

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE
CARBONO DO AR SOBRE A MURCHA DE *CERATOCYSTIS* EM MUDAS
CLONAIIS DE EUCALIPTO**

MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Proteção de Plantas).

BOTUCATU-SP
Julho – 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**EFEITO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE
CARBONO DO AR SOBRE A MURCHA DE *CERATOCYSTIS* EM MUDAS
CLONAIIS DE EUCALIPTO**

MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS

Orientadora: Dra. Raquel Ghini

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Mestre em Agronomia
(Proteção de Plantas).

BOTUCATU-SP
Julho – 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

S237e Santos, Michelli de Souza dos, 1983-
Efeito do aumento da concentração de dióxido de carbono do ar sobre a murcha de *Ceratocystis* em mudas clonais de eucalipto / Michelli de Souza dos Santos. - Botucatu : [s.n.], 2011
ix, 53 f. : gráfs., tabs. color.; fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2011

Orientador: Raquel Ghini

Inclui bibliografia

1. *Ceratocystis fimbriata*. 2. Dióxido de carbono. 3. Eucalipto. 4. Mudanças climáticas. 5. Mudas clonais. I. Ghini, Raquel. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

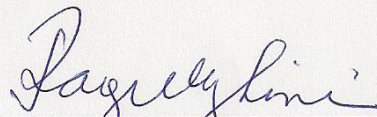
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "EFEITO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO
DO AR SOBRE A MURCHA DE Ceratocystis EM MUDAS CLONAIS DE
EUCALIPTO"

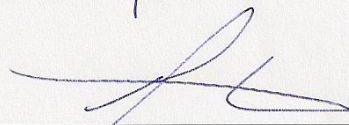
ALUNA: MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS

ORIENTADOR: DRA. RAQUEL GHINI

Aprovado pela Comissão Examinadora



DRA. RAQUEL GHINI



PROF. DR. EDSON LUIZ FURTADO



PROF. DR. CELSO GARCIA AUER

Data da Realização: 27 de julho de 2011.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Miguel M^a Cardoso dos Santos e Lindaura R. de Souza dos Santos, pelo apoio, cuidado, confiança e alegria de tê-los sempre ao meu lado.

Ao meu irmão, Michael de Souza dos Santos, por todos os momentos bons, engraçados, arriscados que passamos juntos desde a infância até a juventude.

Ao Adonaldo Valério Barbosa, pelo companheirismo em todos os momentos dessa caminhada.

Às minhas orientadoras de graduação Dra. Gisele Barata da Silva e Dra. Denise Lustosa Castro que me incentivaram a iniciar esse caminho da pesquisa.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela conquista.

À Dra. Raquel Ghini pelos ensinamentos, contribuição e paciência.

À UNESP/FCA, pela chance da realização do curso.

À Embrapa Meio Ambiente pela infraestrutura na condução dos experimentos.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

Aos professores do Programa de Proteção de Plantas, pelo aprendizado nas disciplinas, em especial aos Profs. Dr. Antônio Carlos Maringoni, Dra. Renate Krause Sakate e Dr. Marcelo

Agenor Pavan pela gentileza durante o curso de pós-graduação.

Ao pesquisador Dr. Wagner Bettiol pela ajuda e ensinamentos.

Aos colegas da Pós-Graduação e do Laboratório de Microbiologia Ambiental da Embrapa Meio Ambiente, em especial,

Lucivâne, Alexandre Visconti, Wallace, Zayame, Maria de Jesus, Vanessa, Rodolfo, Luciana, Suiki, Fernanda, Cassiano, Juliana, Juliano, Rodrigo, Tomio e Figura pelo convívio, amizade e incentivos em todos os momentos.

Aos técnicos do Laboratório de Microbiologia Ambiental (João, Roseli, Márcia e Elke) e dos Campos Experimentais (Henrique e Antônio), pela colaboração na condução dos experimentos.

Aos amigos que sempre me apoiaram.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTAS DE FIGURAS	VII
LISTAS DE TABELAS	VIII
1 RESUMO	1
2 SUMMARY	3
3 INTRODUÇÃO	5
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
4.1. Mudança climática e doenças de plantas.....	9
4.1.1. Dióxido de carbono	11
4.2. Eucalipto	13
4.3. Murcha de <i>Ceratocystis</i> em eucalipto	14
4.3.1. Etiologia	14
4.3.2. Sintomas	15
4.3.3. Condições favoráveis a doença	15
5. MATERIAL E MÉTODOS	17
5.1. Instalação do experimento	19
5.2. Obtenção do inóculo de <i>Ceratocystis fimbriata</i>	20
5.3. Inoculação	20
5.4. Reisolamento do patógeno	21
5.5. Avaliações	21
5.5.1. Murcha de <i>Ceratocystis</i>	22
5.5.2. Características das mudas	23
5.5.3. Análise de carbono e nitrogênio	24
5.6. Análise dos dados	24
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6.1. Reisolamento do fungo	25
6.2. Efeito da concentração de CO ₂ sobre a murcha de <i>Ceratocystis</i> nas mudas de eucalipto .	26
6.2. Efeito do CO ₂ no desenvolvimento das mudas de eucalipto	32
6.2.1. Altura das mudas de eucalipto.....	32

6.2.2.	Diâmetro da haste e área foliar das mudas de eucalipto	33
6.2.3.	Peso da matéria fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular.....	36
6.2.4.	Análise da quantidade de carbono e nitrogênio em mudas de eucalipto.....	39
6.2.5.	Correlações entre as variáveis	42
7.	CONCLUSÕES.....	48
8.	REFERÊNCIAS	49

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Disposição dos blocos do experimento em sala climatizada.	17
Figura 2. Caixas com quatro concentrações de CO ₂ em $\mu\text{mol mol}^{-1}$	18
Figura 3. Muda de eucalipto com sintoma de doença abiótica.....	20
Figura 4. Método de reisolamento de <i>Ceratocystis fimbriata</i>	21
Figura 5. Sintomas da doença.....	22
Figura 6. Muda de eucalipto com sintoma de murcha de <i>Ceratocystis</i>	23
Figura 7. Aparelho utilizado para quantificar a área foliar (scanner).....	23
Figura 8. Isolamento de <i>C. fimbriata</i> a partir do método de isca de cenoura.....	25
Figura 9. Estruturas de <i>Ceratocystis fimbriata</i> em microscópio óptico.	26
Figura 10. Progresso das plantas murchas no 1º ensaio em diferentes concentrações de CO ₂ (380, 390, 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) de eucalipto.	29
Figura 11. Progresso das plantas murchas no 2º ensaio em diferentes concentrações de CO ₂ (380, 390, 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) de eucalipto.	29
Figura 12. Parte aérea das mudas de eucalipto em diferentes concentrações de CO ₂	36
Figura 13. Raízes das mudas de eucalipto cultivadas em diferentes concentrações de CO ₂	38
Figura 14. Efeito das variáveis avaliadas nos ensaios em relação às concentrações de dióxido de carbono (380, 390, 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO ₂).	44

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Área abaixo da curva do progresso da doença acima (AACPDac) e abaixo (AACPDab) do ponto de inoculação do patógeno em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (<i>E. urophylla</i>) de eucalipto.....	26
Tabela 2. Incidência (%) de plantas murchas nos ensaios em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (<i>E. urophylla</i>) de eucalipto.	28
Tabela 3. Período de incubação (dias) da doença em diferentes concentrações de dióxido de carbono.	30
Tabela 4. Área abaixo da curva de progresso de crescimento da altura (AACPCA) em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) de eucalipto.....	32
Tabela 5. Diâmetro do colo da muda (dc) e o diâmetro do local da inoculação (di) em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) de eucalipto.....	33
Tabela 6. Área foliar (cm ²) em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) de eucalipto.	35
Tabela 7. Peso da matéria fresca (PFPA) e seca (PSPA) da parte aérea e em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) de eucalipto.	37
Tabela 8. Peso da matéria fresca (PFR) e seca (PSR) das raízes em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) de eucalipto.	38
Tabela 9. Quantidade de carbono (%) nas folhas, haste e raiz nos clones de eucalipto VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) em diferentes concentrações de dióxido de carbono.....	39
Tabela 10. Quantidade de nitrogênio (%) nas folhas, haste e raiz nos clones de eucalipto VM01 (híbrido de <i>E. urophylla</i> x <i>E. camaldulensis</i>) e MN463 (híbrido de <i>E. urophylla</i>) em diferentes concentrações de dióxido de carbono.	41

Tabela 11. Correlação das características das plantas com a área abaixo da curva de progresso da doença acima (AACPDac) e abaixo (AACPDab) do ponto de inoculação do patógeno e o período de incubação (PI).....	42
--	----

1 RESUMO

A intensificação da atividade antrópica tem resultado em significativo aumento da concentração de CO₂ atmosférico, o qual poderá provocar alterações no ciclo das doenças de plantas. Assim, foram realizados dois ensaios em ambiente controlado com o objetivo de avaliar o efeito de elevadas concentrações de CO₂ sobre o desenvolvimento da murcha causada por *Ceratocystis fimbriata* em dois clones de eucalipto (um híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *E. camaldulensis* e outro da espécie *E. urophylla*). Mudanças clonais de eucalipto foram cultivadas em tubetes mantidos em caixas plásticas com injeção de ar e CO₂ puro até atingir as concentrações de 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e em caixas com e sem a injeção de ar (sem injeção de CO₂), que foram utilizadas como testemunhas (380 e 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, respectivamente). Após 70 dias de crescimento nesses ambientes no primeiro ensaio e 57 no segundo, as hastes das mudas foram inoculadas com 100 μL de uma suspensão de conídios de *C. fimbriata* ($2,5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$). Nos ambientes com elevada concentração de CO₂, as mudas apresentaram menor severidade e incidência da doença, assim como um maior período de incubação. O desenvolvimento das mudas de eucalipto (altura, diâmetro da haste, área foliar, peso de raízes e parte aérea) foi maior nos tratamentos com injeção de CO₂, diferindo significativamente das testemunhas. No primeiro ensaio, a análise do teor de carbono das folhas e hastes das mudas de eucalipto não apresentou diferenças entre os ambientes com e sem injeção de CO₂. O teor de carbono das raízes foi significativamente menor nas mudas mantidas a 550 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂ quando comparadas com as mantidas em 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$

de CO₂. No segundo ensaio, as folhas e hastes das mudas cultivadas em altas concentrações de CO₂ apresentaram maior teor de C quando comparadas a testemunha 380 μmol mol⁻¹ de CO₂. Não houve diferença do teor de C das raízes e de N das hastes. A quantidade de N das folhas e raízes foi menor nos ambientes enriquecidos com CO₂ quando comparados com as testemunhas. Não houve diferença significativa entre as concentrações de 550 e 900 μmol mol⁻¹ de CO₂ e entre as testemunhas para as avaliações relacionadas à doença. Os resultados demonstram que o aumento da concentração de CO₂ pode alterar o ciclo da murcha de *Ceratocystis* e o desenvolvimento dos clones de eucalipto.

Palavras-chave: dióxido de carbono, *Eucalyptus*, *Ceratocystis fimbriata*, mudança climática.

EFFECT OF INCREASE IN CO₂ CONCENTRATION OF THE AIR ON WILT *CERATOCYSTIS* IN EUCALYPTUS. Botucatu, 2011. 53p.

Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Proteção de Plantas) – Faculdade de Ciências

Agronômicas, Universidade Estadual Paulista

Author: MICHELLI DE SOUZA DOS SANTOS

Adviser: RAQUEL GHINI

2 SUMMARY

The disturbances caused by the intensification of human activity have resulted in a significant increase in atmospheric CO₂ concentration, which may cause changes in the cycle of plant diseases. Thus, two trials were performed in a controlled environment in order to evaluate the effect of elevated CO₂ concentrations was evaluated on the development of wilt caused by *Ceratocystis fimbriata* in two clones of eucalyptus (hybrid of *Eucalyptus urophylla* x *E. camaldulensis* and another hybrid of *E. urophylla*). The seedlings were grown in tubettes kept in plastic boxes with injection of air and pure CO₂ until it reaches the concentrations of 550 and 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ and in boxes with and without the injection of air (without CO₂ injection), which were used as controls (380 and 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, respectively). After 70 days of growth in these environments in the first trial and 57 in the second the stems of the plantlets were inoculated with 100 mL of a conidial suspension of *C. fimbriata* ($2.5 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$). In settings with high concentrations of CO₂, the plantlets had lower severity and incidence of the disease, as well as longer incubation period. The development of eucalyptus plantlets (height, stem diameter, leaf area, weight of roots and shoots) was higher in treatments with CO₂ injection, differing significantly from controls. In the first trial, carbon analysis from leaves

and stems of plantlets of eucalyptus showed no differences between settings with and without CO₂ injection. The carbon content of roots was significantly lower in plantlets held at 550 μmol mol⁻¹ CO₂ compared to those maintained at 390 μmol mol⁻¹ CO₂. In the second trial, from leaves and stems of plantlets in high CO₂ concentrations had higher C content compared to the control 380 μmol mol⁻¹ CO₂. There was no difference in the content of C the roots and from N of the stems. The quantity of N from leaves and roots was lower in environments enriched with CO₂ compared with the controls. There was no significant difference between the concentrations of 550 and 900 μmol mol⁻¹ CO₂ among the controls for the assessments related to the disease. The findings demonstrate that the increase in the concentration of CO₂ can change the cycle of the *Ceratocystis* wilt and the development of the clones of eucalyptus.

Keywords: carbon dioxide, *Eucalyptus*, *Ceratocystis fimbriata*, climate change.

3 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o uso intenso de combustíveis fósseis como fonte de energia e modificações no uso da terra têm colaborado para uma maior emissão de gases de efeito estufa. Em decorrência do aumento da concentração desses gases, estão ocorrendo mudanças no clima do planeta, como a elevação da temperatura na superfície terrestre. Desde o final do século XIX, a temperatura média da Terra aumentou aproximadamente 0,74 °C e estima-se que em 2100 deva atingir de 1,8 a 4 °C. Mudanças nos padrões de chuvas e ventos, aumento no nível do mar, entre outras alterações também devem ocorrer devido à intensificação do efeito estufa (IPCC, 2007).

Essas transformações físicas no planeta poderão afetar a agricultura, pois se trata de uma atividade amplamente dependente de fatores climáticos. As alterações podem afetar a produtividade e o manejo das culturas, as quais podem resultar em sérias consequências sociais, econômicas e políticas. As condições de adaptação de estabelecimentos agrícolas à mudança do clima podem ser variáveis, colocando-os em posições mais ou menos vulneráveis, em função de diferentes cenários climáticos. Segundo as previsões de longo prazo, as regiões tropicais e subtropicais serão as mais afetadas pela mudança do clima (NAE, 2005).

Dentre os gases mais emitidos pelas ações humanas que intensificam o efeito estufa estão o dióxido de carbono (CO₂), ozônio (O₃), metano (CH₄) e óxido nitroso

(N₂O). O principal gás responsável pelo efeito estufa é o CO₂. A queima de combustíveis fósseis e o desmatamento são os fatores que mais contribuem para a sua emissão. Segundo o IPCC (2007), a concentração de dióxido de carbono sofreu um aumento a partir da Revolução Industrial de 280 μmol mol⁻¹ para 379 μmol mol⁻¹ em 2005, ultrapassando as taxas naturais dos últimos 650 mil anos (180 a 300 μmol mol⁻¹). Modificações nas atividades antrópicas devem ocorrer para reduzir a emissão de gases na atmosfera, senão a concentração de dióxido de carbono tende a aumentar em até 1000 μmol mol⁻¹ em um cenário futuro pessimista. Desde 2000, a taxa de crescimento da concentração de CO₂ aumentou mais rapidamente do que nas décadas anteriores (CANADELL et al., 2007).

Os cenários futuros são agrupados em quatro famílias (A1, A2, B1 e B2), segundo o Relatório Especial do IPCC sobre Cenários de Emissões (SRES, 2000), os quais exploram estratégias de desenvolvimento alternativo, para várias regiões de forças econômicas e tecnológicas diferentes, resultando em diferentes emissões de gases de efeito estufa. O cenário A1 admite crescimento mundial econômico muito rápido, uma população global alcançando o pico em meados do século e uma rápida entrada de tecnologias novas e mais eficientes. A1 é dividido em três grupos que apresentam opções da mudança tecnológica: intensivo uso de combustíveis fósseis (A1FI), recursos de energia não fósseis (A1T) e um equilíbrio em todas as fontes de energia (A1B). B1 propõe um mundo convergente, com a mesma população global, como A1, mas com mudanças mais rápidas nas estruturas econômicas em direção a uma economia de serviços e informações. B2 descreve um mundo com população intermediária e crescimento econômico, destacando saídas locais para a sustentabilidade econômica, social e ambiental. A2 descreve um mundo muito heterogêneo, com alto crescimento populacional, mudanças tecnológicas e desenvolvimento econômico lentos. Para qualquer um dos cenários não há ausência de riscos. Segundo as projeções do cenário A1, otimista, a concentração de CO₂ deverá atingir até 2100 cerca de 550 μmol mol⁻¹ de CO₂ e para o cenário A2, pessimista, essa concentração deve atingir 1000 μmol mol⁻¹ de CO₂. As projeções de emissões dos gases de efeito estufa são largamente empregadas nas avaliações das mudanças climáticas futuras, e suas hipóteses subjacentes em relação às mudanças socioeconômicas, populacional e tecnológicas levam a avaliações de impacto e vulnerabilidade.

O aumento da concentração de CO₂ pode gerar maiores taxas de fotossíntese em algumas espécies de plantas e maior eficiência do uso da água. Altas concentrações de CO₂ geram benefícios para o crescimento das plantas, embora possa haver diferenças entre as espécies. As mesmas conclusões com distintas culturas, ecossistemas naturais e espécies florestais foram encontrados por diversos autores (GHINI; HAMADA; BETTIOL, 2008). O “efeito fertilizante de CO₂” resulta em aumento das taxas de fotossíntese (em 20 a 30%) e menor condutividade de estômatos, incorrendo em uma utilização mais eficiente da água (NAE, 2005).

Hibberd et al. (1996) notaram maior crescimento de plantas sadias de cevada quando submetidas a ambiente com 700 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂. No entanto, para as plantas que foram inoculadas com oídio (*Erysiphe graminis*), foi apontado um aumento significativo no desenvolvimento da doença em 700 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂ quando comparado às plantas submetidas em 350 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Chakraborty e Pangga (2004), em revisão sobre o efeito do CO₂ em doenças de plantas, verificaram que das 26 doenças estudadas, a maioria delas aumentou em termos de severidade, quando em ambientes enriquecidos com CO₂. Segundo Boudon-Padiou e Maixner (2007), as pragas e doenças da videira são influenciadas pela mudança climática. Esses problemas fitossanitários são afetados diretamente pelos impactos sobre ciclo de vida da praga ou do patógeno ou indiretamente por modificações na fisiologia e fenologia da videira.

Ainda não existem informações se os efeitos benéficos de CO₂ ocorrerão em presença de patógenos ou de outros fatores limitantes. Há algumas notícias sobre a influência de quantidades elevadas de CO₂ sobre fitopatógenos em cultura pura, mas pouco se sabe com relação às consequências do gás no desenvolvimento de importantes doenças de plantas, sobretudo em países tropicais (GHINI, 2005). A avaliação de possíveis alterações na produtividade agrícola, provocadas pelo efeito combinado de elevadas concentrações de CO₂, temperatura e precipitação é de fundamental importância evitar prejuízos futuros. A interferência da temperatura e umidade do solo sobre o crescimento de patógenos (como fungos, bactérias) e doenças de plantas também devem ser considerados. Atividades como essas exigem estudos de campo e de laboratório, assim como o uso de modelos de simulação (NAE, 2005). Desse modo, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito de elevadas

concentrações de CO₂ sobre o desenvolvimento da murcha de *Ceratocystis*, causada por *Ceratocystis fimbriata*, em dois clones de eucalipto (um híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *E. camaldulensis* e outro da espécie *E. urophylla*).

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Mudança climática e doenças de plantas

A mudança climática é um fato que vem preocupando vários segmentos da sociedade, pois as suas alterações no ambiente vêm ocasionando danos sociais, econômicos e ambientais.

Um setor imensamente afetado por essa mudança é a agricultura, tanto nos países desenvolvidos quanto nos chamados países emergentes, apesar dos avanços das estratégias de manejo e tecnológicos. Os sistemas agrícolas dos países das regiões tropicais e subtropicais possuem uma maior vulnerabilidade. Essa vulnerabilidade pode ser entendida como a extensão dos danos atribuídos à mudança climática sobre algum setor ou sistema de produção e será tão mais intensa quanto maior for a suscetibilidade dos mesmos e a sua habilidade de absorver ou se adaptar àquelas mudanças. Os sistemas agrícolas podem ser comprometidos pelo tempo meteorológico e o clima de diferentes formas, por exemplo, na produção e produtividade das culturas, no comportamento das operações do campo e na ocorrência de pragas e doenças (MACHADO e MARENGO, 2006).

Os efeitos da mudança climática nas pragas e doenças ainda não são certos podendo diminuir, aumentar ou não ter efeito sobre os diferentes problemas fitossanitários. Mudanças nas pragas e doenças das principais culturas podem acontecer em

um futuro próximo (GHINI, 2005). Para que ocorra o surgimento e o desenvolvimento de uma doença é necessária a interação de três fatores: planta suscetível, agente patogênico virulento e ambiente favorável. Desse modo, o ambiente é um fator importante nesta interação, podendo até evitar a ocorrência de uma doença mesmo na presença de hospedeiro e patógeno.

A principal causa da mudança no clima é devido ao aumento da concentração dos gases de efeito estufa proveniente das atividades humanas. Uma das principais alterações é o aumento da temperatura na Terra. A temperatura da superfície do planeta cresceu perto de 0,2 °C por década nas últimas três décadas, e 0,74 °C no século passado (IPCC, 2007). Além da temperatura, diferentes alterações no clima vêm sendo notadas com maior frequência e intensidade como chuvas, perturbações nas correntes marinhas, retração de geleiras e elevação do nível dos oceanos (NAE, 2005).

As emissões mundiais dos gases do efeito estufa (GEE, em especial, CO₂, CH₄ e N₂O) são resultado das atividades antrópicas que aumentaram desde a era pré-industrial em 70%. A combustão de combustíveis fósseis e modificações na utilização da terra resultaram em um aumento na taxa anual de CO₂ na atmosfera (IPCC, 2007). O gás metano é produzido principalmente pela fermentação resultante do processo de digestão dos ruminantes e o óxido nitroso é produzido, sobretudo, por meio de transformações do nitrogênio no solo após a adição de fertilizantes e / ou resíduos vegetais (BAETHGEN, 2007).

Os modelos de previsão de mudança climática do Centro de Distribuição de Dados do IPCC exibem dados variáveis com relação ao comportamento da América do Sul. No entanto, todos apontam um acréscimo de temperatura para o continente. Para a precipitação, as projeções sugerem aumento em umas regiões e diminuição em outras, podendo acontecer inversão em função da época do ano. Fenômenos extremos também devem ocorrer com maior frequência e podem ser notadamente danosos para a agricultura (PELLEGRINO, 2007). O Brasil é vulnerável à mudança climática e precisa que medidas de adaptação sejam associadas à política ambiental para que se diminuam os impactos já notados, como por exemplo, as chuvas intensas (MARENGO, 2006). Caso essas medidas não sejam adotadas, Assad e Pinto (2008) avaliam que ocorra: redução da área para produção no NE para as culturas do milho, arroz, feijão, algodão e girassol; a soja poderá sofrer perdas de produtividade em até 40% em 2070; o café sofrerá perdas de até 33% da área de baixo risco

em SP e MG, podendo aumentar no Sul; a mandioca terá um ganho geral em produtividade e a cana-de-açúcar dobrará sua produtividade nas próximas décadas.

Os impactos da mudança climática sobre os danos causados pelas doenças são determinados pelas interações de um grande número de fatores diretos e indiretos. Modificações na fisiologia e morfologia da planta hospedeira são um fator direto, provocado pelo aumento da taxa de CO₂, alterando a estrutura da parte aérea da planta e, por conseguinte, o microclima, o qual influencia os componentes epidemiológicos das doenças. Entre outros fatores está o aumento da precipitação que pode aumentar a disseminação de patógenos por propágulos de chuva. A diminuição do número de dias de chuva durante o verão também pode afetar a multiplicação de patógenos. Os ventos desempenham enorme papel na dispersão de patógenos tanto a curta como a longa distância. O ar turbulento, a intensidade e a direção dos ventos são fatores que podem influenciar as fases do patógeno, como a liberação, o transporte e a deposição do inóculo (CHAKRABORTY et al., 2000).

Por esses motivos, o estudo dos efeitos potenciais da mudança climática global sobre pragas e doenças de plantas é essencial para a tomada de medidas de adaptação, com o objetivo de evitar perdas mais sérias (GHINI, 2005).

4.1.1. Dióxido de carbono

A concentração atmosférica global de dióxido de carbono aumentou de 280 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, na era pré-industrial, para 379 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ em 2005. A atual concentração atmosférica de CO₂ extrapola os limites naturais registrados ao longo dos últimos 650.000 anos (180 a 300 $\mu\text{mol mol}^{-1}$), verificado a partir de geleiras. O CO₂ é o gás de efeito estufa mais importante lançado por ações antrópicas, principalmente, devido à queima de combustíveis fósseis e o desmatamento (IPCC, 2007).

As mudanças decorrentes do incremento de CO₂ provocam alterações no metabolismo, crescimento e processos fisiológicos das plantas. Como resultado dessas mudanças na planta o aumento da concentração de CO₂ pode diminuir a condutância estomática. Esta resposta está relacionada com a concentração intercelular de dióxido de carbono. A diminuição da condutância estomática em resposta ao aumento na concentração de

CO₂ ocorre para compensar o efeito na fotossíntese reduzindo a taxa de transpiração (MOTT, 1988).

O aumento da concentração de CO₂ resulta em efeitos benéficos para a planta, como aumento da biomassa e densidade da copa, que geram uma maior quantidade de tecido vegetal que pode ser infectado pelo patógeno. A modificação na estrutura da parte aérea da planta influencia nos componentes epidemiológicos das doenças pela alteração do microclima (GHINI, 2005). Segundo Eastburn, McElrone e Bilgin (2011), várias dessas previsões foram verificadas em algumas interações de patógeno-hospedeiro. Os aumentos na biomassa vegetal e a densidade do dossel resultante dos elevados níveis de CO₂ foram encontrados relacionados a condições mais elevadas de algumas doenças, especialmente aquelas causadas por patógenos necrotróficos. Reduções na abertura dos estômatos também parece estarem associadas com menores taxas de infecção em algumas doenças. Outros previram respostas das plantas, tais como aumento nos resíduos das culturas resultando em aumento das taxas de sobrevivência do patógeno, ou acelerada maturação e senescência promovendo o desenvolvimento de patógenos necrotróficos.

Existem numerosos trabalhos sobre os efeitos do aumento da concentração de CO₂ no desenvolvimento de plantas, mas poucos relatos sobre esses efeitos em doenças de plantas. Segundo Ghini (2005b), algumas doenças deverão ser favorecidas pela elevação da concentração de CO₂ (*Fusarium nivale* - centeio; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* - ciclame; *Fusarium* sp. - trigo; *Cladosporium fulvum* - tomate; *Seiridium cardinale* - *Cupressus sempervirens*; *Rhizoctonia solani* - algodão; *Plasmodiophora brassicae* - repolho; *Ustilago* spp. - cevada, milho; *Puccinia* spp. - aveia, centeio, trigo), e outras não serão afetadas (*Pythium splendens* - poinsettia; *Thielaviopsis basicola* - poinsettia; *Botrytis cinerea* - ciclame; *Sclerotinia minor* - alface; *Erysiphe graminis* - trigo) e algumas serão desfavorecidas (*Rhizoctonia solani* - beterraba açucareira; *Phytophthora parasitica* - tomate; *Colletotrichum gloeosporioides* - *Stylosanthes scabra*; *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* - gerânio; *Sphaerotheca pannosa* - roseiras; *Puccinia* sp. - gramínea). Kobayashi et al. (2006), estudando a brusone em folhas de arroz, observaram que as plantas cultivadas em elevada concentração de CO₂ foram mais severamente infectadas que as plantas cultivadas em concentração ambiente.

Cada doença tem condições favoráveis para o seu desenvolvimento, específicas para cada patossistema e, assim, não podem ser generalizadas (GHINI, 2005). Como os estudos atuais sobre os efeitos do CO₂ são escassos, ainda não é possível determinar se a severidade e a incidência das doenças irão aumentar ou diminuir.

4.2. Eucalipto

As árvores do gênero *Eucalyptus* da família Myrtaceae são nativas da Austrália, do Timor e da Indonésia, sendo exótica em todas as outras partes do mundo. Os primeiros plantios começaram no início do século XVIII, na Europa, na Ásia e na África. Já no século XIX, foram plantadas em países como Espanha, Índia, Brasil, Argentina e Portugal. Atualmente, as principais espécies cultivadas no Brasil são o *Eucalyptus grandis*, o *E. camaldulensis*, o *E. saligna* e o *E. urophylla*, entre outras. O cruzamento entre as espécies derivou em híbridos, como o *E. urograndis* (*E. grandis* x *E. urophylla*) (CIB, 2008).

As espécies de eucalipto têm sido usadas em alta escala em reflorestamentos desde o início do século passado. No entanto, a partir de meados da década de 60, ocorreu a expansão do plantio dessa espécie devido principalmente ao estabelecimento de programas de incentivos fiscais, visando ao seu emprego como matéria-prima nas indústrias, principalmente para conseguir celulose e energia (LIMA, 1996). O eucalipto é a essência florestal mais plantada nos programas de reflorestamento no Brasil, sobretudo em solos de baixa fertilidade e onde a quantidade e a distribuição das chuvas restringem o desenvolvimento das árvores (GAMA-RODRIGUES et al., 2005).

A maioria dos estados brasileiros com tradição na silvicultura de espécies do eucalipto, ou em estados considerados como novas fronteiras da silvicultura estão aumentando suas áreas de florestas plantadas com eucalipto com o desenvolvimento médio no país de 7,1% ao ano entre 2004-2009. Um aumento de mais de um milhão de hectares na área plantada foi realizado nos últimos cinco anos. O rápido crescimento em ciclo de curta rotação, a alta produtividade florestal e a expansão e direcionamento de novos investimentos por parte de empresas de segmentos que utilizam sua madeira como matéria-prima em processos industriais são os principais aspectos que vêm beneficiando o plantio em larga escala deste gênero (ABRAF, 2010).

O eucalipto, após sua entrada para fins comerciais, originalmente no Estado de São Paulo, ficou livre de doenças até o início de 1970. Mas, alguns fatores de manejo da cultura contribuíram para o surgimento de novas doenças tanto em viveiro como no campo, por exemplo, o aumento de áreas plantadas para regiões de clima quente e úmido, o plantio de espécies procedentes de famílias ou clones suscetíveis a doenças, os ciclos sucessivos da cultura e o estreitamento da base genética (ALFENAS et al., 2004).

4.3. Murcha de *Ceratocystis* em eucalipto

A partir de dezembro de 1997 no sudeste da Bahia foi verificado a ocorrência de uma nova doença nos reflorestamentos clonais de eucalipto, causada por *Ceratocystis fimbriata* (FERREIRA et al., 2006). Esse fungo provoca doenças em várias plantas lenhosas e em determinadas herbáceas de valor econômico como, por exemplo, acácia negra (*Acacia mearnsii* De Wild), batata doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam], cacau (*Theobroma cacao* L.), cafeeiro (*Coffea arabica* L.), citros (*Citrus* spp.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), figo (*Ficus carica* L.), gmelina (*Gmelina arborea* Roxb), mangueira (*Mangifera indica* L.) e seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell & Arg] (FERREIRA; MAFFIA e FERREIRA, 2005).

4.3.1. Etiologia

O patógeno, *C. fimbriata*, pertence ao filo Ascomycota, subfilo Pezizomycotina, classe Sordariomycetes, subclasse Hypocreomycetidae, ordem Microascales e família Ceratocystidaceae (Index Fungorum, 2008). O fungo está amplamente distribuído em todo o mundo e consiste em inúmeras linhagens morfológicas, fisiológicas e patológicas. Apresenta as fases teleomórfica (peritécios globosos, escuros, ostiolado e com longo pescoço que finaliza com franjas de hifas ostiolares) e anamórfica (conídios enteroblásticos e clamidósporos globosos, marrons escuros) (CARVALHO e CARMO, 2003). *Ceratocystis* é capaz de esporular em madeira. Os esporos podem ser transportados por vários insetos. O fitopatógeno penetra na planta por meio das feridas frescas no tronco ou nos ramos e as estrias radiais são rapidamente invadidas. *Thielaviopsis* é a forma anamórfica do fungo, produz

conídios endósporos e clamidósporos. A fase teleomórfica se reproduz sexuadamente por meio da formação de peritécios. A reprodução do patógeno ocorre sobre a superfície de cancrios e cortes de madeira infectada. Todos os esporos produzidos são pegajosos e facilmente disseminados por meio de insetos (FATEH et al., 2006).

O fungo pode ser disperso por fragmentos de micélio, conídios, clamidósporos ou ascósporos. Clamidósporos são, possivelmente, as formas mais comuns de sobrevivência do fungo. O patógeno produz um odor frutado forte, o qual tem sido determinado como uma adaptação para a dispersão por insetos, que são atraídos para as plantas doentes e podem ficar cobertos por estruturas do fungo (TEVIOTDALE e HARPER, 1991).

4.3.2. Sintomas

C. fimbriata é um patógeno característico do xilema. O sintoma principal é observado nas secções transversais de órgãos lenhosos, no formato de estrias radiais escuras, da medula para o exterior do lenho, e vice e versa, ou a descoloração (mancha escura), do tipo cunha, comumente da periferia para a medula. O micélio e esporos penetram nas feridas e se movem no xilema, em células condutoras de água e do parênquima radial. O fungo causa manchas no xilema de coloração castanho-escuro-avermelhado ao roxo profundo, e de tonalidade marrom ou preta. Essas manchas podem se estender por vários metros, a partir das raízes, do tronco e ramos da árvore. Quando ramos ou troncos comprometidos são cortados em secção transversal, a formação das manchas, na extensão dos raios, simula a figura de cunha. Na superfície do tronco ou ramos, úlceras podem se crescer nas áreas de descoloração do xilema e os cancrios podem exsudar goma. A murcha provocada por *Ceratocystis* também é um sintoma que atrai a atenção, geralmente após a manifestação da murcha, em seguida ocorre a morte da planta (SINCLAIR et al., 1987).

4.3.3. Condições favoráveis a doença

C. fimbriata na maioria das vezes cresce melhor em temperaturas de 18-28 °C e é capaz de produzir ascósporos em uma semana. O fungo pode sobreviver em

condições desfavoráveis, como micélio no interior da planta hospedeira, ou como clamidósporos, no solo, em plantas hospedeiras ou em restos de plantas (SINCLAIR et al., 1987). A presença de ferimentos provocados por insetos, ventos, granizo e prática silviculturais, as altas temperatura e umidade elevada são condições favoráveis à doença.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em sala climatizada localizada na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna, Estado de São Paulo, no período entre março de 2010 e fevereiro de 2011. As condições ambiente na sala foram de 27 °C, 40% de umidade relativa e fotoperíodo de 12 horas (cinco lâmpadas fluorescentes e cinco lâmpadas luz do dia/bloco, 20000 lux).

O trabalho foi realizado adotando o delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados, com dez repetições e quatro tratamentos (Figura 1). Cada bloco foi composto por quatro caixas plásticas (20 x 31,5 x 32 cm), uma por tratamento, cobertas por lâminas de vidro.

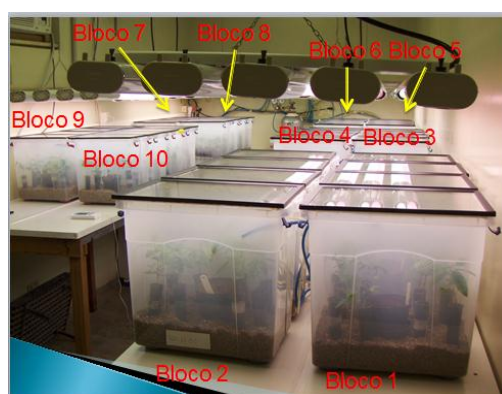


Figura 1. Disposição dos blocos do experimento em sala climatizada.

As quatro concentrações de CO₂ testadas foram: 380 μmol mol⁻¹ (testemunha sem injeção de ar), 390 μmol mol⁻¹ (testemunha com injeção de ar), 550 μmol mol⁻¹ (tratamento com injeção de ar e CO₂) e 900 μmol mol⁻¹ (tratamento com injeção de ar e CO₂) (Figura 2). Para obter o aumento da concentração do gás, foi realizada a injeção de CO₂ puro nas caixas, proveniente de um cilindro de 25 quilos do gás liquefeito. Na saída do cilindro foi acoplado um manômetro para controle de volume e pressão de saída do CO₂. Do cilindro, o gás passou por uma válvula solenóide (registro eletromagnético), para um fluxômetro, o qual regulou sua vazão e, em seguida, para um divisor de até 30 saídas, dos quais saíram tubos de igual comprimento para as caixas. A programação de injeção de CO₂ foi de 0,4 segundos de abertura da válvula solenóide a cada 45 minutos.

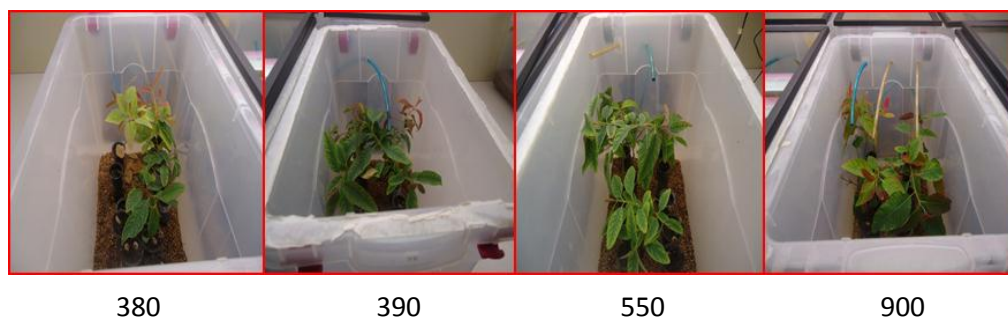


Figura 2. Caixas com quatro concentrações de CO₂ em μmol mol⁻¹.

A injeção do CO₂ foi por um ou dois tubos através dos furos na parte lateral das caixas conforme cada tratamento (Figura 2). Para homogeneizar o gás dentro das caixas foi injetado ar atmosférico externo à sala através de um tubo com o auxílio de um compressor programado para ficar ligado durante 15 minutos em intervalos de 15 minutos. Amostras de ar de todas as parcelas foram coletadas diariamente para o monitoramento da concentração de CO₂ realizado com o auxílio de um analisador infravermelho de gás (IRGA, marca Vaisalla, modelo 222, 0 a 10000 μmol mol⁻¹).

As duas concentrações de CO₂ utilizadas nos ensaios, 550 μmol mol⁻¹ e 900 μmol mol⁻¹ de CO₂, foram baseadas nos cenários futuros previstos pelo IPCC. A primeira baseada no cenário otimista A1, o qual projeta a concentração de CO₂ atmosférico para 550 μmol mol⁻¹, a segunda foi a concentração alcançada mais próxima a concentração prevista pelo cenário pessimista A2, o qual prevê uma concentração de 1000 μmol mol⁻¹. As

concentrações de $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ e $390 \mu\text{mol mol}^{-1}$ são concentrações de CO_2 ambiente utilizadas como testemunhas para comparação dos resultados com as altas concentrações de CO_2 .

5.1. Instalação do experimento

Para testar o efeito do aumento da concentração de CO_2 sobre o desenvolvimento da doença, foram realizados dois ensaios em épocas diferentes, um em março de 2010, com mudas preparadas durante o período de verão, e o outro em dezembro de 2010, com mudas preparadas durante a primavera. Dois clones de eucalipto foram testados: um proveniente do cruzamento *Eucalyptus urophylla* x *E. camaldulensis* (VM01) e outro, da espécie *E. urophylla* (MN463).

As mudas, cultivadas em tubetes contendo substrato à base de pínus, com 50 dias de idade, foram fornecidas pela empresa V&M Florestal Ltda. No primeiro ensaio, foram utilizadas oito mudas por caixa (quatro de cada clone) e, no segundo ensaio, seis (três de cada clone). Com a finalidade de padronizar o material vegetal, foi realizada uma poda deixando apenas dois pares de folhas por muda. Para manter a umidade nas caixas e para a sustentação dos tubetes, foram colocados quatro litros de vermiculita de granulação média em cada caixa, umedecida com dois litros de água. Durante a execução dos ensaios, as mudas foram adubadas em intervalos de dois dias com 4 mL de solução nutritiva composta de macro e micro nutrientes (produzida pela Qualifértil – Comércio e Representações – Ltda) em cada tubete e irrigadas em igual intervalo ao da adubação. Para evitar doenças abióticas por excesso de umidade (Figura 3), a cada dois dias, a umidade presente nas paredes e vidros das caixas foi retirada com auxílio de um pano de flanela. As mudas foram mantidas nessas condições por 70 dias no primeiro ensaio e 57 dias no segundo, para que as mudas a serem inoculadas com o patógeno fossem desenvolvidas nas respectivas concentrações do CO_2 .



Figura 3. Muda de eucalipto com sintoma de doença abiótica.

5.2. Obtenção do inóculo de *Ceratocystis fimbriata*

O fungo foi repicado para placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo meio seletivo constituído por 200 mL de suco de tomate; 800 mL de água destilada; 1g de carbonato de cálcio; 20 g ágar; 0,80 g de bile bovina; 0,66 g de PCNB; 0,30 g de sulfato de estreptomicina e 0,20 g de oxitetraciclina. As placas foram mantidas por um período de 15 dias à temperatura de 25 °C e luz fluorescente constante.

Após esse período, em cada placa foram adicionados 5 mL de água destilada esterilizada e sobre a colônia esporulada foi passada a alça de Drigalski para a retirada dos conídios. As suspensões obtidas foram filtradas em pano de voal e algodão esterilizado. A concentração de conídios foi ajustada com um auxílio de um hemacitômetro tipo Neubauer para $2,5 \times 10^5$ conídios mL⁻¹.

O isolado foi preservado em tubos com meio seletivo para *Ceratocystis* e armazenamento em água, método de Castellani, conforme descrito em Alfenas e Mafia (2007) e depositado na micoteca da Embrapa Meio Ambiente.

5.3. Inoculação

As mudas foram inoculadas nas hastes após 70 dias de crescimento nas diferentes concentrações de CO₂ do ar no primeiro ensaio e 57 no segundo. Antes da inoculação, foi realizado um ferimento nas hastes do eucalipto, abaixo do quarto par de folhas

(furo com o auxílio de uma agulha estéril). Com o auxílio de uma micropipeta, 100 μ L da suspensão de conídios de *C. fimbriata* foram inoculados sobre o ferimento. A área inoculada foi recoberta com parafilme, para manter a umidade do local e evitar a entrada de microrganismos contaminantes.

5.4. Reisolamento do patógeno

O reisolamento do patógeno foi feito pelo método de isca de cenoura (ALFENAS e MAFIA, 2007). Para tanto, segmentos de caule infectado foram depositados sobre discos de cenoura, após desinfestação superficial com álcool 70%, hipoclorito de sódio (2,0% de cloro ativo) e lavagem com água destilada estéril; depois foi feito “sanduíche” dos tecidos infectados com discos de cenouras envolvendo-os com parafilme. As amostras foram incubadas em gerbox esterilizado, em temperatura de 25°C por aproximadamente uma semana (Figura 4).



Figura 4. Método de reisolamento de *Ceratocystis fimbriata*.

(A – isca de cenoura, B – isca após sete dias do isolamento).

5.5. Avaliações

Nos ensaios foram avaliadas a severidade, a incidência e o período de incubação da murcha de *Ceratocystis*. As características de desenvolvimento da planta, como a altura de plantas, diâmetro do colo das plantas e do local da inoculação, área foliar, peso de massa fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular, teor de carbono e nitrogênio acumulado nas folhas, hastes e raízes também foram avaliados.

5.5.1. Murcha de *Ceratocystis*

A severidade da murcha de *Ceratocystis* foi quantificada por meio da medida do crescimento da lesão na haste das mudas (Figura 5). O comprimento da lesão foi medido após oito dias da inoculação, em intervalos de dois dias acima e abaixo do local inoculado até os 28 dias no primeiro ensaio e aos 20 no segundo ensaio. Passados 28 dias no primeiro ensaio e 20 dias no segundo avaliou-se a incidência da doença por meio da contagem de mudas murchas do total das mudas de eucalipto dos ensaios (Figura 6). O período de incubação da doença foi determinado com base nos dias decorridos da inoculação até a expressão dos sintomas, aparecimento da lesão na parte externa, considerando infectada a parte escura.



Figura 5. Sintomas da doença.

(A – lesão acima do ponto de inoculação, PI – ponto de inoculação, B – lesão abaixo do ponto de inoculação, C – parte sadia da haste, D – parte doente da haste).



Figura 6. Muda de eucalipto com sintoma de murcha de *Ceratocystis*.

5.5.2. Características das mudas

Algumas características das mudas foram avaliadas e correlacionadas com a ocorrência da doença nos diferentes tratamentos de CO₂. A medição da altura das mudas (distância entre a superfície do substrato e o ápice da haste principal das mudas) foi efetuada semanalmente a partir de 15 dias da implantação dos ensaios. Ao final dos ensaios foram medidos o diâmetro da haste das mudas com auxílio de um paquímetro digital; a área foliar, medindo o terceiro par de folhas das mudas em scanner de área foliar (modelo LI - 3100 AREA METER – LI - COR, Figura 7). No final dos ensaios as matérias frescas da parte aérea das mudas e do sistema radicular foram lavadas e pesadas em balança semianalítica para a avaliação do peso da matéria fresca. Posteriormente, foram embaladas em sacos de papel de 2 kg e colocadas em estufa de ventilação forçada a 70 °C pelo período de sete dias; após esse período foram retiradas da estufa e pesadas em balança semianalítica para a determinação do peso de matéria seca. Ao fim dos experimentos as mudas apresentavam 98 dias de cultivo nas diferentes concentrações de CO₂ no primeiro ensaio e 77 dias no segundo ensaio.



Figura 7. Aparelho utilizado para quantificar a área foliar (scanner).

5.5.3. Análise de carbono e nitrogênio

No primeiro ensaio, após a determinação da matéria seca da parte aérea e sistema radicular, as quatro mudas de cada clone de cada tratamento foram agrupadas em uma amostra composta para a análise de carbono. Cada amostra composta foi analisada quanto ao teor de C nas folhas, hastes e raízes. Elas foram processadas em um moinho de bola, aproximadamente 10 g cada, e enviadas para a UFLA, para o professor Dr. Carlos Alberto Silva do Centro de Nutrição Mineral de Plantas, para a quantificação do teor de carbono presente nas partes das mudas, que foi determinado utilizando aparelho Perkin-Elmer CHNS/O Analyser Series II 2400. No segundo ensaio, as três mudas de cada parcela foram agrupadas em uma amostra composta, para cada clone e processadas de forma semelhante ao primeiro ensaio. A análise de C e N foi realizada no equipamento TruSpec CNH no laboratório de análise de solos da Embrapa Meio Ambiente, seguindo os seguintes procedimentos: primeiro realiza-se uma amostra branco no aparelho (passando pelo equipamento o oxigênio, ar sintético e hélio) e depois coloca um amostra padrão (BARLEY (502-277), C=45,20 +- 0,28%, N= 1,69 +- 0,03%, LOT= 1007); então se pesa 0,2g da amostra e coloca-se em uma forma de estanho para ser levada no equipamento para queimar; no final da queima são obtidos as porcentagens de C e N encontrados na amostra.

5.6. Análise dos dados

A partir dos dados de comprimento de lesão, foi obtida a área abaixo da curva de progresso da doença acima do local inoculado (AACPDac) e abaixo (AACPDab). Com os dados da altura das mudas foi calculada a área abaixo da curva de progresso de crescimento da altura (AACPCA). Todos os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas com o teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo programa MINITAB versão 14.

As variáveis das plantas foram correlacionadas com as variáveis da doença pela correlação de Pearson. O coeficiente de determinação R^2 foi aplicado para relacionar o aumento da concentração de CO_2 com as variáveis avaliadas nos dois ensaios.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Reisolamento do fungo

Após sete dias do reisolamento do patógeno, a massa de esporos presente na superfície dos pedaços de cenoura, foi repicada para placas de Petri com meio seletivo (Figura 8). A confirmação do patógeno foi realizada por meio da caracterização dos conídios do fungo a partir da confecção de lâminas (Figura 9). Não foi observada a formação de peritécios.

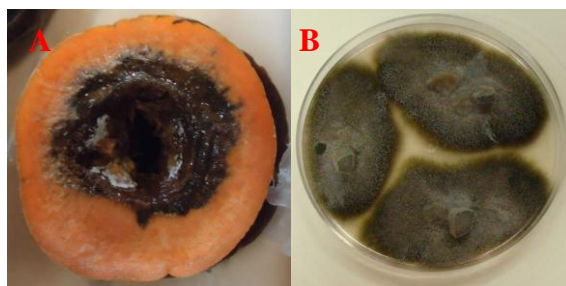


Figura 8. Isolamento de *C. fimbriata* a partir do método de isca de cenoura.

(A – disco de cenoura colonizado pelo patógeno, B – colônia característica do patógeno em cultura).



Figura 9. Estruturas de *Ceratocystis fimbriata* em microscópio óptico.

(A – conídios endósporos (100x de aumento), B – corrente de conídios (40x de aumento).

6.2. Efeito da concentração de CO₂ sobre a murcha de *Ceratocystis* nas mudas de eucalipto

Nos dois ensaios houve um menor crescimento da lesão acima e abaixo do ponto de inoculação provocada por *C. fimbriata* nos tratamentos com concentrações de 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂, quando comparados com as testemunhas de 380 e 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Os tratamentos com aumento da concentração de CO₂ não diferiram estatisticamente entre si. As testemunhas também não apresentaram diferença estatística entre elas. Apenas no segundo ensaio a testemunha com 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ apresentou maior crescimento da lesão acima do ponto de inoculação que a testemunha 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂ (Tabela 1).

Tabela 1. Área abaixo da curva do progresso da doença acima (AACPDac) e abaixo (AACPDab) do ponto de inoculação do patógeno em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (*E. urophylla*) de eucalipto.

Tratamentos	1º ensaio		2º ensaio	
	AACPDac	AACPDab	AACPDac	AACPDab
CO₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)				
380	182,3 a	62,9 a	178,5 b	69,5 a
390	234,5 a	73,8 a	191,3 a	69,2 a
550	30,6 b	16,3 b	10,7 c	3,8 b
900	47,0 b	18,6 b	10,1 c	3,4 b
Clones				

MN463	112,30 a	41,00 a	96,43 a	35,2 a
VM01	134,97 a	44,82 a	98,91 a	37,7 a
MN463(380)	171,0	59,9	178,3	67,7
VM01(380)	193,7	65,9	178,7	71,3
MN463(390)	219,2	75,9	188,3	67,9
VM01(390)	249,9	71,7	194,3	70,6
MN463(550)	22,4	12,6	8,5	3,1
VM01(550)	38,9	19,9	12,9	4,4
MN463(900)	36,6	15,6	10,6	2,2
VM01(900)	57,4	21,7	9,6	4,6

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%. Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.

Em outros estudos sobre o efeito de CO₂ em doenças também foi observada alteração da ocorrência de doenças de plantas com o aumento da concentração de CO₂. Eastburn et al. (2010), em estudo com soja, observaram que a severidade de míldio diminui na presença de 550 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂. Kobayashi et al. (2006) verificaram que a porcentagem de plantas de arroz infectadas por *Rhizoctonia solani* e *Magnaporthe oryzae* foi maior sob condições de alta concentração de CO₂ (em torno de 574 a 650 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) se comparadas às condições ambiente (em torno de 365 a 369 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). Lessin e Ghini (2009) também observaram que o aumento da concentração de CO₂ atmosférico aumenta a severidade do oídio da soja.

O desenvolvimento de uma planta é resultante da interação entre o seu genótipo e o ambiente. Deste modo, as mudanças no clima interferem na morfologia, fisiologia e metabolismo das plantas, resultando em variações no acontecimento e intensidade das doenças. (CHAKRABORTY et al., 1998). Segundo Manning e Tiedemann (1995), modificações nas plantas hospedeiras podem derivar em mudanças na expressão da doença, dependendo da planta hospedeira, idade da planta e o tipo de patógeno.

Além da lesão no caule, outro sintoma marcante da doença estudada é a murcha da planta ou parte desta. Nos dois ensaios, o número de plantas murchas foi menor nos tratamentos com injeção de CO₂ (550 e 900 μmol mol⁻¹), chegando a ser 88% menor que no tratamento testemunha (390 μmol mol⁻¹) (Tabela 2, Figuras 10 e 11). Todos os tratamentos foram diferentes estatisticamente. O tratamento com 380 μmol mol⁻¹ apresentou menor número de plantas mortas que o tratamento com 390 μmol mol⁻¹, o que pode ter sido resultado da injeção do ar externo à sala.

Tabela 2. Incidência (%) de plantas murchas nos ensaios em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (*E. urophylla*) de eucalipto.

Tratamentos CO ₂ (μmol mol ⁻¹)	1° ensaio		2° ensaio	
	MN463	VM01	MN463	VM01
380	11,81 b	15,28 b	10,42 b	13,89 b
390	16,67 a	15,97 a	13,19 a	14,58 a
550	2,08 d	2,78 c	1,39 c	2,78 c
900	2,78 c	2,78 c	1,39 c	2,78 c

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.

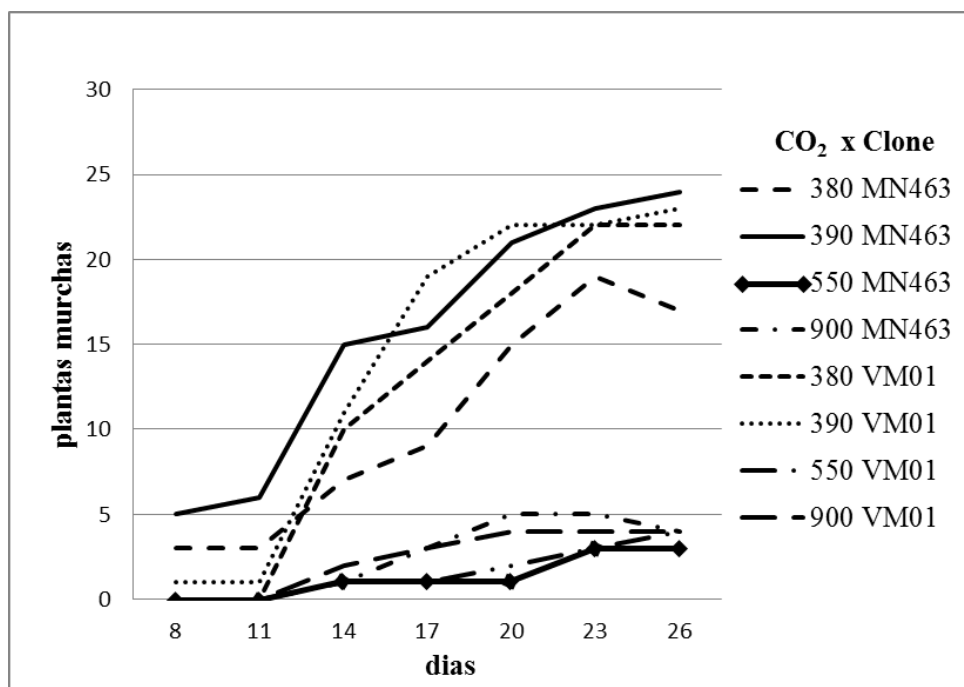


Figura 10. Progresso das plantas murchas no 1º ensaio em diferentes concentrações de CO₂ (380, 390, 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) de eucalipto.

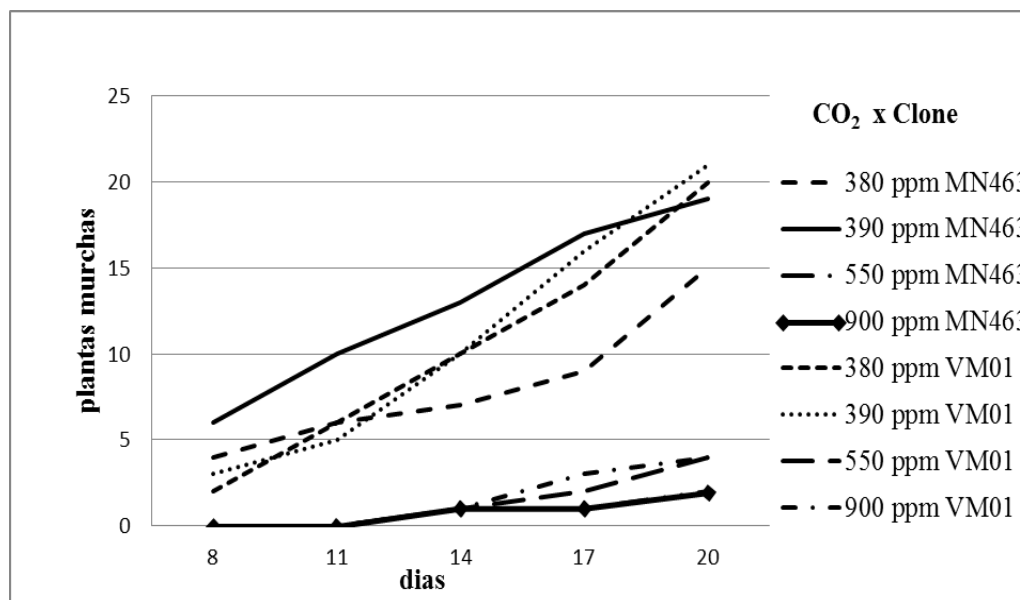


Figura 11. Progresso das plantas murchas no 2º ensaio em diferentes concentrações de CO₂ (380, 390, 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) de eucalipto.

O período de incubação da doença também foi influenciado pelo aumento da concentração de CO₂. O período de incubação é o tempo decorrido a partir da deposição do patógeno até o surgimento do sintoma da doença (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 1996). Segundo Bergamin Filho e Amorim (2002), esse período, em termos epidemiológicos, é relevante, devido à quantificação da doença ser normalmente avaliada em sintomas aparentes. No primeiro ensaio, para os tratamentos 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂, o período de incubação médio foi de aproximadamente de 18 dias, diferindo significativamente das testemunhas 380 e 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, que apresentaram período de incubação médio de aproximadamente 12 dias. No segundo ensaio, para os tratamentos 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂, os resultados encontrados para o período de incubação médio foram semelhantes aos do primeiro ensaio, e também foram significativamente diferentes das testemunhas 380 e 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, que apresentaram período de incubação médio de aproximadamente 10 dias (Tabela 3). Não houve diferença entre o período de incubação para os dois clones estudados. Assim, em ensaios futuros apenas um dos clones poderia ser selecionado para estudo.

Tabela 3. Período de incubação (dias) da doença em diferentes concentrações de dióxido de carbono.

Tratamentos	1° ensaio	2° ensaio
CO₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)		
380	12,21b	9,45 b
390	11,94 b	10,25 b
550	18,22 a	18,40 a
900	18,29 a	18,45 a
Clone		
MN463	15,31 a	14,23 a
VM01	15,02 a	14,05 a
MN463(380)	12,16	9,70
VM01(380)	12,25	9,20

MN463(390)	12,41	9,80
VM01(390)	11,47	10,70
MN463(550)	18,16	18,70
VM01(550)	18,27	18,10
MN463(900)	18,50	18,70
VM01(900)	18,08	18,20

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%.
Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.

Desse modo, o maior período de incubação observado com o aumento da concentração de CO₂ pode significar que a colonização dos tecidos da planta pelo patógeno foi mais lenta em altas concentrações do CO₂, possivelmente devido à ativação de mecanismos de resistência das plantas nesse ambiente.

Os resultados encontrados para a murcha de *Ceratocystis* em eucalipto são os primeiros apresentados e demonstram que o aumento da concentração de CO₂ do ar sobre a doença para os clones estudados pode alterar a ocorrência da doença se as concentrações do CO₂ continuarem aumentando. No entanto, outros métodos para estudar os efeitos da mudança climática sobre as plantas devem ser aplicados, pois estudos em ambiente controlados podem não refletir os mesmos resultados quando as plantas são submetidas às condições naturais de campo. Assim, os efeitos da elevação de CO₂ atmosférico sobre a murcha de *Ceratocystis* em eucalipto ficaram evidentes pelos ensaios conduzidos. A injeção de CO₂ nos ensaios contribuiu para a supressão da doença.

A alteração da severidade da murcha de *Ceratocystis* deve ter sido resultante da atuação do CO₂ sobre a planta. O aumento da concentração de CO₂ promoveu alterações sobre o hospedeiro que resultaram em redução da severidade da doença. Contudo, mais estudos *in situ* devem ser realizados para confirmar os resultados encontrados. Segundo Ghini et al. (2011), estudos em condições controladas podem não refletir as respostas de plantas quando estudadas em campo, onde há alterações e interações entre temperatura, precipitação e outras variáveis. FACE (Free Air Carbon Dioxide Enrichment) e câmaras de topo aberto (OTCs) proporcionam alternativas mais realista para compreender como o

aumento da composição da atmosfera de CO₂ e O₃ pode influenciar na interação patógeno-hospedeiro, severidade da doença e no manejo das florestas tropicais e lavouras.

6.2. Efeito do CO₂ no desenvolvimento das mudas de eucalipto

6.2.1. Altura das mudas de eucalipto

Nos dois ensaios a altura das mudas foi afetada pelo aumento da concentração de CO₂. Os tratamentos 550 e 900 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂ diferiram estatisticamente dos tratamentos testemunhas. Os tratamentos com injeção de dióxido de carbono não diferiram entre si. No primeiro ensaio não foi observada diferença estatística entre as testemunhas. A testemunha 390 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ apresentou um maior crescimento quando comparado com o tratamento 380 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂ (Tabela 4).

Tabela 4. Área abaixo da curva de progresso de crescimento da altura (AACPCA) em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) de eucalipto.

Tratamentos	1° ensaio	2° ensaio
	AACPCA(cm)	
CO₂($\mu\text{mol mol}^{-1}$)		
380	233,1 b	109,5 c
390	243,5 b	118,1 b
550	477,1 a	250,8 a
900	469,0 a	255,3 a
Clone		
MN463	337,7 b	181,3 b
VM01	373,7 a	185,5 a
MN463(380)	231,3 d	109,4

VM01(380)	235,0 d	109,5
MN463(390)	239,1 cd	117,7
VM01(390)	248,1 c	118,5
MN463(550)	444,5 b	246,7
VM01(550)	509,8 a	254,9
MN463(900)	436,1 b	251,3
VM01(900)	502,1 a	259,2

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%. Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.

A fotossíntese, geralmente, é estimulada quando exposta a altas concentrações de CO₂. A elevação do CO₂ reduz a condutância estomática e a transpiração melhorando a eficiência do uso da água e, ao mesmo tempo e estimula altas taxas de fotossíntese e aumenta a eficiência no uso da luz. Possivelmente, a alteração nesses processos influenciou o aumento de altura das mudas dos ensaios quando submetidas a altas concentrações de CO₂.

6.2.2. Diâmetro da haste e área foliar das mudas de eucalipto

O aumento da concentração de dióxido de carbono resultou em um maior diâmetro nas hastes dos clones estudados (Tabela 5).

Tabela 5. Diâmetro do colo da muda (dc) e o diâmetro do local da inoculação (di) em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) de eucalipto.

Tratamentos	1° ensaio		2° ensaio	
	dc (mm)	di (mm local inoculado)	dc (mm)	di (mm local inoculado)
CO ₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)				
380	1,56 b	2,05 b	2,31 b	1,73 b

390	1,52 b	1,96 b	2,48 ab	1,80 b
550	2,10 a	2,74 a	2,56 a	1,96 a
900	2,06 a	2,79 a	2,62 a	1,93 a
<hr/>				
Clone				
MN463	1,69 b	2,18 b	2,49 a	1,88 a
VM01	1,93 a	2,59 a	2,49 a	1,83 a
<hr/>				
MN463(380)	1,54 c	2,03 cd	2,30	1,73
VM01(380)	1,58 c	2,06 c	2,31	1,72
MN463(390)	1,44 d	1,78 d	2,52	1,90
VM01(390)	1,60 c	2,13 c	2,43	1,69
MN463(550)	1,89 b	2,44 b	2,57	1,97
VM01(550)	2,30 a	3,03 a	2,55	1,95
MN463(900)	1,90 b	2,46 b	2,57	1,91
VM01(900)	2,22 a	3,12 a	2,66	1,94

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%. Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.

A área foliar também foi maior nos dois clones em ambiente enriquecido com CO₂, sendo significativamente diferente das testemunhas. Nos ensaios não se observou diferença estatística entre as testemunhas. Os tratamentos com ambiente enriquecido com CO₂ também não apresentaram diferenças entre si nos ensaios (Tabela 6).

Tabela 6. Área foliar (cm²) em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) de eucalipto.

Tratamentos	1° ensaio	2° ensaio
CO₂ (μmol mol⁻¹)		
380	13,83 b	16,76 b
390	14,78 b	16,58 b
550	47,99 a	49,31 a
900	49,15 a	49,17 a
Clone		
MN463	28,93 b	32,99 a
VM01	33,94 a	32,92 a
MN463(380)	14,13 c	16,82
VM01(380)	13,53 d	16,69
MN463(390)	14,27 c	16,75
VM01(390)	15,28 c	16,41
MN463(550)	42,73 b	49,36
VM01(550)	53,24 a	49,25
MN463(900)	44,59 b	49,02
VM01(900)	53,70 a	49,31

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%. Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.

Em estudo realizado com plantas de milho, Driscoll et al. (2006) verificaram que as plantas expostas as altas concentrações de CO₂ apresentavam maior crescimento do que as plantas em concentração ambiente, como no presente trabalho. Os resultados encontrados nos dois ensaios para a área foliar estão de acordo com os relatados por

Imai et al. (1985), os quais verificaram que plantas de arroz em ambiente com concentrações de CO_2 elevadas apresentaram uma maior área foliar por planta quando comparadas com condições ambiente de CO_2 .

6.2.3. Peso da matéria fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular

A injeção de CO_2 estimulou o aumento do peso da matéria fresca e seca da parte aérea das mudas de eucalipto dos ensaios (Figura 12), sendo significativamente maior que as cultivadas em ambiente com condições atuais de CO_2 . Os tratamentos com elevadas concentrações de CO_2 não diferiram estatisticamente entre si. Não foi observado diferenças entre as testemunhas (Tabela 7).

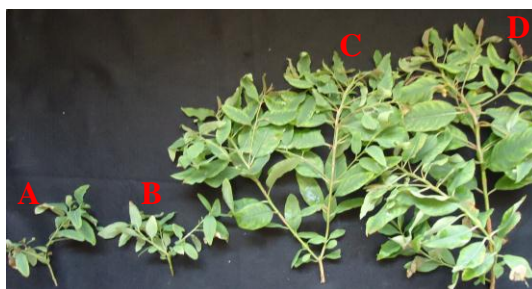


Figura 12. Parte aérea das mudas de eucalipto em diferentes concentrações de CO_2 . (A – $380 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , B – $390 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , C – $550 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , D – $900 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2).

Os pesos da matéria fresca e seca das raízes das mudas também foram alterados na presença de dióxido de carbono (Figura 13), apresentando valores maiores do que os encontrados nas mudas que foram mantidas em CO_2 ambiente. Nos dois ensaios não se notou diferença estatística no peso da matéria fresca da raiz entre tratamentos com injeção de CO_2 . As testemunhas sem a injeção de CO_2 também não apresentaram diferenças entre si. No primeiro ensaio o peso da matéria seca da raiz apresentou maior resultado no tratamento $900 \mu\text{mol mol}^{-1}$ do que o encontrado no tratamento $550 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 . Entre as testemunhas não ocorreu diferença. No segundo ensaio os pesos da matéria seca das raízes não apresentaram diferença entre os tratamentos com aumento de CO_2 . As testemunhas não diferiram entre si e (Tabela 8).

Tabela 7. Peso da matéria fresca (PFPA) e seca (PSPA) da parte aérea e em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) de eucalipto.

Tratamentos	1° ensaio		2° ensaio	
	PFPA(g)	PSPA(g)	PFPA(g)	PSPA(g)
CO₂($\mu\text{mol mol}^{-1}$)				
380	1,56 b	0,52 b	1,72 b	0,40 b
390	1,64 b	0,53 b	1,67 b	0,37 b
550	12,29 a	3,03 a	4,16 a	0,87 a
900	13,37 a	3,21 a	4,28 a	0,84 a
Clone				
MN463	6,69 b	1,62 b	2,77 a	0,63 a
VM01	7,74 a	2,03 a	3,14 b	0,61 a
MN463(380)	1,55 c	0,51 a	1,64 c	0,41
VM01(380)	1,56 c	0,52 a	1,79 c	0,39
MN463(390)	1,46 b	0,46 a	1,64 c	0,37
VM01(390)	1,82 b	0,60 a	1,70 c	0,37
MN463(550)	11,21 a	2,58 e	4,04 ab	0,87
VM01(550)	13,37 a	3,48 d	4,27 ab	0,87
MN463(900)	12,55 a	2,92 d	3,77 b	0,87
VM01(900)	14,19 a	3,50 d	4,78 a	0,81

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%. Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.



Figura 13. Raízes das mudas de eucalipto cultivadas em diferentes concentrações de CO₂. (A – 380 μmol mol⁻¹ de CO₂, B – 390 μmol mol⁻¹ de CO₂, C – 550 μmol mol⁻¹ de CO₂, D – 900 μmol mol⁻¹ de CO₂).

Esses resultados se assemelham aos encontrados no trabalho realizado com plantas de *Eucalyptus cladocalyx* submetidas ao aumento de CO₂ de Gleadow, Foley e Woodrow (1998), que verificaram que as mudas submetidas ao aumento da concentração de CO₂ apresentavam maior altura e biomassa quando comparadas ao controle. Norby et al. (1987) também encontraram aumento significativo no peso da matéria seca de plantas de *Robinia pseudocacia*, *Alnus glutinosa* e *Eleagnus angustiflora* quando submetidas à concentração de 700 μmol mol⁻¹ de CO₂.

Tabela 8. Peso da matéria fresca (PFR) e seca (PSR) das raízes em diferentes concentrações de dióxido de carbono nos clones VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) de eucalipto.

Tratamentos	1° ensaio		2° ensaio	
	PFR(g)	PSR(g)	PFR(g)	PSR(g)
CO₂(μmol mol⁻¹)				
380	0,12 b	0,06 c	0,40 b	0,18 b
390	0,12 b	0,06 c	0,37 b	0,16 b
550	0,44 a	0,29 a	0,87 a	0,42 a
900	0,53 a	0,40 b	0,84 a	0,43 a
Clone				
MN463	0,29 b	0,19 a	0,63 a	0,29 a

VM01	0,32 a	0,21 a	0,61 a	0,30 a
MN463(380)	0,12 a	0,06	0,41	0,17
VM01(380)	0,11 a	0,06	0,39	0,18
MN463(390)	0,12 a	0,07	0,37	0,15
VM01(390)	0,12 a	0,05	0,37	0,16
MN463(550)	0,40 a	0,26	0,87	0,41
VM01(550)	0,47 b	0,32	0,87	0,42
MN463(900)	0,50 a	0,37	0,87	0,42
VM01(900)	0,56 b	0,42	0,81	0,43

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%. Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.

6.2.4. Análise da quantidade de carbono e nitrogênio em mudas de eucalipto

No primeiro ensaio a injeção de CO₂ não influenciou significativamente a quantidade de carbono encontrada nas folhas e haste das mudas de eucalipto. No tratamento 550 μmol mol⁻¹ de CO₂ a quantidade de carbono das raízes foi significativamente menor quando comparada à testemunha 390 μmol mol⁻¹. No segundo ensaio o teor de C das folhas e hastes foi significativamente maior nas altas concentrações de CO₂ quando comparadas com a testemunha 380 μmol mol⁻¹ CO₂. Não houve diferença do teor de C nas raízes entre as diferentes concentrações de CO₂ no segundo ensaio (Tabela 9).

Tabela 9. Quantidade de carbono (%) nas folhas, haste e raiz nos clones de eucalipto VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) em diferentes concentrações de dióxido de carbono.

Tratamentos	1º ensaio			2º ensaio		
	Folhas(%)	Haste(%)	Raíz(%)	Folhas(%)	Haste(%)	Raíz(%)
CO ₂ (μmol mol ⁻¹)						
380	43,88 a	41,38 a	40,06 a	50,71 b	47,94 b	47,85 a

390	43,91 a	41,42 a	40,83 a	51,18 ab	48,54 ab	48,28 a
550	44,33 a	41,54 a	39,52 b	51,76 a	48,55 a	47,39 a
900	44,36 a	41,32 a	40,07 a	51,63 a	48,57 a	48,45 a
Clone						
MN463	44,32 a	41,36 a	39,88 a	51,43 a	48,46 a	47,89 a
VM01	43,92 a	41,46 a	40,36 a	51,21 a	48,34 a	48,10 a
MN463(380)	43,84	41,39	39,99	50,72	47,97	48,03
VM01(380)	43,91	41,37	40,13	50,70	47,92	47,68
MN463(390)	44,2	41,19	40,61	51,14	48,79	48,34
VM01(390)	43,61	41,64	41,05	51,22	48,30	48,22
MN463(550)	44,48	41,47	39,46	52,22	48,51	46,74
VM01(550)	44,18	41,6	39,57	51,31	48,59	48,04
MN463(900)	44,74	41,39	39,45	51,63	48,57	48,45
VM01(900)	43,97	41,24	40,68	51,63	48,57	48,45

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%. Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.

A quantidade de nitrogênio encontrado nas folhas e raízes do segundo ensaio foi significativamente maior nos tratamentos testemunhas quando comparados com os tratamentos com alta concentração de CO₂. A quantidade de nitrogênio das hastes não diferiu entre os diferentes tratamentos de CO₂ (Tabela 10).

Tabela 10. Quantidade de nitrogênio (%) nas folhas, haste e raiz nos clones de eucalipto VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*) em diferentes concentrações de dióxido de carbono.

Tratamentos	Folhas (%)	Haste (%)	Raíz (%)
CO₂ (μmol mol⁻¹)			
380	1,12 ab	0,61 a	0,73 a
390	1,13 a	0,64 a	0,77 a
550	0,98 bc	0,56 a	0,67 b
900	0,95 c	0,53 a	0,69 b
Clone			
MN463	1,10 a	0,59 a	0,70 a
VM01	1,01 a	0,57 a	0,73 a
MN463(380)	1,13	0,61	0,72
VM01(380)	1,10	0,60	0,73
MN463(390)	1,13	0,64	0,73
VM01(390)	1,12	0,64	0,81
MN463(550)	1,07	0,59	0,66
VM01(550)	0,89	0,53	0,68
MN463(900)	0,95	0,53	0,69
VM01(900)	0,95	0,53	0,69

Valores seguidos pela mesma letra não diferem na mesma coluna pelo teste de Tukey a 5%. Colunas sem letras significam que não houve interação entre o tratamento e o clone.

6.2.5. Correlações entre as variáveis

A correlação de Pearson aplicada às características das plantas com relação à severidade da doença e período de incubação foram lineares, sendo uma correlação alta e inversa quando associada à severidade, e quando associadas ao período de incubação a correlação foi forte direta (Tabela 11). Com esses dados pode-se concluir que o maior desenvolvimento das plantas devido ao aumento da concentração de CO₂ pode ter influenciado no ciclo da doença.

Tabela 11. Correlação das características das plantas com a área abaixo da curva de progresso da doença acima (AACPDac) e abaixo (AACPDab) do ponto de inoculação do patógeno e o período de incubação (PI).

Variáveis	MN463			VM01		
	PI	AACPDac	AACPDab	PI	AACPDac	AACPDab
AACPCA	100%	-100%	-100%	100%	-99%	-100%
di	71%	-67%	-70%	98%	-100%	-100%
dc	72%	-69%	-72%	93%	-88%	-90%
Área foliar	100%	-100%	-100%	99%	-100%	-100%
PFFA	100%	-100%	-100%	98%	-99%	-99%
PSPA	96%	-96%	-96%	98%	-100%	-99%
PFR	100%	-100%	-100%	98%	-99%	-100%
PSR	100%	-100%	-100%	98%	-100%	-100%

AACPC – área abaixo da curva de progresso de crescimento da altura; di – diâmetro da haste do local inoculado; dc – diâmetro da haste do colo da planta; PFFA – peso da matéria fresca da parte aérea; PSPA – peso da matéria seca da parte aérea; PFR – peso da matéria fresca das raízes; PSR – peso da matéria seca das raízes.

O coeficiente de determinação, R², foi aplicado nas variáveis avaliadas nos ensaios com relação ao aumento da concentração de CO₂ (Figura 14). As características da

planta (altura, diâmetro, área foliar, peso da matéria fresca e seca da parte aérea e das raízes) foram correlacionadas com o aumento da concentração de CO₂ para os dois clones estudados. Para a AACPA o R² foi igual a 0,99, o que significa que 99% da variância da altura das plantas foram devido à variação da concentração de CO₂. Para o diâmetro do local inoculado o R² foi igual a 0,98 para o 1º ensaio e 0,93 para o 2º, o que significa que 98% e 93% da variância do diâmetro do local inoculado das plantas foram devido à variação da concentração de CO₂. Para o diâmetro do colo da planta o R² foi igual a 0,98 para o 1º ensaio e 0,91 para o 2º, o que significa que 98% e 91% da variância do diâmetro das plantas foram devido à variação da concentração de CO₂. Na área foliar o R² foi igual a 0,99 para os dois ensaios, o que significa que 99% da variância da área foliar das plantas foram devido à variação da concentração de CO₂. Para o peso da matéria fresca e seca da parte aérea o R² foi igual a 0,99 para os dois ensaios, o que significa que 99% da variância do peso da matéria fresca e seca da parte aérea das plantas foram devido à variação da concentração de CO₂. Para o peso da matéria fresca e seca das raízes o R² foi igual a 0,99 para os dois ensaios, o que significa que 99% da variância do peso da matéria fresca e seca das raízes das plantas foram devido à variação da concentração de CO₂. A severidade da doença e o período de incubação apresentaram R² de 0,92 a 0,99 e 0,97 a 0,99, respectivamente nos dois ensaios. Isto significa que de 92 a 99% da variância da severidade da doença das plantas sofrida foram devido à variação da concentração de CO₂ e que 97 a 99% da variância do período de incubação sofrida foram devido à variação da concentração de CO₂.

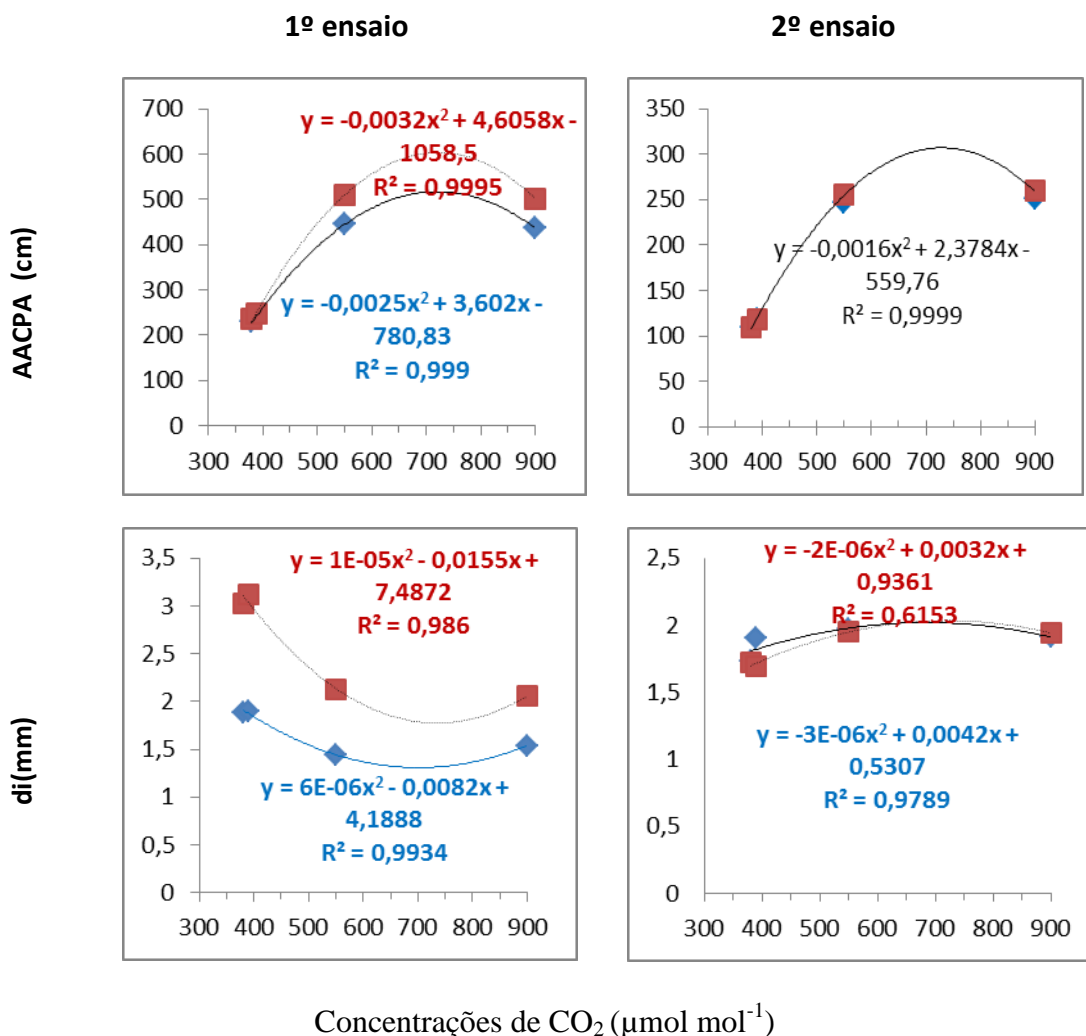
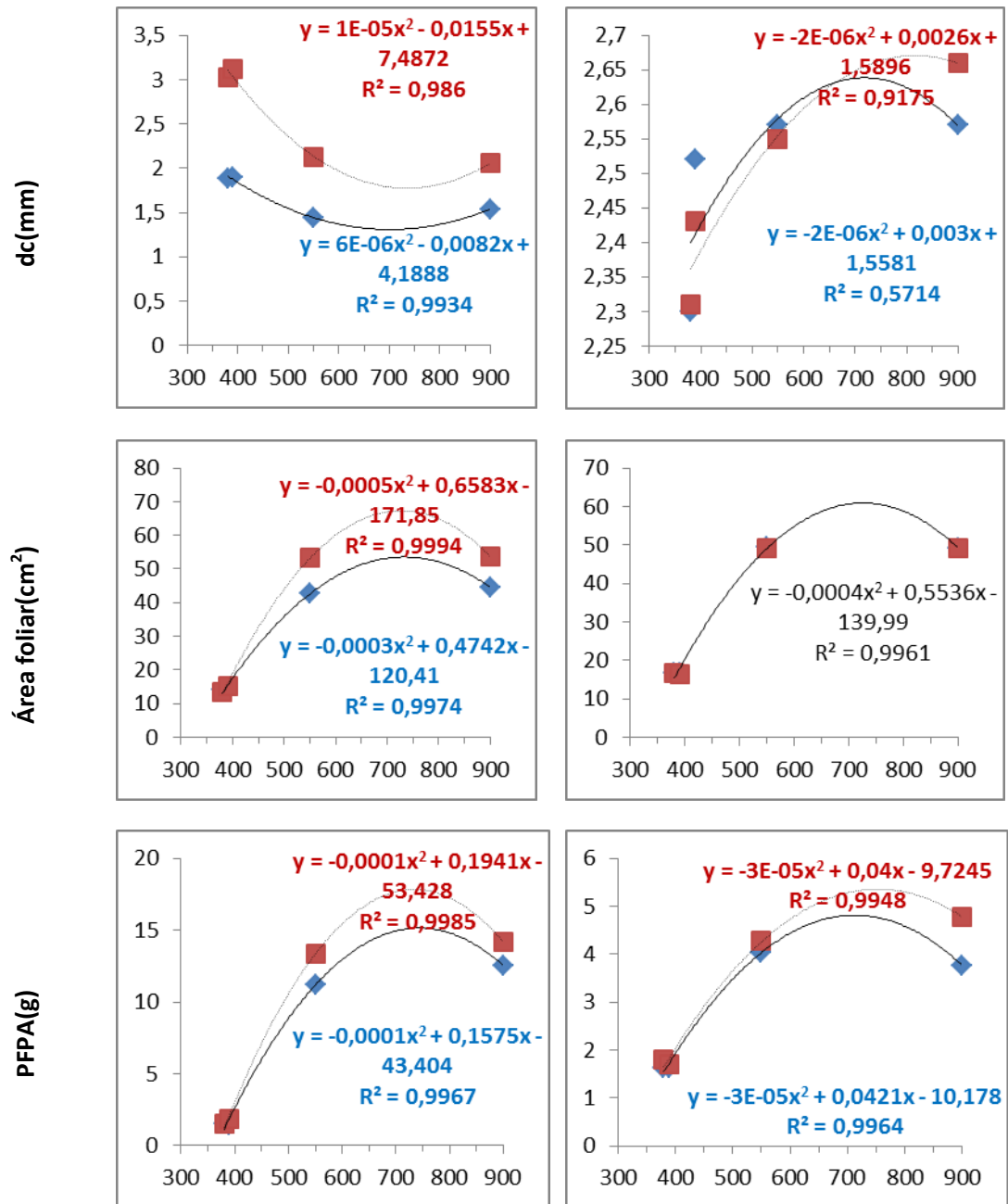
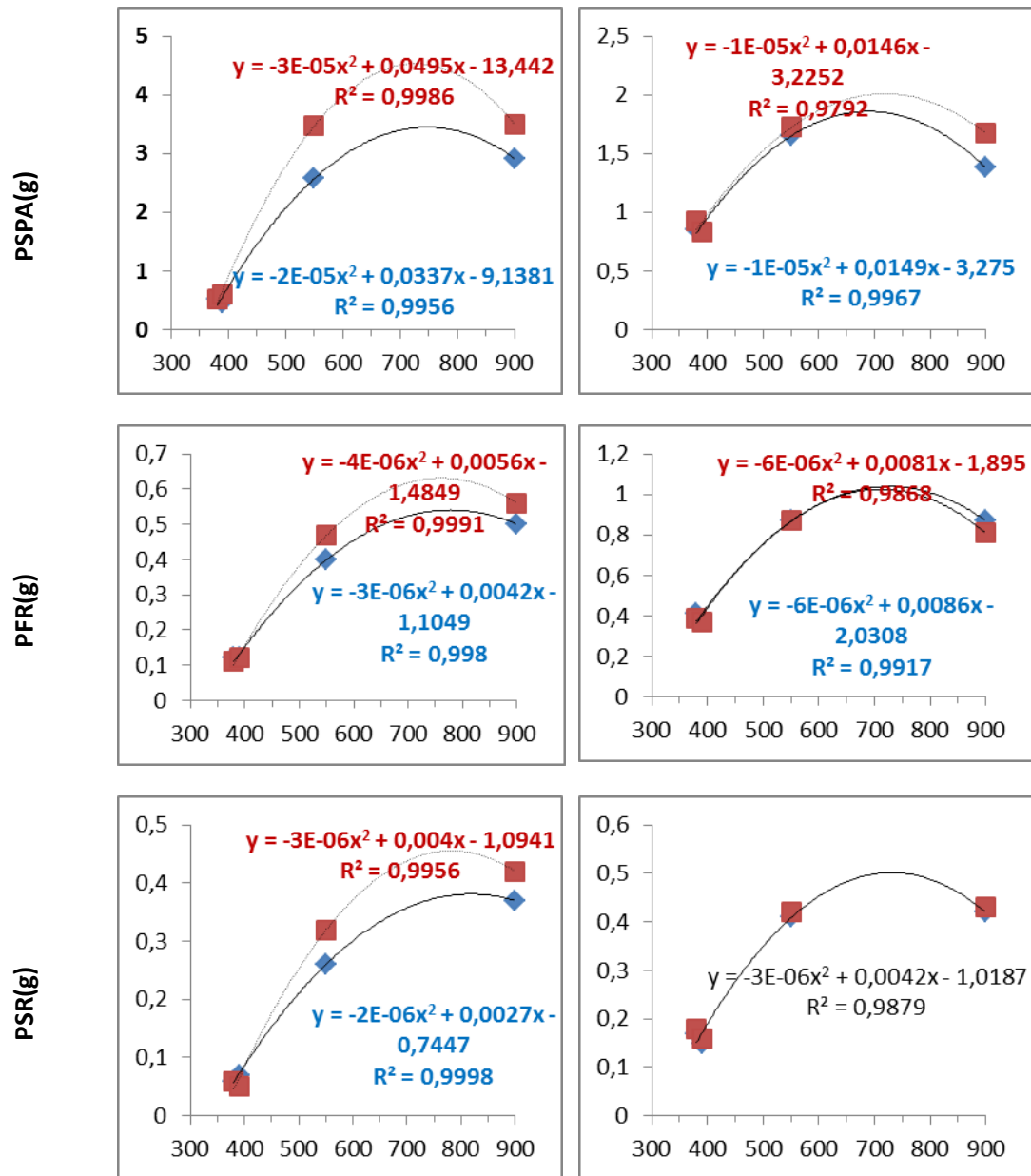


Figura 14. Efeito das variáveis avaliadas nos ensaios em relação às concentrações de dióxido de carbono (380, 390, 550 e 900 μmol mol⁻¹ de CO₂).

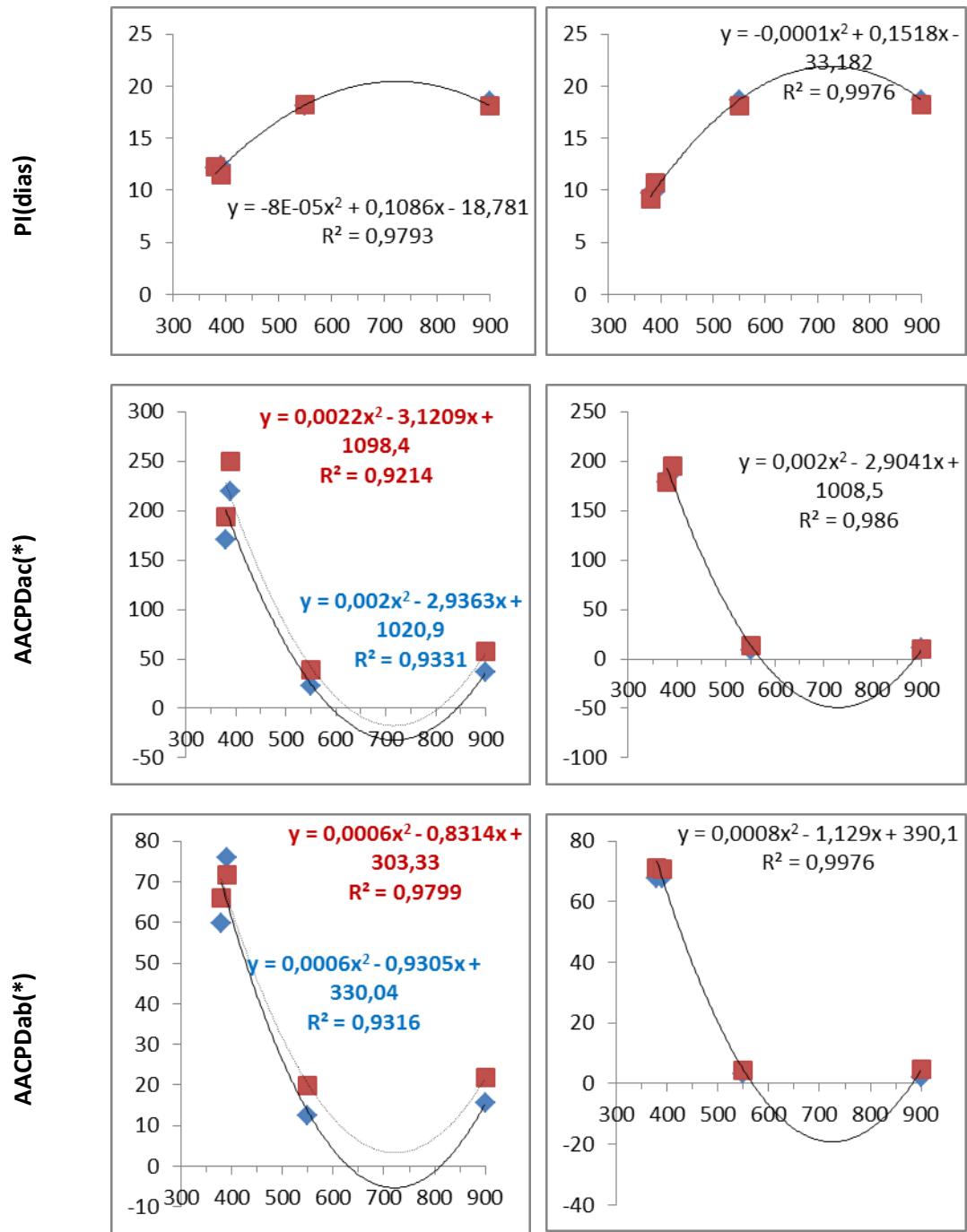
* comprimento da lesão em cm² ■ VM01 (híbrido de *E. urophylla* x *E. camaldulensis*) e MN463 (híbrido de *E. urophylla*). ----- R² – linha de tendência do clone VM01. _____ R² – linha de tendência do clone MN463. _____ R² – linha de tendência dos dois clones. AACPC – área abaixo da curva de progresso de crescimento da altura; di – diâmetro da haste do local inoculado; dc – diâmetro da haste do colo da planta; PFPA – peso da matéria fresca da parte aérea; PSPA – peso da matéria seca da parte aérea; PFR – peso da matéria fresca das raízes; PSR – peso da matéria seca das raízes; PI – período de incubação da doença; AACPDac – área abaixo da curva de progresso da doença acima do local da inoculação e AACPDab – área abaixo da curva de progresso da doença abaixo do local da inoculação.



cont. fig. 14.



Cont. fig. 14.



cont. fig. 14.

7. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nas condições em que foram realizados os ensaios, pode-se concluir que o aumento na concentração de CO₂ do ar resulta em:

- Diminuição da severidade da murcha de *Ceratocystis* nos clones *E. urophylla* x *E. camaldulensis* e híbrido de *E. urophylla*;
- Maior período de incubação da murcha de *Ceratocystis*;
- Diminuição da incidência da murcha de *Ceratocystis*;
- Aumento da altura e do diâmetro das mudas de eucalipto;
- Aumento do peso da matéria fresca e seca da parte aérea e das raízes de mudas de eucalipto.

8. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. **Anuário estatístico da ABRAF 2010**: ano base 2009. Disponível em: <<http://www.abraflor.org.br/estatisticas/ABRAF09-BR.asp>>. Acesso em: 10 out. 2010.

ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 382 p.

ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária, 2004. 442 p.

ASSAD, E.; PINTO, H. S. **Aquecimento global e a nova geografia da produção agrícola no Brasil**. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/publicacoes/tecnico/aquecimentoglobal.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2008.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ceres. 1996. 299 p.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Doenças com período de incubação variável em função da fenologia do hospedeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, p. 561-565, 2002.

BAETHGEN, W. E. Climate change in the agricultural sector of developing countries: mitigation, adaptation, and decision making. **Revista Multiciência**, Campinas, n. 8, p. 122-138, maio 2007.

BOUDON-PADIEU, E.; MAIXNER, M. Potential effects of climate change on distribution and activity of insect vectors of grapevine pathogens. In: COLLOQUE INTERNATIONAL ET PLURIDISCIPLINAIRE SOUS L'ÉGIDE DE LA CHAIRE UNESCO VIN ET CULTURE, 2007, Dijon. nProceedings... França, 2007, p. 1-8.

CANADELL, J. G. et al. Contributions to accelerating atmospheric CO₂ growth from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, DC, v. 104, p. 1866-18870, 2007.

CARVALHO, A. O.; CARMO, M. G. F. Podridão pós-colheita de cenoura causada por *Ceratocystis fimbriata*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 1, p. 108, jan./fev. 2003.

CHAKRABORTY, S. et al. Potential impact of climate change on plant diseases of economic significance to Australia. **Australasian Plant Pathology**, Dordrecht, v. 27, p. 15-35, 1998.

CHAKRABORTY, S.; TIEDEMANN, A. V.; TENG, P. S. Climate change: potential impact on plant diseases. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 108, p. 317-326, 2000.

CHAKRABORTY, S.; PANGGA, I. B. Plant disease and climate change. In: GILLINGS, M.; HOLMES, A. (Eds.). **Plant microbiology**. London: BIOS Scientific, 2004. p. 163-180.

CONSELHO DE INFORMAÇÕES SOBRE BIOTECNOLOGIA. **Guia do eucalipto: oportunidades para um desenvolvimento sustentável**. São Paulo, 2008. 20 p. Disponível em: <http://www.cib.org.br/pdf/Guia_do_Eucalipto_junho_2008.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2009.

DRISCOLL, S.P. et al. Specification of adaxial and abaxial stomata, epidermal structure and photosynthesis to CO₂ enrichment in maize leaves. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 2, p. 381-390, 2006.

EASTBURN, D. M. et al. Elevated atmospheric carbon dioxide and ozone alter soybean diseases at SoyFACE. **Global Change Biology**, Oxford, v. 16, p. 320-330, 2010.

EASTBURN, D. M.; MCELRONE, A. J.; BILGIN, D. D. Influence of atmospheric and climatic change on plant-pathogen interactions. **Plant Pathology**, Oxford, v. 60, p. 54-69, 2011.

FATEH, F. S. et al. *Ceratocystis fimbriata* isolated from vascular Bundles of declining mango trees in Sindh, Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, Karachi, v. 38, n. 4, p. 1257-1259, 2006.

FERREIRA, F. A.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E. A. Detecção rápida de *Ceratocystis fimbriata* em lenho infetado de eucalipto, mangueira e outros hospedeiros lenhosos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, p. 543-545, 2005.

FERREIRA, F. A. et al. Sintomatologia da murcha de *Ceratocystis Fimbriata* em eucalipto. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 30, n. 2, p. 155-162, 2006.

GAMA-RODRIGUES, E. F et al. Nitrogênio, carbono e atividade da biomassa microbiana do solo em plantações de eucalipto. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, Campinas, v. 29, p. 893-901, 2005.

GHINI, R. **Mudanças climáticas globais e doença de plantas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2005a. 104 p.

GHINI, R. Mudanças globais e doenças de plantas. In: DINIZ, E. M. (Ed.). **Um diálogo interdisciplinar sobre mudanças globais**. São Paulo: USP, IEA, 2005b. p. 76-77.

GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. Climate change and plant diseases. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, p. 98-107, Dec. 2008. Special number.

GHINI, R.; BETTIOL, W.; HAMADA, E. Diseases in tropical and plantation crops as affected by climate changes: current knowledge and perspectives. **Plant Pathology**, Oxford, v. 60, p. 122-132, 2011.

GLEADOW, R. M.; FOLEY, W. J.; WOODROW, I. E. Enhanced CO₂ alters the relationship between photosynthesis and defence in cyanogenic *Eucalyptus cladocalyx* F. Muell. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 21, p. 12-22, 1998.

HIBBERD, J. M.; WHITBREAD, R.; FARRAR, J. F. Effect of elevated concentrations of CO₂ on infection of barley by *Erysiphe graminis*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 48, p. 37-53, 1996.

IMAI, K.; CLEMAN, D. F.; YANAGISAWA, T. Increase in atmospheric partial pressures of carbon dioxide and growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Crop Science**, Navi Mumbai, v. 54, p. 413-418, 1985.

INTERGUBERNAMENTAL DE EXPERTOS SOBRE EL CAMBIO CLIMÁTICO. **Cambio climático 2007**. Ginebra: IPCC, 2007. 104 p. Informe de síntesis.

INDEX FUNGORUM (CABI, CBS, Landcare Research-NZ). 2008. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>>. Acesso em: 18 fev. 2011.

KOBAYASHI, T. et al. Effects of elevated atmospheric CO₂ concentration on the infection of rice blast and sheath blight. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 4, p. 425-431, 2006.

LESSIN, R. C.; GHINI R. Efeito do aumento da concentração de CO₂ atmosférico sobre o oídio e o crescimento de plantas de soja. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 34, n. 6, p. 385-392, 2009.

LIMA, W. de P. **Impacto ambiental do eucalipto**. 2. ed. São Paulo: EdUSP, 1996. 307 p.

MACHADO, M. A. de M.; MARENCO, J. A. Mudanças climáticas globais e seus efeitos sobre a agricultura brasileira. **News Letter GOF-UK-CPTEC**, São José dos Campos, v. 1, n. 2, p. 4-6, mar. 2006.

MANNING, W. J.; TIEDEMANN, A. V. Climate change: potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO₂), ozone (O₃), and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. **Environmental Pollution**, Kidlington, v. 88, p. 219-245, 1995.

MARENCO, J. A. **Mudanças climáticas globais e seus efeitos sobre a biodiversidade**: caracterização do clima atual e definição das alterações climáticas para o território brasileiro ao longo do século XXI. Brasília, DF: MMA, 2006. 212 p.

MOTT, K. A. Do stomata respond to CO₂ concentration other than intercellular? **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 86, p. 200-203, 1988.

NORBY, R. J. et. al. Carbon allocation, root exudation and mycorrhizal of *pinus echinata* seedlings grown under CO₂ enrichment. **Tree Physiology**, Victoria, v. 3, p. 203-210, 1987.

NÚCLEO DE ASSUNTOS ESTRATÉGICOS DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA. **Negociações internacionais sobre a mudança do clima**: vulnerabilidade, impactos e adaptação à mudança do clima. Brasília, DF, 2005. V. 1. (Cadernos NAE, 3).

PELLEGRINO, G. Q.; ASSAD, E. D.; MARIN, F. R. Mudanças climáticas globais e a agricultura no Brasil. **Revista Multiciência**, Campinas, n. 8, p. 139-162, maio 2007.

TEVIOTDALE, B.; D. HARPER. Infection of pruning and small bark wounds in almond by *Ceratocystis fimbriata*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 75, p. 1026-1030, 1991.

SINCLAIR, W. A.; JOHNSON, W. T.; LYON, H. H. **Diseases of trees and shrubs**. Ithaca: Cornell University Press, 1987. 474 p.