraram redução de 32% em relação às inoculadas com o isolado LPF 1806, que apresentou os maiores valores de *E* (Figura 2F).

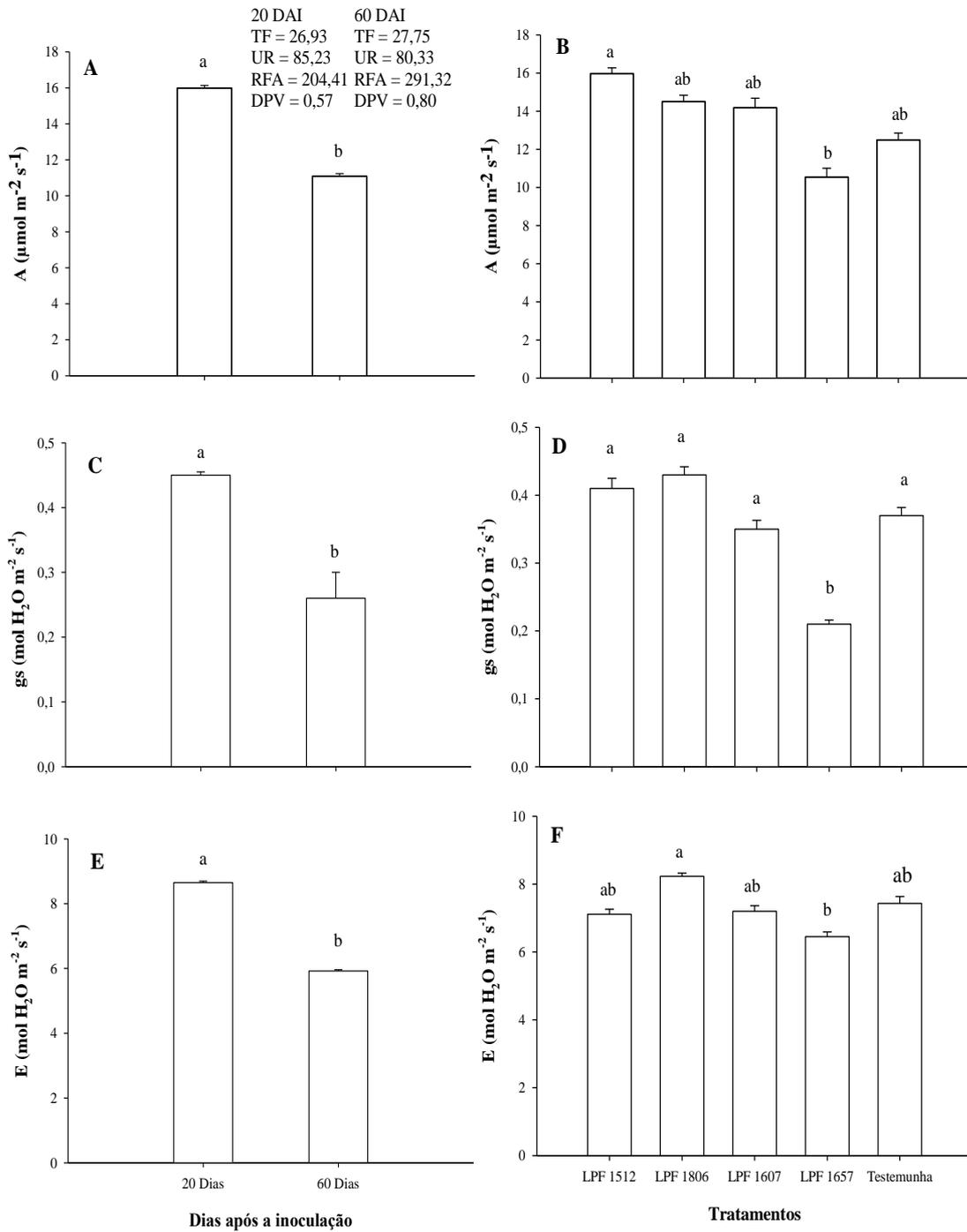


Figura 2. Assimilação fotossintética líquida de CO₂ - A (A e B), condutância estomática – gs, (C e D), transpiração foliar – E (E e F), em função das épocas e dos tratamentos avaliados, respectivamente. As barras verticais são o erro padrão da média (n=12 para épocas e n=30 para tratamentos). Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade entre as épocas de avaliação e minúsculas entre os tratamentos.

A temperatura foliar foi afetada pela aplicação dos tratamentos, com a inoculação de *C. fimbriata*. Houve um aumento significativo ($p < 0,05$) de 20%, 27% e 31% na temperatura mínima, média e máxima, respectivamente, ao decorrer dos dias após inoculação (Figura 3A). Comportamento semelhante foi observado para a temperatura do ramo, com aumento aproximado de 11%, dos 14 aos 60 DAI (Figura 3B), o que demonstrou uma correlação linear positiva existente entre a temperatura foliar e temperatura do ramo (Figura 3C).

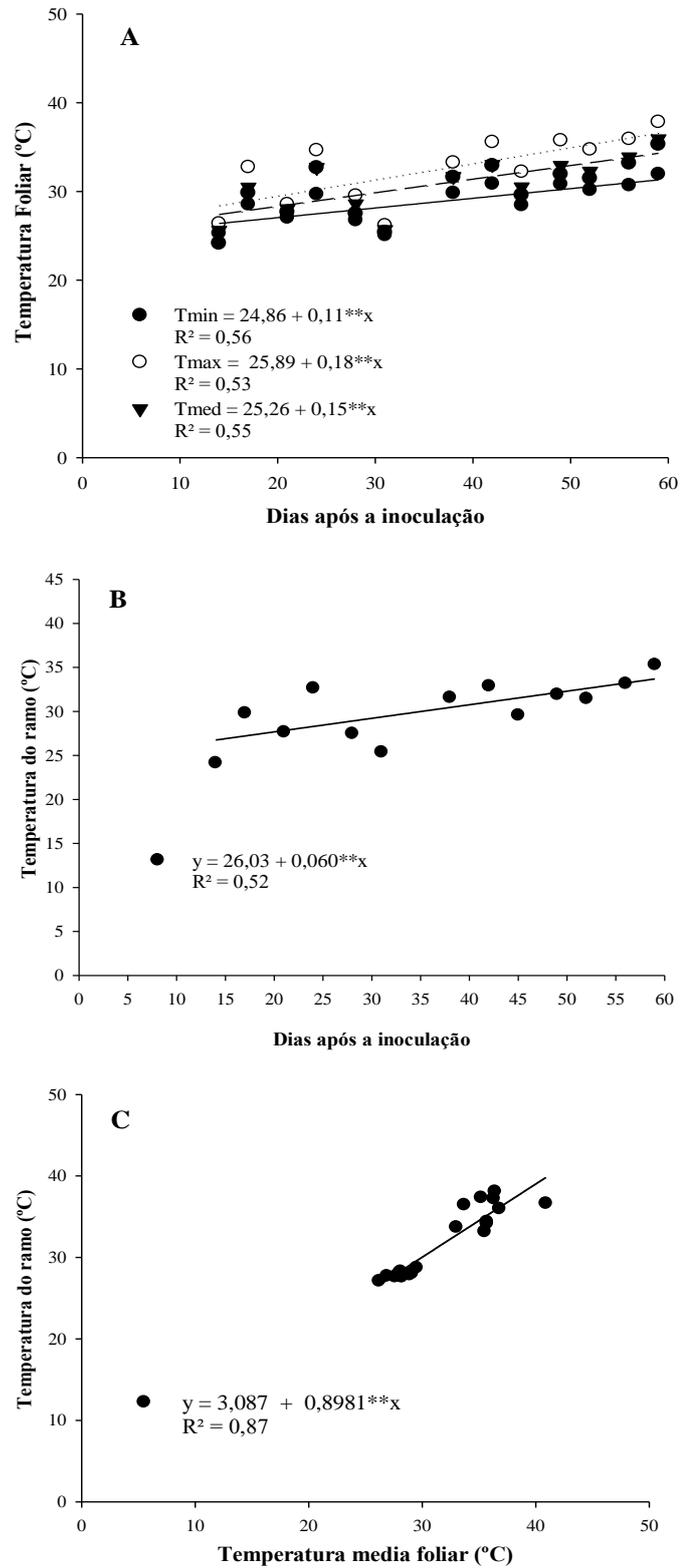


Figura 3. Temperaturas: mínima-Tmin , máxima-Tmáx e média da folha-Tmed (A), do ramo (B) e Relação entre a temperatura do ramo e temperatura média foliar (C), no horário das 10:00, de plantas de eucalipto inoculadas com isolados do fungo *C. fimbriata*

Em decorrência da ação do fungo *C. fimbriata* nas plantas de eucalipto, houve variação significativa ($p < 0,01$) para os valores de Índice SPAD, RC/ABS e Pi, e ($p < 0,05$) para a relação Fv/Fm. Foi perceptível o aumento nos valores de Índice SPAD até os 12 DAI, e depois disso, redução gradual até atingir os menores valores aos 60 d.a.i.. Comportamento semelhante aconteceu com o Fv/Fm que teve leve redução com o passar dos dias após inoculação, onde seus valores mantiveram-se acima de 0,75. Por vez, houve declínio nos valores das RC/ABS (57%) e Pi (60%), do 0 aos 60 d.a.i do fungo).

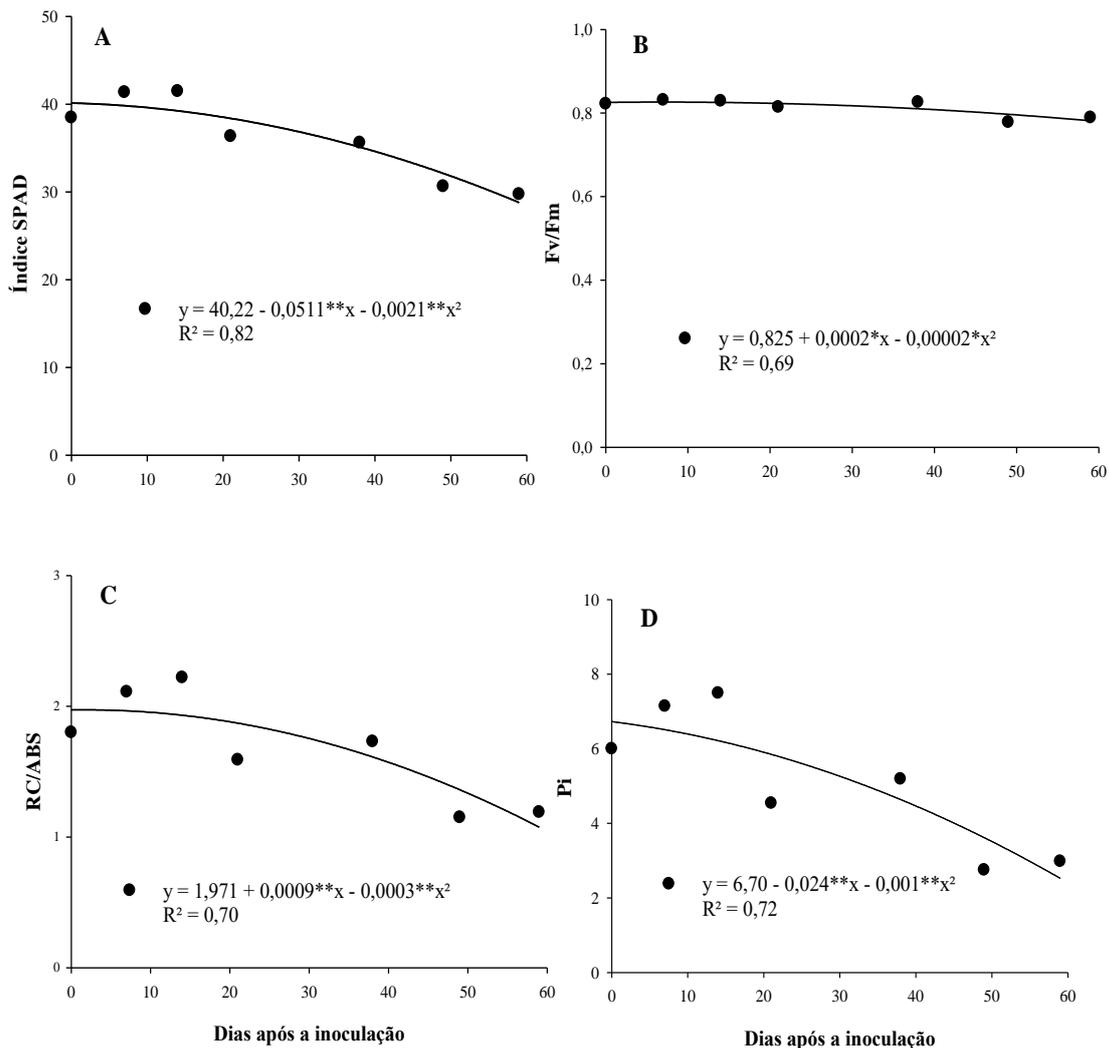


Figura 4. Índice SPAD (A), Eficiência quântica máxima do fotossistema II – Fv/Fm (B), densidade de centros de reações ativos-RC/ABS (C) e Índice fotossintético (Pi) de plantas de eucalipto inoculadas com isolados do fungo *C. fimbriata*.

Durante todo o período de execução do experimento, das 30 plantas avaliadas, apenas uma, pertencente ao tratamento 4, inoculada com o isolado LPF 1657, apresentou manifestação externa dos sintomas da murcha por *C. fimbriata*, como a murcha da copa, murcha em ramos pontuais, brotação epicórmica, escurecimento do colo e inclusive a posterior morte da planta.

Ao verificar a manifestação dos sintomas internos nas plantas e determinação da severidade dos isolados, foi avaliado o comprimento das lesões internas provocadas pelo fungo nos tecidos xilemáticos das plantas, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os isolados, com destaque às plantas inoculadas com o isolado LPF 1657, as quais apresentaram os maiores valores médios de severidade, aproximadamente 83% maior em comparação ao isolado LPF 1607 que apresentou menor porcentagem de severidade (Figura 5).

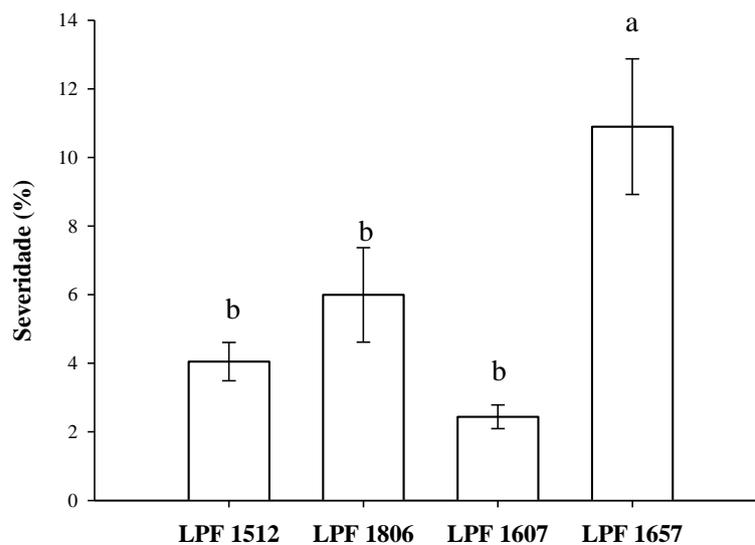


Figura 5. Severidade causada pelos isolados do fungo *C. fimbriata* em plantas de eucalipto. As barras verticais são o erro padrão da média ($n = 6$). Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade entre tratamentos.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo foi verificado que a inoculação com os isolados de *C. fimbriata* afeta o crescimento, as trocas gasosas e eficiência fotossintética em plantas de um clone de *Eucalyptus*, sendo observadas reduções na assimilação fotossintética de CO₂, condutância estomática e transpiração, decorrentes da colonização das plantas pelo fungo. Verificou-se que as plantas infectadas com o isolado LPF 1657 apresentaram as menores taxas de assimilação fotossintética de CO₂, condutância estomática e transpiração, em comparação aos demais isolados. Tais reduções podem ter decorrido da colonização dos tecidos xilemáticos das plantas e esporulação pelo fungo. Isso se deve a ação do fungo nos tecidos vegetais e as estratégias de defesa da planta, pois a colonização parcial ou total dos vasos do xilema pelo fungo, assim como tecidos adjacentes e células radiais, pode promover a deterioração destes tecidos, o que induz à resposta da planta com a formação e acúmulo de lignina, géis, oxalato de cálcio, material amorfo, composto fenólicos e tilos, que bloqueiam fisicamente os vasos do xilema, resultando num aumento da resistência ao fluxo de água das raízes às folhas, o que induz ao estresse hídrico (TUMURA et al., 2012; PARK et al. 2013; BISPO et al., 2016a; SILVA et al., 2018).

Neste contexto, para evitar perdas de moléculas de água para a atmosfera a planta adota como estratégia inicial o aumento na síntese e concentração de ácido abscísico (ABA), que irá sinalizar o estímulo ao fechamento estomático, diminuindo a condutância estomática, e com o prolongamento deste estado, haverá redução na transpiração da planta assim como na entrada de CO₂ na folha, substrato essencial para a fotossíntese (BISPO et al., 2016a; 2016b; SILVA et al., 2018), levando a planta a reduzir o seu crescimento. O mesmo comportamento pode ter ocorrido com as plantas do clone VCC 795 do presente estudo, que quando inoculadas com *C. fimbriata* apresentaram reduções de *A*, *g*s, *E* e conseqüentemente menor crescimento, assim como relatado por Silva et al. (2018), em que plantas de *Eucalyptus* infectadas com *C. fimbriata* apresentaram reduções nas trocas gasosas. Essas mesmas respostas foram observadas para cultivares de manga inoculadas com o esse fungo (BISPO et al., 2016a; 2016b). Segundo outros autores, é comum a diminuição nas trocas gasosas das plantas em resposta à infecção por patógenos vasculares, devido à característica de obstrução do sistema vascular, redução na atividade estomática e indução ao déficit hídrico (PASCUAL et al., 2010; PLOETZ et al., 2015; CACIQUE et al., 2017). Com o fechamento dos estômatos há alterações na temperatura foliar, que é uma variável importante na identificação do status hídrico da planta. Quando a planta se encontra em condições normais, com estômatos abertos e transpirando, a temperatura foliar permanece estável assim como a atividade fisiológica da planta, porém, quando em situações

de estresse hídrico, como resposta, ocorre o fechamento dos estômatos e redução na transpiração, acarretando no aquecimento foliar (KASHIWAGI et al., 2008; BIJU et al., 2018). Isto é o que pode ter ocorrido neste estudo, pois o processo de colonização e disseminação por *C. fimbriata* ocorreu de forma gradual e simultânea ao aumento dos d.a.i., o que causou a obstrução dos vasos xilemático, assim como a indução das plantas ao estresse hídrico, desencadeando o fechamento estomático e redução da transpiração, e consequente aumento das temperaturas mínima, média e máxima das plantas de eucalipto. Estes resultados estão de acordo com os achados por Biju et al. (2018), em que a temperatura foliar de genótipos de lentilha aumentou sob estresse hídrico em decorrência do fechamento estomático e redução da transpiração, acarretando também em declínio na assimilação fotossintética de CO₂.

Em alguns casos reduções na assimilação fotossintética de CO₂ também estão associadas à degradação de clorofilas, o que pode acarretar em perturbações no complexo coletor de luz, e consequentemente a danos no aparato fotossintético das plantas (BHARGAVA et al., 2014; CAVALCANTE et al., 2018). Isso pode ser observado através de reduções no índice de verde das folhas (SPAD), num menor rendimento quântico máximo do fotossistema II (Fv/Fm), redução do número de centros de reações ativos por fótons absorvidos (RC/ABS) e menor índice fotossintético (Pi). Nesse estudo, as plantas de *Eucalyptus* inoculadas com *C. fimbriata* tiveram reduções nesses parâmetros.

Após a inoculação com os isolados houve um aumento no índice SPAD até os 12 dias, e a partir deste ponto ocorreu um declínio nesses valores até os 60 d.a.i. Esse fato pode explicar, em parte, a redução de Fv/Fm com o passar dos dias após a inoculação. No entanto, essa redução não foi suficiente para demonstrar dano no aparato fotossintético das plantas de eucalipto, pois, segundo Bolhâr-Nordenkampf et al. (1989), a variação de Fv/Fm entre 0,75 e 0,85 indica a integridade do aparelho fotossintético, com ausência de dano fotoinibitório no fotossistema II. Os valores encontrados no estudo ficaram entre essa faixa, sugerindo que a redução na *A* não está associada à redução do Fv/Fm e sim à fatores estomáticos. Resultados semelhantes foram encontrados por Bispo et al. (2016b) e Silva et al. (2018), ao estudarem plantas de manga e *Eucalyptus*, respectivamente, infectadas com *C. fimbriata*, onde as variações em Fv/Fm não ultrapassaram a faixa entre 0,75 e 0,85. No entanto, mesmo o Fv/Fm estando em uma faixa que demonstra integridade do aparato fotossintético, observou-se um declínio na densidade de centros de reação ativos por fótons absorvidos (RC/ABS) e índice fotossintético (PI) nas plantas de *Eucalyptus* inoculadas com *C. fimbriata*, indicando que o fungo afeta a atividade dos centros de reação (ZHAO et al., 2017), o que pode ter sido um dos fatores, além do fechamento estomático, que influenciaram no declínio da assimilação fotossintética de CO₂.

Por fim, com base na porcentagem de severidade obtida através da avaliação do comprimento das lesões internas provocadas por *C. fimbriata* nos tecidos xilemáticos das plantas, foi observado que o isolado LPF 1657, que tem procedência da região de Mato Grosso do Sul, afetou em maior proporção as plantas de *Eucalyptus*, sugerindo que a severidade provocada pelo fungo pode variar em consequência do isolado. Além disso, esse isolado também apresentou menores taxas de assimilação fotossintética de CO₂, Condutância estomática e transpiração, sugerindo que esse isolado foi o que mais bloqueou o fluxo de seiva no xilema, afetando as trocas gasosas. Esses achados corroboram com Oliveira et al. (2015), que trabalhando com clones de *Eucalyptus* infectados com diferentes isolados de *C. fimbriata* foi observado, que a resistência dos clones também variou de acordo com o isolado inoculado.

7 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a resistência ao fluxo de água nos vasos do xilema, imposta pela colonização dos isolados de *C. fimbriata* no clone VCC 795 de *Eucalyptus*, independente do isolado utilizado, resultou em déficit hídrico nas folhas e acarretou numa redução na abertura dos estômatos, e conseqüentemente a uma redução nas taxas de transpiração e assimilação fotossintética de CO₂. Além disso, o desempenho fotossintético também foi prejudicado pela ação do fungo nas plantas, pois, sugere que as reduções na densidade de centro de reações ativos (RC/ABS) e no índice fotossintético (Pi) também foi uma consequência da colonização pelo *C. fimbriata* nos vasos do xilema, e todos esses mecanismos desencadeados resultaram em uma redução no crescimento das plantas.

A análise de severidade do fungo indica que dos isolados utilizados nesse estudo o LPF 1657, foi o que mais afetou a fisiologia e o crescimento das plantas do clone de *Eucalyptus*, fato esse que foi comprovado pelos menores valores em altura, *A*, *gs* e *E*, nas plantas inoculadas com esse isolado.

8 REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, A. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2004. 442 p.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, A. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2009. 500 p.
- AL-ADAWI, A. O., DEADMAN, M. L., AL RAWAHI, A. K., AL MAQBALI, Y. M., AL JAHWARI, A. A., AL SAADI, B. A., ... & WINGFIELD, M. J. Aetiology and causal agents of mango sudden decline disease in the Sultanate of Oman. **European Journal of Plant Pathology**, v. 116, n. 4, p. 247-254, 2006.
- ASSIS, T. F. Melhoramento genético de *Eucalyptus*: desafios e perspectivas. **3º Encontro Brasileiro de Silvicultura**, v. 3, p. 127-148, 2015.
- ALBUQUERQUE, M. P. F.; MORAES, F. K. C.; SANTOS, R. I. N.; CASTRO, G. L. S.; RAMOS, E. M. L. S.; PINHEIRO, H. A. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 48, n. 1, p. 9-16, 2013.
- BALDIN, E. L. L., KRONKA, A. Z., & DA SILVA, I. F. Inovações em manejo fitossanitário. Botucatu: **FEPAF**, 232p, 2017.
- BAKER, C. J.; HARRINGTON, T. C.; KRAUSS, U.; ALFENAS, A. C. Genetic variability and host specialization in the Latin American clade of *Ceratocystis fimbriata*. **Phytopathology**, v. 93, n. 10, p. 1274–1284, 2003.
- BAKER, N.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v.55, p.1607-1621, 2004.
- BHARGAVA, K. M.; SINGH, A.; KUMAR, A. Seasonal variation in physiology of *Eucalyptus* genotypes in relation to soil salinity. **International Journal of Advanced Research**, v. 2, p. 281-290, 2014.
- BIJU, S.; FUENTES, S.; GUPTA, D. The use of infrared thermal imaging as a non destructive screening tool for identifying drought-tolerant lentil genotypes. **Plant physiology and biochemistry**, v. 127, p. 11-24, 2018.
- BISPO, W. M. D. S.; ARAUJO, L.; MOREIRA, W. R.; SILVA, L. D. C.; RODRIGUES, F. A. Differential leaf gas exchange performance of mango cultivars infected by diferente isolates of *Ceratocystis fimbriata*. **Scientia Agricola**, v. 73, p. 150-158, 2016a.
- BISPO, W. M.; ARAUJO, L.; CACIQUE, I. S.; DAMATTA, F. M.; RODRIGUES, F. A. Photosynthesis impairments precede noticeable changes in leaf water status of mango plants infected by *Ceratocystis fimbriata*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 146, n. 2, pág. 419-432, 2016b.

- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R.; OQUIST, G.; SCHREIDER, U.; LECHNER, E. G. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrument. **Functional Ecology**, p. 497-514, 1989.
- CACIQUE, I. S.; BISPO, W. M. S.; ARAUJO, L.; AUCIQUE-PÉREZ, C. E.; RIOS, J.A.; SILVA, L. C.; RODRIGUES, F. A. Desempenho fisiológico modulado pelo potássio de plantas de manga infectadas por *Ceratocystis fimbriata*. **Bragantia**, v. 76, p. 521-535, 2017.
- CASTRO, C. A. D. O.; RESENDE, R. T.; BHERING, L. L.; CRUZ, C. D. Brief history of *Eucalyptus* breeding in Brazil under perspective of biometric advances. **Ciência Rural**, v. 46, p. 1585-1593, 2016.
- CAVALCANTE, P. G. S.; SANTOS, C. M.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; AVELINO, J. R. L.; ENDRES, L. Morpho-physiological adaptation of *Jatropha curcas* L. to salinity stress. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 4, p. 563-571, 2018.
- CAVALCANTE, U. M. T., MAIA, L. C., NOGUEIRA, R. J. M. C., & SANTOS, V. F. D. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta botânica brasílica**, v. 15, p. 379-390, 2001.
- CATUCHI, T. A.; GUIDORIZZI, F. V. C.; GUIDORIZI, K. A.; BARBOSA, A. D. M.; SOUZA, G. M. Respostas fisiológicas de cultivares de soja à adubação potássica sob diferentes regimes hídricos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 47, p. 519-527, 2012.
- COSTA, B. S.; OLIVEIRA, M. L. Florestas plantadas de eucalipto no brasil: uma cultura nociva aos recursos hídricos? **Veredas do Direito: Direito Ambiental e Desenvolvimento Sustentável**, v. 16, n. 36, p. 123-141, 2019.
- COSTA, A. S.; FREIRE, A. L. O.; BAKKE, I. A.; PEREIRA, F. H. F. Respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) ao déficit hídrico e posterior recuperação. **Irriga**, v. 20, n. 4, p. 705-717, 2015.
- ECCO, M.; SANTIAGO, E. F.; RICHART, A.; LIMA, P. R.; BORSOI, A. Fluorescência da clorofila *a* em cana-de-açúcar inoculada com fungos micorrízicos arbusculares sob aplicação de fósforo. **Acta Iguazu**, v. 6, n. 1, p. 81-95, 2017.
- EATON, F. M.; BELDEN, G. O. Leaf temperatures of cotton and their relation to transpiration, varietal differences and yields (No. 156675). United States Department of Agriculture, Economic Research Service, 1929.
- FERNANDES, E. T.; CAIRO, P. A. R.; NOVAES, A. B. D. Respostas fisiológicas de clones de eucalipto cultivados em casa de vegetação sob deficiência hídrica. **Ciência Rural**, v. 45, p. 29-34, 2015.
- FERREIRA, F. A.; MILANI, D. Diagnose visual e controle das doenças abióticas e bióticas do eucalipto no Brasil. (Visual diagnosis and control of abiotic and biotic *Eucalyptus* diseases in Brazil). Mogi-Guaçu: **International Paper**, 104 p. 2002.

FERREIRA, F. A.; MAFFIA, L. A.; BARRETO, R. W.; DEMUNER, N. L.; PIGATTO, S. Sintomatologia da murcha de *Ceratocystis fimbriata* em eucalipto. **Revista árvore**, v. 30, n. 2, p. 155-162, 2006.

FERREIRA, M. A. **Estrutura genética de populações de *Ceratocystis fimbriata* e padrão espaço-temporal da murcha-de-*Ceratocystis***. 2009. 107 f. **Tese** (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

FERREIRA, E.M.; HARRINGTON, T.C.; THORPE, D.J.; ALFENAS, A.C. Genetic diversity and interfertility among highly differentiated populations of *Ceratocystis fimbriata* in Brazil. **Plant Pathology**, v. 59, n. 4, p. 721-735, 2010.

FERREIRA, M. A.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. *Ceratocystis fimbriata* em espécies florestais e agrônômicas no Brasil. In: NEFIT. **Patologia florestal: desafios e perspectivas**. 1. ed. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, 2013, p. 75-101.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; CIFRE, J.; MARIANO ESCALONA, J.; GALMÉS, J.; GULÍAS, J.; MEDRANO, H. Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. **Annals of applied Biology**, v. 144, n. 3, p. 273-283, 2004a.

FLEXAS, J.; DIAZ-ESPEJO, A. N. T. O. N. I. O.; GALMES, J.; KALDENHOFF, R.; MEDRANO, H.; RIBAS-CARBO, M. I. Q. U. E. L. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n. 10, p. 1284-1298, 2007.

FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. **Annals of Botany**, v. 89, p. 183-189, 2002.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. **Plant Biology**, v. 6, p. 269-279, 2004b.

FIRMINO, A. C. Caracterização de isolados de *ceratocystis* sp., avaliação de resistência clonal de eucalipto e sensibilidade deste fungo a diferentes fungicidas. 2011. 102 f. **Tese** (doutorado em Proteção de plantas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, Botucatu, 2011.

FIRMINO, A. C.; JUNIOR, H. J. T.; VIANA, C. M.; SOLIMAN, E. P.; SOUZA, I. C. G.; SILVA, M. R.; TRISTÃO, L. E.; FURTADO, E. L. Análise histológica de plantas de eucalipto resistentes e suscetíveis inoculadas com *Ceratocystis fimbriata*. **Scientia Forestalis**, v. 46, n. 118, p. 209-216, 2018.

FIRMINO, A. C.; TOZZE JÚNIOR, H. J.; SOUZA, I. C. G.; FURTADO, E. L. Resistência de genótipos de eucalipto a *Ceratocystis* spp. **Scientia Forestalis**, v. 41, n. 98, p.165-173, 2013.

FOWLER, J. A. P. Produção, tecnologia e uso das sementes de eucalipto no Brasil. Embrapa Florestas-**Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2021.

FURTADO, E. L.; SANTOS, C. A. G.; MASSON, M. V. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre a ferrugem do eucalipto no Estado de São Paulo. In: GHINI, R.; HAMADA, E. Mudanças climáticas: impactos sobre doenças de plantas no Brasil. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2008. p.273-286.

GABARDO, G.; DALLA PRIA, M.; CARNEIRO, D. E.; BARBOSA, E. A. A. Respostas fisiológicas das cultivares de soja NA5909 e TMG7062 submetidas a diferentes produtos para controle de doenças fúngicas em campo. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 15673-15689, 2020.

GOMES, C. A. F. C.; PEREIRA, F. B.; GARCIA, F. A. D.; GARRET, A. T. A.; SIQUEIRA, L.; TAMBARUSSI, E. V. Inoculação de *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted em *Eucalyptus* spp. e avaliação da diversidade genética por marcadores ISSR. **Scientia Forestalis**, v. 47, n. 123, p. 579-587, 2019.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. IBÁ 2020. Brasília, DF, 2020. Relatório anual 2019. Disponível em: <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-iba-2020.pdf>

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. Disponível em https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf

JACKSON, R. D.; REGINATO, R. J.; IDSO, S. Wheat canopy temperature: a practical tool for evaluating water requirements. **Water resources research**, v. 13, n. 3, p. 651-656, 1977.

JUNGHANS, D. T. Quantificação da severidade, herança da resistência e identificação de marcadores RAPD ligados à resistência à ferrugem (*Puccinia psidii*) em *Eucalyptus grandis*. 2000. 53 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

KALAJI, H. M.; JAJOO, A.; OUKARROUM, A.; BRESTIC, M.; ZIVCAK, M.; SAMBORSKA, I. A.; CETNER, M. D.; LUKASIK, I.; GOLTSEV, V.; LADLE, R. J. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 4, 2016.

KASHIWAGI, J.; KRISHNAMURTHY, L.; UPADHYAYA, H. D.; GAUR, P. M. Técnica de triagem rápida para o status da temperatura do dossel e sua relevância para a melhoria da tolerância à seca em grão de bico. **Journal of SAT Agricultural Research**, v. 6, p. 105-4, 2008.

LAIA, M. L.; ALFENAS, A. C.; HARRINGTON, T. C. Isolation, detection in soil, and inoculation of *Ceratocystis fimbriata*, causal agent of wilting, die-back and canker in *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 25, p. 384, 2000.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: Rima, 531p., 2006.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E. M.; BINOTI, D. H. B. Método de seleção e identificação de fontes de resistência à murcha do eucalipto causada por *Ceratocystis fimbriata*. **Revista Árvore**, v. 35, n. 4, p. 817-824, 2011.

- MAFIA, R. G.; FERREIRA, M. A.; ZAUZA, E. A. V.; SILVA, J. F., COLODETTE, J. L.; ALFENAS, A. C. Impact of *Ceratocystis* wilt on *Eucalyptus* tree growth and cellulose pulp yield. **Forest Pathology**, v. 43, n. 5, p. 379-385, 2013.
- MASSON, M. V.; MORAES, W. B.; MATOS, W. C.; ALVES, J. M.; FURTADO, E. L. Eficiência e viabilidade econômica do controle químico da ferrugem do eucalipto em condições de campo. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 2, p. 107-112, 2011.
- MEDRANO, H.; ESCALONA, J. M.; BOTA, J.; GULÍAS, J.; FLEXAS, J. Regulation of photosynthesis in C3 plants in response of progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. **Annals of Botany**, v. 89, p. 895-905, 2002.
- MEZZOMO, R.; PIVETA, G.; LAZAROTTO, M.; WALKER, C.; MACIEL, C. G.; MUNIZ, M. F.; ARAUJO, M. M. Biological Control of *Ceratocystis fimbriata* by *Bacillus subtilis* on *Acacia mearnsii* Seedlings. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 4, p. 1-9, 2019.
- NILSSON, H. Remote sensing and image analysis in plant pathology. **Annual review of phytopathology**, v. 33, n. 1, p. 489-528, 1995.
- NOGUEIRA, R. J. M. C.; ALBUQUERQUE, M. D.; SILVA, E. D. Aspectos ecofisiológicos da tolerância à seca em plantas da caatinga. **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**, p. 22-31, 2005.
- OLIVEIRA, E. B.; PINTO JUNIOR, J. E. O eucalipto e a Embrapa: quatro décadas de pesquisa e desenvolvimento. **Embrapa Florestas-Livro científico (ALICE)**, Brasília, DF: Embrapa, 1160 p., 2021.
- OLIVEIRA, M. E. S.; FERNANDES, F. S.; GLÓRIA JUNIOR, M. A.; OLIVEIRA, A. S.; MAFIA, R. G.; FERREIRA, M. A. Temporal Analysis of Bacterial Leaf Blight in Clonal *Eucalyptus* Plantations in Brazil. **Forests**, v. 10, n. 10, p. 839, 2019.
- OLIVEIRA, L. S. S.; GUIMARÃES, L. M. S.; FERREIRA, M. A.; NUNES, A. S.; PIMENTA, L. V. A.; ALFENAS, A. C. Aggressiveness, cultural characteristics and genetic variation of *Ceratocystis fimbriata* on *Eucalyptus* spp. **Forest Pathology**, v. 45, n. 6, p. 505-514, 2015.
- OLIVEIRA, M. L.; NIELLA, A. R. R.; SILVA, V. R.; LIMA, L. C. Murcha de *Ceratocystis*, nova doença do cupuaçuzeiro. **Agrotrópica**, v. 25, n. 1, p. 33-38, 2013.
- OLIVEIRA, W. J.; SOUZA, E. R.; SANTOS, H. R. B.; FRANÇA, Ê. F.; DUARTE, H. H. F.; MELO, D. V. M. Fluorescência da clorofila como indicador de estresse salino em feijão caupi. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada**, v. 12, n. 3, p. 2592, 2018.
- PARK, J.H.; JUZWIK, J.; CAVENDER-BARES, J. Multiple *Ceratocystis smalleyi* infections associated with reduced stem water transport in bitternut hickory. **Phytopathology**, v. 103, n. 6, p. 565-574, 2013.
- PARKE, J. L.; OH, E.; VOELKER, S.; HANSEN, E. M.; BUCKLES, G.; LACHENBRUCH, B. *Phytophthora ramorum* colonizes tanoak xylem and is associated with reduced stem water transport. **Phytopathology**, v. 97, n. 12, p. 1558-1567, 2007.

- PASCUAL, I.; AZCONA, I.; MORALES, F.; AGUIRREOLEA, J.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Photosynthetic response of pepper plants to wilt induced by *Verticillium dahliae* and soil water deficit. **Journal of plant physiology**, v. 167, n. 9, p. 701-708, 2010.
- PIMENTA, L.; FERREIRA, M.A.; RIBEIRO, P.M.; ZACARONI, L.M.; MÁFIA, R.G.; E RESENDE, M.L.V. Physiological responses of *Eucalyptus* spp. hybrids to infection by *Ceratocystis fimbriata*. **Forest Pathology**, v. 47, n. 4, p. 1-10, 2017.
- PIVETA, G.; ALFENAS, A. C.; MUNIZ, M. F. B.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; FERREIRA, M. A. Ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* em kiwi (*Actinidia deliciosa*) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 665-669, 2013.
- PLOETZ, R. C.; SCHAFFER, B.; VARGAS, A. I.; KONKOL, J. L.; SALVATIERRA, J.; WIDEMAN, R. Impact of laurel wilt, caused by *Raffaelea lauricola*, on leaf gas exchange and xylem sap flow in avocado, *Persea americana*. **Phytopathology**, v. 105, n. 4, p. 433-440, 2015.
- REIS, L. A. C. Identificação de características fisiológicas relacionadas à tolerância ao déficit hídrico em clones comerciais de *Eucalyptus* spp. e *Corymbia* spp. **Tese** (doutorado), 145 p., 2018.
- RIZATTO, S. Caracterização molecular do germoplasma de Mangifera indica e do patógeno *Ceratocystis fimbriata*. 2010. 66 f. **Dissertação** (Mestrado em Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2010.
- RONG-HUA, L.I.; PEI-POL, G.U.O.; BAUMZ, M.; GRANDO, S.; CECCARELLI, S. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. **Agricultural Sciences in China**, Oxford, v. 5, n. 10, p. 551-557, 2006.
- RODRIGUES, G. S. D. S. C.; ROSS, J. L. S.; TEIXEIRA, G.; SANTIAGO, O. R. P. L.; FRANCO, C. Eucalipto no Brasil: expansão geográfica e impactos ambientais. Uberlândia: Composer, 178 p. 2021.
- SAMPAIO, A.N. História. In: ANDRADE, E.N. O Eucalipto. 2.ed. São Paulo: Cia Paulista de Estradas de Ferro, 1961.p.58-64.
- SANTOS, S. A.; VIDIGAL, P. M. P.; THRIMAWITHANA, A.; BETANCOURTH, B. M. L.; GUIMARÃES, L. M. S.; TEMPLETON, M. D.; ALFENAS, A. C. Comparative genomic and transcriptomic analyses reveal different pathogenicity-related genes among three *Eucalyptus* fungal pathogens. **Fungal Genetics and Biology**, v. 137, n. 1, p. 1-11, 2020.
- SCHENK, H. J.; ESPINO, S.; MENDEZ, A. N.; MCELDRONE, A. J. Limitations in the hydraulic pathway: Effects of xylem embolisms on sap velocity and flow. In: IX International Workshop on Sap Flow, **Acta Horticulturae**. 991.. p. 323-332, 2013.
- SANTOS FILHO, B. G. Parâmetros biofísicos e fisiológicos associados à economia da água em plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) submetidas à estresse hídrico. **Tese** (Doutorado). Universidade de Campinas, Campinas. 158p., 1984.
- SHTIENBERG, D. Effects of foliar disease on gas exchange process: a comparative study. **Phytopathology (USA)**. 1992

SILVA, A. C.; SILVA, F. M. O.; MILAGRE, J. C.; OMENA-GARCIA, R. P.; ABREU, M. C.; MAFIA, R. G.; ABREU M. C.; MAFIA, R. G.; NUNES-NESI, A.; ALFENAS, A. C. Eucalypt plants are physiologically and metabolically affected by infection with *Ceratocystis fimbriata*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 123, p. 170-179, 2018.

SILVA, M. O. P.; CORREA, G. F.; COELHO, L.; RABELO, P. G. Avaliação de dois tratamentos de adubação em plantio de eucalipto clonal em solo arenoso. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 212-222, 2012.

SILVA, M. D. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. D. S.; RHEIN, A. D. L. Photosynthetic pigments and SPAD index as descriptors of water deficit stress intensity in sugar cane. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 173-181, 2014.

SILVA, T. M. M.; COSTA, B. R. S.; OLDONI, H.; SALVIANO, A. M.; BASSOI, L. H. Estimativa de teores foliares de clorofila em vinhedo por meio de clorofilômetro portátil. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA, 4., 2019, São Carlos, SP. Ciência, inovação e mercado: anais. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2019.

SILVA, P. E. M.; SANTIAGO, E. F.; SILVA, E. M.; SÚAREZ, Y. R.; DALOS, D. M. Fluorescência da clorofila *a* e variação da simetria como ferramentas de investigação de plantas sob estresse. **Idesia (Arica)**, v. 29, n. 3, p. 45-52, 2011.

SOUZA, J. L.; DOS SANTOS, R. B.; NUNES, V. V.; TORRES, M. F. O.; CALAZANS, C. C.; JUNIOR, L. F. G. O.; SILVA-MANN, R. Déficit hídrico no desenvolvimento de cultivares de cana-de-açúcar. **Global Science and Technology**, v. 13, n. 1, 2020.

STRASSERF, R. J.; SRIVASTAVA, A. Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants and cyanobacteria. **Photochemistry and photobiology**, v. 61, n. 1, p. 32-42, 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4a ed. Artmed, Porto Alegre, 2009, 820p.

TRINTA, P. V. Análise bioclimática do bairro do Renascença II São Luis-MA: realidade e perspectiva do conforto térmico em espaços externos. 2007. 197f. Dissertação (Mestrado em Arquitetura e Urbanismo). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2007.

TUMURA, K. G.; PIERI, C.; FURTADO, E. L. Murcha por *Ceratocystis* em eucalipto: avaliação de resistência e análise epidemiológica. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 54-60, 2012.

VECHI, A.; JÚNIOR, C. A. D. O. M. Aspectos positivos e negativos da cultura do eucalipto e os efeitos ambientais do seu cultivo. **Revista Valore**, v. 3, n. 1, p. 495-507, 2018.

ZAUZA, E. A. V.; ALFENAS, A. C.; HARRINGTON, T. C.; MIZUBUTI, E. S.; SILVAI, J. F. Resistance of *Eucalyptus* clones to *Ceratocystis fimbriata*. **Plant Disease**, v. 88, n. 7, p. 758-760, 2004.

ZHAO, L. S.; LI, K.; WANG, Q. M.; SONG, X. Y.; SU, H. N.; XIE, B. B.; ZHANG, X. Y.; HUANG, F.; CHEN, X. L.; ZHOU, B.C.; ZHANG, Y. Z. Nitrogen starvation impacts the

photosynthetic performance of *Porphyridium cruentum* as revealed by chlorophyll a fluorescence. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.