

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 MANCHA FOLIAR CAUSADA POR
Cylindrocladium candelabrum EM MUDAS DE *Eucalyptus urophylla***

CARLOS EDUARDO OLIVEIRA DA SILVA

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

Junho – 2013

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 MANCHA FOLIAR CAUSADA POR
Cylindrocladium candelabrum EM MUDAS DE *Eucalyptus urophylla***

CARLOS EDUARDO OLIVEIRA DA SILVA

Orientadora: Dr^a. 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

Junho – 2013

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

S586e Silva, Carlos Eduardo Oliveira da, 1987-
Efeito do aumento da concentração de dióxido de carbono do ar sobre a mancha foliar causada por *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus urophylla* / Carlos Eduardo Oliveira da Silva. - Botucatu : [s.n.], 2013
vii, 51 f. : tabs., grafs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2013
Orientador: Raquel Ghini
Inclui bibliografia

1. Eucalipto - Doenças e pragas. 2. Dióxido de carbono atmosférico. 3. Mudanças climáticas. I. Ghini, Raquel. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

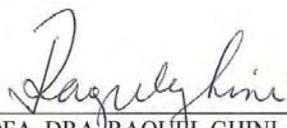
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "EFEITO DO AUMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO DO AR SOBRE A MANCHA FOLIAR CAUSADA POR *Cylindrocladium candelabrum* EM MUDAS DE *Eucalyptus urophylla*"

ALUNO: CARLOS EDUARDO OLIVEIRA DA SILVA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. RAQUEL GHINI

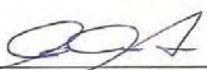
Aprovado pela Comissão Examinadora



PROFA. DRA. RAQUEL GHINI



PROFA. DRA. MAGALI RIBEIRO DA SILVA



PROF. DR. CELSO GARCIA AUER

Data da Realização: 11 de junho de 2013.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José Carlos da Silva e Maria Aparecida de Oliveira da Silva, pelo apoio, paciência e carinho.

À minha irmã, Jéssica Oliveira e Silva, pela ajuda, apoio e tranquilidade nos momentos críticos para a realização deste trabalho.

À Marcela de Cássia Ramos, por ficar ao meu lado nos momentos cruciais, pelo apoio e carinho ao longo desta jornada.

Dedico a todos aqueles que acreditaram no meu potencial para a realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus,

À UNESP/FCA, pela oportunidade de admissão no curso;

À Embrapa Meio Ambiente, por ceder os locais para a condução dos ensaios;

À CAPES pela concessão da bolsa de auxílio aos estudos;

À Dra. Raquel Ghini, pela orientação e confiança na realização deste sonho;

Ao professor/pesquisador Dr. Wagner Bettiol, pela ajuda, camaradagem e aprendizado nos ensaios;

Ao Dr. Ricardo Harakava, pela ajuda na identificação do microrganismo utilizado neste trabalho;

Ao viveiro de mudas “Flora Cantareira”, pela doação de mudas para a realização dos estudos;

Aos professores do Programa de Proteção de Plantas, pelo aprendizado nas disciplinas, especialmente aos professores Dr. Antônio Carlos Maringoni e a Dra. Silvia Renata Siciliano Wilcken, pela ajuda durante todo o curso;

Aos amigos Cassiano, Dalton, Daniel, Lúcio, Abrahão, Regiane e Michelle pela ajuda nos trabalhos e na companhia durante todos os momentos difíceis desta jornada;

Aos amigos da “República Domina & Cama”, pela ajuda, risadas e pelos bons momentos que me proferam enquanto estive em Botucatu e após minha estadia;

Aos amigos e colegas de trabalho, Zayame, Anamaria, Elke, Roseli e Márcia, por sanar todas as minhas dúvidas durante a condução dos ensaios e pelos bons momentos que passamos juntos;

A todos os meus orientadores e amigos de graduação, que acreditaram e que depositaram sua confiança na minha pessoa;

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

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABELAS	VII
1 RESUMO	1
2 SUMMARY	3
3 INTRODUÇÃO	5
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
4.1 Cenários futuros de emissões	8
4.2 Mudanças climáticas e doenças de plantas	9
4.3 Efeito das mudanças climáticas sobre o eucalipto	13
4.4 <i>Cylindrocladium</i> spp	15
4.5 Epidemiologia da mancha foliar	18
5. MATERIAL E MÉTODOS	20
5.1 Preparo de inóculo e inoculação de <i>Cylindrocladium candelabrum</i>	20
5.2 Ensaio com folhas destacadas de <i>Eucalyptus urophylla</i>	21
5.3 Ensaio com mudas de <i>Eucalyptus urophylla</i>	23
5.4 Reisolamento do patógeno	25
5.5 Análise estatística	26
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6.1 Ensaio com folhas destacadas de <i>Eucalyptus urophylla</i>	27
6.2 Ensaio com mudas de <i>Eucalyptus urophylla</i>	28
6.3 Reisolamento do patógeno	33
7 CONCLUSÕES	34
8 REFERÊNCIAS	35
APÊNDICE.....	42

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fragmentos de folhas de mamona (*Ricinus communis*) com disco de micélio de *Cylindrocladium candelabrum* acondicionadas em bandeja plástica com espuma umedecida.....21
- Figura 2. Bandejas plásticas contendo folhas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* e mantidas em sala climatizada.....23
- Figura 3. Caixa plástica contendo mudas de *Eucalyptus urophylla* acondicionadas em sala climatizada.....24
- Figura 4. Escala diagramática (porcentagem de área foliar lesionada) para avaliação da mancha foliar do eucalipto causada por *Cylindrocladium* spp.....25
- Figura 5. Progresso da severidade da mancha foliar causada por *Cylindrocladium candelabrum* em folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla* mantidas em quatro concentrações diferentes de CO₂.....27
- Figura 6. Mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* e mantidas sob diferentes concentrações de CO₂ (μmol mol⁻¹) do ar.....30
- Figura 7. Raízes de mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* e mantidas sob diferentes concentrações de CO₂ do ar.....32
- Figura 8. Característica da colônia em meio BDA (A) e de conídios de *Cylindrocladium candelabrum* reisolados nos experimentos.....33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha foliar e produção de conídios de *Cylindrocladium candelabrum* em folhas destacadas e *Eucalyptus urophylla* mantidas sobre diferentes concentrações de CO₂.....28

Tabela 2. Áreas abaixo da curva do progresso da incidência (AACPI) de folhas lesionadas, do progresso da severidade (AACPS) da mancha foliar e da incidência de folhas contendo conídios de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus urophylla* mantidas sobre diferentes concentrações de CO₂ do ar.....29

Tabela 3. Altura, diâmetro, peso da massa seca da parte aérea e raiz de mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* e mantidas sobre diferentes concentrações de CO₂.....31

1 RESUMO

A concentração de CO₂ na atmosfera vem aumentando significativamente desde a Revolução Industrial. Devido aos potenciais impactos da elevação do CO₂ do ar sobre os diversos patossistemas, foram realizados ensaios em ambiente controlado para verificar os efeitos da elevação da concentração de CO₂ do ar sobre *Cylindrocladium candelabrum* em folhas destacadas e mudas de *Eucalyptus urophylla*. Em três ensaios, folhas destacadas foram acondicionadas em bandejas plásticas com espuma umedecida, com concentração de 607 ± 86, 705 ± 105, 855 ± 152 e 1101 ± 305 μmol mol⁻¹ de CO₂ do ar, pulverizadas com conídios do patógeno (2 × 10⁵ conídios mL⁻¹) e mantidas a 28 ± 1,7 °C e fotoperíodo de 12 h por 21 dias. Foram avaliadas a severidade da mancha foliar e a esporulação do patógeno. Em dois ensaios com mudas de eucalipto, as mudas foram cultivadas em tubetes, mantidas em caixas plásticas contendo vermiculita no fundo e mantidas nas concentrações de 451 ± 35 (controle), 645 ± 118, 904 ± 116, 1147 ± 216 μmol mol⁻¹ de CO₂ por 30 dias para aclimação. Após este período, as mudas foram pulverizadas com conídios do patógeno e mantidas sob as mesmas condições anteriores por seis dias. Foram avaliadas a incidência de folhas lesionadas, a severidade da mancha foliar e o número de folhas contendo esporos do patógeno. A altura das mudas, o diâmetro do caule e o peso da matéria seca da parte aérea e da raiz também foram avaliados. Nos ensaios com folhas destacadas, o aumento da concentração de CO₂ do ar não teve efeito sobre a severidade da mancha foliar e esporulação do patógeno. Nas mudas, a elevação da concentração de CO₂ do ar diminuiu a incidência de folhas lesionadas, a severidade da doença e o número de folhas contendo

esporos do patógeno quando comparados ao controle. Nas variáveis de crescimento da planta, o aumento da concentração de CO₂ resultou no aumento da altura das mudas, porém não houve efeito sobre o diâmetro do caule. Houve acréscimo na massa seca da parte aérea nos tratamentos que receberam injeção de CO₂. O peso da matéria seca da raiz foi maior no tratamento com 1147 ± 2 16 μmol mol⁻¹ de CO₂. De modo geral, os tratamentos com injeção de CO₂ não diferiram estatisticamente entre si. Os resultados obtidos demonstram que o aumento da concentração de CO₂ teve efeito sobre o crescimento das mudas e reduziu a incidência e a severidade da doença.

Palavras-chave: Eucalipto, doenças e pragas, dióxido de carbono atmosférico, mudanças climáticas.

EFFECT OF INCREASED CONCENTRATION OF CARBON DIOXIDE OF THE AIR IN LEAF SPOT (*Cylindrocladium candelabrum*) OF *Eucalyptus urophylla* UNDER CONTROLLED ENVIRONMENT CONDITIONS.

Dissertation (Master's Degree in Agronomy/Plants Protection) - Agronomic Science College, Universidade Estadual Paulista.

Author: CARLOS EDUARDO OLIVEIRA DA SILVA

Adviser: Prof. Dr^a. Raquel Ghini

2 SUMMARY

The concentration of CO₂ in the atmosphere has been increasing significantly since the Industrial Revolution. Because of the potential impacts of the increase in CO₂ from the air on the various pathosystems, assays were carried out in a controlled environment to check the effects of elevation of the concentration of CO₂ from the air on *Cylindrocladium candelabrum* in detached leaves and seedlings of *Eucalyptus urophylla*. In three trials, detached leaves were wrapped in plastic trays with foam moistened with concentration of 607 ± 86 , 705 ± 105 , 855 ± 152 and 1101 ± 305 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ CO₂ from the air, sprayed with conidia of the pathogen (2×10^5 conidia ml⁻¹) and maintained at 28 ± 1.7 °C and photoperiod of 12 h for 21 days. It was evaluated the severity of leaf spot and the sporulation of the pathogen. In both experiments with seedlings of eucalyptus, the seedlings were grown in plastic tubes, kept in plastic boxes containing vermiculite at the bottom and kept in concentrations of 451 ± 35 (control), 645 ± 118 , 904 ± 116 , 1147 ± 216

$\mu\text{mol mol}^{-1}$ CO_2 per 30 days for acclimatization. After this period, the seedlings were sprayed with conidia of the pathogen and kept on the same conditions for six days. It was evaluated the incidence of lesioned leaves, leaf spot severity and the number of leaves containing spores of the pathogen. The height of the seedlings, the diameter of the stem and the weight of the dry matter of the aerial part and root were also evaluated. In the tests with detached leaves, the increase of CO_2 concentration had no effect on the severity of leaf spot and sporulation of the pathogen. In seedlings, the elevation of CO_2 concentration decreased the incidence of leaves lesioned, the severity of the disease and the number of leaves containing spores of the pathogen when compared to the control. In the variables of plant growth, the increase in the concentration of CO_2 has resulted in an increase of the height of the seedlings, but there was no effect on the diameter of the stem. There was an increase in the weight of the dry matter of the aerial part in the treatments that received injection of CO_2 . The weight of the dry matter of the root was greater in the treatment with $1147 \pm 216 \mu\text{mol mol}^{-1}$ CO_2 . In general, the treatments with injection of CO_2 did not differ statistically among themselves. The results obtained demonstrate that the increase in the concentration of CO_2 had no effect on the growth of seedlings and reduced the incidence and severity of the disease.

Keywords: Eucalypt, pests and diseases, atmospheric carbon dioxide, climate change.

3 INTRODUÇÃO

A concentração de dióxido de carbono (CO_2) registrada na atmosfera terrestre vem aumentando gradativamente, sendo que se tornaram mais intensos no período entre 1958 e 2003, com valores subindo de $315,7 \mu\text{mol mol}^{-1}$ em 1958 para $376,1 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 em 2003 (PRITCHARD e AMTHOR, 2005). Segundo a Organização Meteorológica Mundial, a concentração de CO_2 no ano de 2011 apresentou a média recorde de $391 \mu\text{mol mol}^{-1}$, aproximadamente 140 % maior do que a média apresentada no período pré-industrial (WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION, 2013).

Anualmente, a atmosfera do planeta recebe em média 117,9 gigatoneladas (Gt) de CO_2 , provenientes de diversas atividades, tais como a respiração das plantas, mudanças no uso do solo e da queima de combustíveis fósseis. Deste total, são retirados 111,0 Gt por meio da fotossíntese e da absorção pelos oceanos. Porém, existe um excedente de aproximadamente 2,0 Gt, que inevitavelmente permanecem na atmosfera (BUCKERIDGE, 2008). Essa quantidade remanescente de dióxido de carbono potencializa o efeito estufa natural, elevando a temperatura média global, ocasionando o fenômeno das mudanças climáticas. Alterações no regime de chuvas, na intensidade dos ventos, alterações no nível do mar, entre outras, podem potencializar os danos nos diversos sistemas que regem a vida no planeta (IPCC, 2007).

Segundo Williamson et al. (2009), as mudanças no clima podem afetar potencialmente inúmeros processos naturais, tanto positivamente quanto

negativamente. Como exemplo, o aumento nas concentrações de CO₂ pode induzir um aumento na taxa de crescimento e um melhor aproveitamento da água pelas árvores. Entretanto, o aumento da concentração de CO₂ poderá diminuir a eficiência da fertilização com carbono ao longo do tempo sobre as árvores mais velhas (BOIVESNUE e RUNNING, 2006). Não apenas as árvores cultivadas, mas também as florestas naturais sofrerão alterações. Florestas tropicais montanhosas são um dos ecossistemas mais sensíveis às alterações climáticas, sendo que este ecossistema pode ser utilizado como indicativo dos potenciais efeitos das mudanças climáticas (BOEHMER, 2011). Alterações no clima de algumas regiões poderão causar o declínio de florestas nativas, sendo que a elevação da temperatura e eventos de chuvas extremas são os mais importantes fatores de indução na morte das plantas (ROGERS e DAHLMAN, 1993).

O aumento na concentração dos gases do efeito estufa pode interferir na capacidade de infecção, na agressividade e na incidência de algumas doenças (CHAKRABORTY e DATTA, 2003). Porém, estes resultados podem diferir muito quando se leva em conta o patógeno, o hospedeiro, o local do ensaio, a metodologia utilizada e as condições ambientais locais. No caso do Brasil, os resultados podem ser os mais diversos, por ser um país de dimensões continentais e apresentar diversos climas (KARNOSKY et al., 2002; McELRONE, et al., 2010; PUGLIESE, 2010).

Tais mudanças do clima podem causar modificações no ciclo de inúmeros fitopatógenos. Ghini (2005) descreveu que a distribuição geográfica de patógenos é governada pela faixa de temperatura que um determinado fitopatógeno pode crescer e causar danos. Além desses microrganismos, tais modificações podem levar a mudanças nos locais de cultivo e resultar em impactos em outros organismos do agroecossistema, devido às alterações na temperatura e/ou no regime de precipitações. Entretanto, os estudos com os impactos das mudanças climáticas sobre patógenos que atacam as principais culturas nos países tropicais são escassos. Experimentos envolvendo as mudanças climáticas são abundantes nos países do Hemisfério Norte e devido a isso, os dados não refletem a real situação dos países tropicais, como o Brasil (AGRIOS, 2004; GHINI e HAMADA, 2008; GHINI, BETTIOL e HAMADA, 2011).

Perante estas comprovações, torna-se necessário um estudo mais aprofundado do comportamento dos fitopatógenos em um cenário de aumento de CO₂ atmosférico, principalmente os que atacam as principais culturas no mundo. Entre todas estas, destaca-se *Cylindrocladium candelabrum*, um importante patógeno do eucalipto que,

devido ao aumento significativo do seu cultivo no Brasil, vem se tornando um problema para a atividade da silvicultura. Os resultados obtidos poderão ser utilizados como base para selecionar a cultura do eucalipto, focando um cenário futuro de mudanças climáticas.

O objetivo do trabalho foi verificar os efeitos da elevação da concentração de CO₂ do ar sobre a incidência, severidade e esporulação de *Cylindrocladium candelabrum* em folhas destacadas e mudas de *Eucalyptus urophylla*, além de variáveis de crescimento das plantas.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Cenários futuros de emissões

Segundo o Relatório Especial de Cenários de Emissão do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, 2007), os cenários foram criados para que se tentasse prever os impactos das mudanças climáticas no futuro, para que medidas mitigatórias fossem adotadas previamente, a fim de evitar maiores danos nos diversos sistemas globais. Os cenários descritos no relatório são agrupados em quatro grupos, sendo que cada grupo, apresenta características únicas, como consciência ambiental da sociedade, emissão de gases pelos países, nível tecnológico, entre outros. Os grupos descritos são denominados de A1, A2, B1, B2.

Os cenários incluídos no grupo A1 são caracterizados pela simulação de crescimento econômico mundial acelerado, população global atingindo o pico em meados do século e sofrendo um declínio no final do período. O cenário também é caracterizado pela introdução e desenvolvimento de novas tecnologias mais eficientes.

O grupo A2 é composto por cenários que simulam um crescimento econômico mais lento e estritamente regional. A população mundial neste cenário apresenta um crescimento contínuo. Estes cenários são considerados os mais pessimistas em relação aos demais.

O grupo B1 descreve um mundo com a mesma população do cenário A1, porém, com rápidas mudanças econômicas, culminando na introdução de tecnologias mais limpas e eficientes. A economia nesse cenário é mais direcionada para o

setor de serviços e informações, sendo que ocorre uma redução no uso de recursos materiais nos processos. É considerado o cenário mais otimista, quando comparado aos demais.

Cenários pertencentes ao grupo B2 descreve um mundo onde é dado mais importância para o desenvolvimento sustentável da economia, da sociedade e do ambiente, porém, estas soluções são regionais. De um modo geral, o cenário descreve uma economia de crescimento intermediário e um crescimento populacional global cada vez maior.

Segundo o mesmo relatório, as projeções para as concentrações de CO₂ atmosférico em 2100 para os cenários mais pessimistas ficarão em aproximadamente 850 $\mu\text{mol mol}^{-1}$. Para os cenários mais otimistas, a concentração média de dióxido de carbono na atmosfera ficará em torno de 550 $\mu\text{mol mol}^{-1}$.

4.2 Mudanças climáticas e doenças de plantas

As mudanças no clima vêm se acentuando desde a Revolução Industrial, onde houve uma drástica mudança nos processos de fabricação e na intensidade do uso dos recursos naturais (SAMPAIO, MARENGO e NOBRE, 2008). Em 2007, pesquisadores do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC), elaboraram um relatório onde afirmavam que as mudanças climáticas eram resultado da ação antrópica (IPCC, 2007). Entretanto, os danos ocasionados por tais mudanças começaram a se agravar no século XX, sendo que eventos extremos começaram a ser relatados com maior frequência.

Em uma publicação organizada por Brauch et al. (2011), os autores relatam que as alterações climáticas estão causando danos não apenas nos sistemas antrópicos (economia, industrial, lazer, entre outros), mas também nos ecossistemas naturais. A ocorrência de chuvas intensas combinadas ou não com outros fatores, estão acarretando na morte e declínio de florestas tropicais montanhosas. Segundo Boehmer (2011), estas florestas são muito sensíveis às mudanças no ambiente, pois quando comparadas com as florestas tropicais de zonas baixas, apresentam menos nutrientes disponíveis e o fluxo de nutrientes neste tipo de ecossistema também é relativamente menor, o que as predispõe aos efeitos danosos externos. Desta forma, este ecossistema

pode ser utilizado como forma de avaliar os efeitos do clima sobre os ecossistemas naturais.

Segundo Williamson et al. (2009), as mudanças no clima podem afetar de forma negativa, positiva ou não afetar processos naturais que governam a manutenção da vida no planeta. Estas alterações podem levar a um aumento na taxa de crescimento vegetal e um melhor aproveitamento da água pelas árvores, bem como alterar as repostas das plantas quando se emprega fertilização na agricultura (ROGERS e DAHLMAN, 1993; BOIVESNUE e RUNNING, 2006). Não apenas quanto à água e nutrientes, mas alterações nos gases que compõem a atmosfera provocadas nos últimos anos podem levar a mudanças no ciclo de inúmeros microrganismos fitopatogênicos.

Dentre todas as causas das mudanças climáticas, destaca-se a elevação de dióxido de carbono (CO₂) do ar como um dos principais indutores de alterações no clima, bem como de alterações no ciclo de inúmeros fitopatógenos.

Em uma revisão pioneira de literatura realizada por Manning e Tiedmann (1995), os autores relatam que as alterações causadas na severidade das doenças de plantas podem variar dependendo do tipo de patógeno envolvido (necrotrófico ou biotrófico) e do hospedeiro. Com isso, não é possível generalizar os efeitos das alterações climáticas para todos os patossistemas existentes, sendo que cada um necessita ser estudado individualmente para se verificar possíveis alterações no regime de doenças. Luck et al (2011), em uma revisão sobre os efeitos de altas concentrações de dióxido de carbono da atmosfera sobre patógenos, concluíram que as respostas dependem do patossistema analisado. Um exemplo é o caso de *Fusarium pseudograminearum*, que pode ter sua taxa de crescimento aumentada, caso as concentrações deste gás não sejam limitadas por medidas mitigatórias nos próximos anos. O aumento das concentrações de CO₂ na atmosfera pode alterar a distribuição, o desempenho e a abundância não apenas dos patógenos, mas também de pragas de um modo geral (CHAKRABORTY et al., 2008). Sturrock et al. (2011) relatam que inúmeras doenças florestais são fortemente influenciadas pelo clima, e as mudanças climáticas podem interferir fortemente na relação patógeno-hospedeiro, podendo acarretar em mudança na severidade da doença. Os mesmos autores descrevem ainda que as mudanças climáticas podem afetar a suscetibilidade das árvores a um determinado patógeno. Tais alterações podem ainda alterar a distribuição geográfica dos patógenos.

Não apenas as alterações nas variáveis físicas do clima, como a temperatura e a umidade, mas também a alteração da composição da atmosfera influencia a interação patógeno-hospedeiro. Karnosky et al. (2002) realizaram um trabalho de campo em experimento do tipo FACE (“Free Air Carbon Dioxide Enrichment”) onde plantas de álamo (*Populus tremuloides*) foram mantidas em elevadas concentrações de CO₂ e ozônio (O₃). Observaram que árvores mantidas em altas concentrações de ozônio eram severamente atacadas pela ferrugem do álamo (*Melampsora medusae*) quando comparadas com a testemunha. Entretanto, quando as plantas foram mantidas sobre altas concentrações de CO₂ e O₃, os danos causados pelo patógeno foram menores do que os observados no tratamento apenas com O₃. Segundo os autores, o efeito danoso do ozônio foi contrabalanceado pela alta concentração de CO₂, o que possibilitou a recuperação das plantas.

Coakley, Sherm e Chakraborty (1999) em revisão de literatura, descrevem que a elevação da concentração de CO₂ atmosférico, combinada com o aumento da umidade do ar e da parte aérea das plantas, poderá promover um aumento na ocorrência de doenças foliares, como ferrugens, oídios, míldios, manchas foliares e pragas. Partindo deste pressuposto, Chakraborty e Datta (2002) avaliaram os efeitos do aumento da concentração de CO₂ atmosférico sobre a mancha foliar de *Colletotrichum gloeosporioides* em duas cultivares de *Stylosanthes scabra* (suscetível e resistente) após 25 ciclos sequenciais de infecção em ambiente controlado. Os autores concluíram que a longa exposição do patossistema ao ambiente com alta concentração de CO₂ induziu um incremento da severidade do patógeno em ambas as cultivares. Houve também um aumento na fecundidade do patógeno nas duas cultivares. Os autores concluíram que o aumento na agressividade e na fecundidade do patógeno poderá alterar a velocidade de evolução do patógeno nos cenários climáticos futuros. Eastburn et al. (2010), conduzindo ensaios de campo em FACE, estudaram os efeitos da elevação do CO₂ e do O₃ sobre o míldio (*Peronospora manshurica*) e a mancha foliar de septoria (*Septoria glycines*) em soja. Os autores concluíram que nos tratamentos com enriquecimento de CO₂ combinados ou não com o incremento de O₃ houve um decréscimo de aproximadamente 66% na severidade de *Peronospora manshurica*. Entretanto, nas mesmas condições, houve um aumento na severidade de *Septoria glycines*.

De forma geral, patógenos de parte aérea são mais sensíveis as alterações no clima e na composição da atmosfera. Entretanto, patógenos de solo também

podem ser afetados por diferentes concentrações de CO₂ do ambiente. Tabak e Cooke (1968) afirmam que patógenos do solo são mais tolerantes as altas concentrações de CO₂. Isto se deve ao fato de que, estes patógenos terem como habitat um local com altas concentrações de dióxido de carbono, sendo que estas concentrações podem diferir dependendo da matéria orgânica presente no solo. Griffin e Nair (1968), realizando trabalhos com *Sclerotium rolfsii* sobre diferentes concentrações de CO₂, observaram que quando o patógeno era mantido em concentração ambiente de dióxido de carbono, houve uma redução no crescimento micelial do fungo.

Não apenas os patógenos, mas também as colheitas serão afetadas pelas mudanças climáticas. As perdas nas colheitas ao redor do mundo serão determinadas por um grande número de fatores que podem ser resultados de efeitos diretos ou indiretos sobre a planta ou sobre o patógeno. Segundo Hibberd et al. (1996), algumas doenças podem causar uma severa redução do crescimento da planta quando mantidos em um ambiente com duas vezes mais CO₂ que a concentração ambiente. Um exemplo clássico é o do oídio pulverulento da cevada (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) que, quando atacou plantas de cevada mantidas em ambiente com altas concentrações de CO₂, induziu a uma severa redução no crescimento das plantas, quando comparadas a plantas expostas a condições ambiente. Os mesmos autores relatam que a matéria orgânica originada de plantas que se desenvolveram em ambiente com elevado teor de dióxido de carbono do ar se decompõem de forma mais lenta. A lenta decomposição e as altas temperaturas no inverno podem promover um aumento na taxa de sobrevivência de patógenos, originando assim inóculo para o próximo plantio.

Mesmo diante de toda a problemática dos efeitos da elevação da concentração de CO₂ atmosférico, os avanços tecnológicos na área agrícola devem ser levados em consideração quando se avalia os efeitos das mudanças climáticas sobre os sistemas agrícolas. Segundo Chakraborty, Tiedmann e Teng (2000), a aparente plasticidade dos diversos sistemas agrícolas pode ajudar a minimizar os efeitos deletérios das mudanças climáticas sobre a produção mundial de alimentos. O uso de cultivares mais adaptadas as novas condições pode ajudar ainda mais a adaptação aos efeitos negativos de tais alterações no clima. Porém, apesar dos avanços significativos no setor agrícola, doenças de plantas ainda são uma das maiores causas de perdas nos sistemas de cultivo no clima atual. Ainda, segundo os mesmos autores, as alterações nos regimes de chuvas, temperatura e composição dos gases atmosféricos poderão causar alterações drásticas nos complexos

sistemas tecnológicos e socioeconômicos que estão diretamente ligados à atividade agrícola, o que poderá causar alterações nas doenças de plantas. Frente a isso, ocorrerão mudanças nas perdas de safra, mudanças no manejo de doenças e na sua eficácia e alterações na distribuição espacial de doenças.

4.3 Efeito das mudanças climáticas sobre o eucalipto

Segundo o Anuário Estatístico da Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF), no ano de 2011, as áreas cultivadas com eucalipto no Brasil foram de 4.873.952 ha (ABRAF, 2012). Economicamente, a silvicultura no país é responsável pelo emprego de 5% da população economicamente ativa.

Juntamente com as alterações nos patógenos que acometem as essências florestais, Idso e Idso (1994) em revisão de literatura relatam que a resposta das plantas ao ambiente está intimamente ligada à concentração de CO₂, ao tempo que as plantas ficaram expostas ao ambiente enriquecido com o gás e à espécie envolvida no estudo. Mielke et al. (2000), em um experimento para estudar como os fatores ambientais e fisiológicos influenciam as trocas gasosas em folhas de clones de *E. grandis*, verificaram que os níveis de água na folha, no solo e a concentração de CO₂ do ar são alguns dos fatores mais importantes que controlam a taxa de fotossíntese das folhas. Os mesmos autores relatam ainda que, ocorrendo aumento de água no solo, ocorrem alterações na taxa fotossintética e na condutância estomática. Partindo desta conclusão, Lima et al. (2003) avaliaram como a condutância estomática de mudas de cinco espécies de eucalipto de aproximadamente dois meses de idade se comportaria quando as plantas se mantivessem expostas a aproximadamente 350 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e 700 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂ do ar e submetidas a estresse hídrico. Segundo os autores, o estresse hídrico diminui a condutância estomática, a fotossíntese e a taxa de respiração em todas as espécies estudadas. O efeito do estresse hídrico no fechamento dos estômatos foi similar em ambas as concentrações de CO₂, mesmo que os efeitos benéficos do aumento deste gás sobre a fotossíntese e a eficiência do uso da água se mantivessem por um período relativamente mais longo.

Outro ponto importante que se deve levar em conta é o tipo de processo relacionado à fotossíntese. O eucalipto, por ser uma planta de via fotossintética

do tipo C3, poderá ser beneficiado pela elevação de CO₂ atmosférico. Segundo revisão de literatura feito por Ghini et al. (2012), poderá ocorrer um incremento na produtividade em plantas com via fotossintética C3 de aproximadamente 20% num cenário futuro de emissões. Entretanto, estes valores não podem ser generalizados, pois as plantas cultivadas apresentam diversos fatores limitantes ao seu crescimento e rendimento, como pragas e doenças.

Estudos para verificar as alterações na produção de metabólitos secundários pelas plantas em ambientes com enriquecimento de CO₂ do ar também são de suma importância para compreender com as plantas se comportam às alterações na composição da atmosfera. Mckiernan et al. (2012) realizaram um estudo para verificar as alterações que a elevação de CO₂ do ar causaria na produção destes metabólitos em *E. globulus* e em *E. pauciflora*. Os autores concluíram que o enriquecimento da atmosfera com CO₂ induziu diferenças na produção de metabólitos secundários, fenóis totais e taninos condensados apenas em algumas populações isoladas de ambas as espécies. Os mesmos autores descrevem ainda que não houve diferenças na produção de tais metabólitos quando se comparou todas as populações de ambas as espécies entre si.

Não apenas o metabolismo, mas a estrutura externa do hospedeiro pode sofrer alterações induzidas pelo aumento do carbono atmosférico. Gleadow et al. (1998) realizaram um ensaio onde mudas de *E. cladocalyx* foram mantidas por longo período sobre 804 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂. Os autores observaram que houve um aumento na massa seca da raiz quando comparadas à testemunha, demonstrando desta forma os efeitos do aumento do CO₂ do ar na planta. Entretanto, Novriyanti et al. (2012) realizando estudos com *E. urophylla* mantidos sobre 760 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂ e tratados com diferentes quantidades de adubação nitrogenada, relatam que o aumento no crescimento das plantas esteve mais relacionado com a adubação nitrogenada do que com o ambiente enriquecido com CO₂. Os mesmos autores ainda relatam que os efeitos do aumento dos níveis de carbono do ar foram insignificantes quando se levou em conta a concentração total de fenóis e de taninos condensados.

Outras alterações advindas da elevação do CO₂ atmosférico são descritas na literatura. O aumento da temperatura e alterações na pluviosidade está intimamente ligado à alteração no nível de carbono atmosférico, o que poderá alterar distribuição de alguns patógenos florestais, como *Cylindrocladium* spp. Partindo desta premissa, Booth et al. (2000), em trabalho de mapeamento para identificar áreas de alto

risco de epidemias de *C. quinqueseptatum* em eucalipto, demonstram que o aumento das precipitações anuais e da temperatura média anual em 1 °C poderá tornar áreas cultivadas com eucalipto no norte do Brasil altamente suscetível ao ataque do patógeno em questão.

4.4 *Cylindrocladium* spp.

O gênero *Cylindrocladium* pertence à família Nectriaceae, ordem Hypocreales, classe Pyrenomycetes, divisão Ascomycota. *Cylindrocladium candelabrum* Viégas é a forma imperfeita do ascomiceto *Calonectria scoparia* Crous, Alfenas e M. J. Wingf Hypocreales: Hypocreaceae (CROUS et al., 1999). Nesta fase, o fungo apresenta peritécios superficiais, isolados ou agrupados, globosos a subglobosos, de coloração castanha avermelhada a vermelho e ostíolo papilado. O asco é hialino, clavado, cônico e com uma comprida haste estreita com oito ascósporos. Os ascósporos também são hialinos, retos a falciforme com um septo, restrito ao centro do ascósporo (INDEX FUNGORUM, 2008). As espécies do gênero *Cylindrocladium* são cosmopolitas e amplamente distribuídas no mundo. Os conídios podem se apresentar na forma cilíndrica, com ambas as extremidades arredondadas e podendo conter de um a três septos. Existem relatos na literatura que, para uma mesma espécie, existe uma grande variabilidade na morfologia da vesícula terminal e nas características dos conídios (APARECIDO et al., 2008).

Espécies de *Cylindrocladium* geram microescleródios em grande quantidade em meio de cultura, apresentando uma coloração marrom bem visível no verso das placas. Os microescleródios das espécies do gênero sobrevivem por até cento e cinquenta dias no solo sobre temperatura de 25 °C, independente do teor de umidade do local (ALMEIDA e BOLKAN, 1981). Segundo Crous et al. (1993) e Ferreira (1989), o fungo inicia o seu crescimento em temperaturas acima de 5 °C e, em temperaturas acima de 35 °C, seu crescimento é reduzido e/ou inibido. Cresce relativamente bem sobre diferentes valores de pH. A temperatura considerada ótima para seu desenvolvimento é de 25 °C a 30 °C em umidade relativa alta. As colônias de *Cylindrocladium* spp. crescem facilmente em meio BDA (batata-dextrose-ágar), com temperatura ótima de crescimento micelial em torno de 28 °C para *C. candelabrum*. Apresenta elevada produção de conídios e pode conservar-se viável por mais de um ano. Como forma de propagação, o patógeno pode ser disseminado pelo vento através dos conídios ou se manter viável no solo através de

microescleródios (GALLI et al., 1980). Quando as condições ambientais se tornam favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, torna-se necessário o emprego de fungicidas, a fim de evitar que este cause danos significativos em viveiros (FERREIRA et al. 2006).

Espécies de fungos do gênero *Cylindrocladium* têm sido descritas como importantes parasitas de inúmeras espécies de eucalipto e *Pinus* induzindo a problemas consideráveis em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. No Brasil, a ocorrência de *Cylindrocladium* foi primeiramente relatada na década de trinta, sobre plantas de eucalipto provenientes do Horto Florestal da Cantareira (São Paulo, SP) (APARECIDO e FINATTI, 2012). Posteriormente, o patógeno foi também relatado no Vale do Rio Doce (Estado de Minas Gerais), costa do Espírito Santo, Bahia e demais estados nordestinos, na região Amazônica, Santa Catarina e Paraná. Durante cerca de vinte anos, desde sua primeira constatação, o gênero *Cylindrocladium* afetava de forma mais expressiva espécies florestais. Já em 1967, foi constatada *Calonectria quinqueseptata*, forma teleomórfica de *C. quinqueseptatum* afetando árvores de fruta do conde (*Annona squamosa*). Outras espécies vegetais, como *Cassia fasciculata*, amendoim (*Arachis hypogea*), cevada (*Hordeum vulgare*), aveia (*Avena sativa*), centeio (*Secale cereale*), trigo (*Triticum vulgare*) e soja (*Glycine max*) já foram reportadas como hospedeiras de diferentes espécies do gênero (APARECIDO e FINATTI, 2012). Recentemente, foi descrito *C. spathiphyllum* atacando plantas ornamentais, como o lírio da paz (*Spathiphyllum wallisii*) e heliconia (*Heliconia rostrata*). Árvores de acácia negra (*Acacia mearnsii*), espécie utilizada principalmente para a extração do tanino, foram descritas com sintomas de mancha foliar, causado por *Cylindrocladium candelabrum* (AUER e SOTTA, 1995).

Em um trabalho realizado por Rehn et al. (2004), foram obtidos doze isolados de *C. scoparium* e quatro de *C. clavatum* da região da rizosfera de *Annona crassiflora*, *Heliconia* sp., *Capsicum annum*, *Eucalyptus citriodora*, *Pinus* spp. e *Bixa orellana* através do método de isca com folha de mamona (*Ricinus comunis*). Após o isolamento e purificação das culturas, os isolados foram submetidos a um teste de patogenicidade em mudas de eucalipto, onde os isolados foram aplicados nas folhas e no hipocótilo das plântulas. Todos os isolados testados foram patogênicos ao hospedeiro em questão, induzindo a necrose do hipocótilo e das folhas. Os sintomas nas plântulas apresentaram variação na intensidade, quando os isolados foram comparados entre si.

Em 2008, ocorreu o primeiro relatado de ataque de *C. pauciramosum* e *C. scoparium* causando manchas foliares em plantas de aroeira (*Pistacia lentiscus*) na Itália sugerindo assim que ambas as espécies podem ocorrer de forma isolada ou combinada, para causar os sintomas (VITALE e POLIZZI, 2008). Lombard et al. (2009), em um trabalho em viveiros de *Pinus* para fins comerciais na Colômbia, descreveram duas espécies causando podridão de plântulas de *Pinus maximinoi* e *P. tecunumanii*. Os agentes etiológicos foram identificados como *C. gracile* e uma nova espécie denominada de *Calonectria brachiatica*. A diferenciação das espécies foi realizada através da análise morfológica e pelo sequenciamento do DNA de ambos os isolados. Espécies do gênero *Cylindrocladium* são frequentemente associadas com uma extensa gama de sintomas, incluindo mancha foliar, podridão, cancro, podridão das raízes e das vagens (CROUS, 2002). O fungo pode atacar estacas geralmente com dez centímetros de altura, causando lesões de caule e/ou manchas foliares. A doença é caracterizada por lesões necróticas escuras, muitas vezes profundas, iniciando na base da estaca e se propagando até as gemas, levando-as à morte. Este tipo de dano é conhecido como podridão-das-estacas-do-eucalipto.

Outro sintoma marcante desta doença é o tombamento, que pode prejudicar as mudas nas fases de germinação ou de plântulas, acometendo os tecidos tenros das radículas e do caulículo. O aparecimento de uma lesão na região do colo da plântula, de dimensões variáveis no caulículo é um sintoma característico que no início mostra-se de maneira encharcada provocando uma depressão na área e em seguida apresentando coloração escura, devido à necrose dos tecidos. O tombamento da plântula e a sua morte são ocasionadas pela destruição dos tecidos acometidos pelo patógeno (APARECIDO e FINNATI, 2012). A podridão de estacas para enraizamento é diferenciada por lesões escuras que anelam e tomam ascendentemente as estacas, desde aquelas não enraizadas até aquelas em que o sistema radicular já está estabelecido. Estas lesões podem se apresentar de forma contínua a partir da base cortada às quais se concentram na ligação estaca-substrato ou acontecem de maneira intercalada entre tecido sadio e doente, geralmente recobertas por uma esporulação de coloração branco e brilhante. A podridão de colo e das raízes provoca o amarelecimento de toda a copa. Nessa fase, a maior parte das raízes está afetada e logo em seguida ocorre à morte do hospedeiro (FERREIRA, 1989).

A mancha das folhas é uma doença bastante comum no campo, observada em plantas de qualquer idade. Porém, torna-se mais importante ao infectar

plantas que se encontram no estágio fenológico B, caracterizado pela não ocorrência da desrama natural das plantas. Os sintomas causados pela doença caracterizam-se por manchas de forma e coloração variáveis, dependendo de vários fatores como a espécie do hospedeiro, espécie de *Cylindrocladium* e também condições ambientais. Pode ocorrer intensa desfolha, sendo que os brotos não são atingidos, o que favorece a recuperação das plantas quando as condições ambientais já não favorecem a ocorrência do patógeno. A presença do patógeno pode também ser observada em ramos, na forma de lesões necróticas escuras recobertas por estruturas de coloração esbranquiçada (APARECIDO e FINNATI, 2012). *C. candelabrum*, *C. floridanum*, *C. ilicicola*, *C. ovatum*, *C. parasiticum*, *C. scoparium* foram as espécies descritas causando este tipo de sintoma em eucalipto (FERREIRA e MILANI, 2002).

4.5 Epidemiologia da mancha foliar

As espécies do gênero *Cylindrocladium* são parasitas facultativos com a habilidade de produzir microescleródios em meio de cultura artificial, no solo e sobre os seus hospedeiros, e sobrevivem às mais variadas condições ambientais. Apresentam vida saprofítica no solo, colonizando material vegetal em decomposição, onde se caracterizam por apresentarem hifas septadas com clamidósporos e microescleródios. Após a decomposição do tecido vegetal, e em condições ambientais favoráveis, ocorre o desenvolvimento de novas hifas. Essas novas hifas podem produzir, além de clamidósporos e microescleródios, conidióforos e conídios, geralmente na superfície do solo sobre alguma partícula vegetal. Caso alguma planta suscetível venha a ser inserida no local, poderá ocorrer infecção do colo da muda. As estruturas infectivas germinam e as hifas penetram diretamente no tecido do hospedeiro, sem a necessidade de ferimentos. Após a colonização do tecido, ocorre a formação de novas estruturas de resistência, concomitante a formação de estruturas reprodutivas na superfície do tecido (FERREIRA, 1989).

Ascósporos são dispersos efetivamente, quando na fase teleomórfica (*Calonectria*), por insetos, pois as estruturas reprodutivas e infectivas produzidas em substâncias mucilaginosas pelo fungo e liberadas pela abertura dos peritécios, se aderem a superfície do corpo do inseto. Conídios produzidos na fase

anafórmica (*Cylindrocladium*) são disseminados principalmente pelos respingos de chuva e pelo vento. De modo geral, as espécies de *Cylindrocladium* se desenvolvem em temperaturas entre 25 °C e 30 °C, sendo que *C. candelabrum* se desenvolve de forma ótima em temperatura 28 °C. Em regiões tropicais e subtropicais, o patógeno é mais importante, pois as condições de alta umidade e temperatura favorecem o seu desenvolvimento (FERREIRA, 1989; CROUS, 2002; APARECIDO e FINNATI, 2012).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Preparo de inóculo e inoculação de *Cylindrocladium candelabrum*

O isolado de *C. candelabrum* (região ITS: ACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCATGTGAACAT ACCTGTTTCGTTCCCTCGGCGGTGTCCGGCAACGGCCCGCCAGAGGACCCAAC AAACTCTTTTGAATTTTTCAGTATCTTCTGAGTAAAAACAAATAAATCAAAAC TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGC GATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC ATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCC TCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGGATCGGCAAGGCGGCCTCCGGGTCGCGCCGT CCCCCAAATATAGTGGCGGTCTCGCTGTAGCTTCCTCTGCGTAGTAATACACCT CGCTCTGGAGTCTCGGTGCGACCACGCCGTAACCCCAACTTTTTCTGGTTG ACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAG GAAA) utilizado nos experimentos pertence à “Coleção de culturas de microrganismos de importância agrícola e ambiental” da Embrapa Meio Ambiente (registro: CCMA-1191). A metodologia de inoculação do patógeno foi baseada em Ferreira (1989) e Alfenas e Mafia (2007) com modificações.

Antes do início dos ensaios, discos contendo micélio do patógeno foram colocados sobre pedaços de folhas jovens de mamona (*Ricinus communis*), que permaneceram dentro de bandejas plásticas (43 x 24 x 8 cm). Este procedimento tem por

finalidade, induzir a formação de conídios do patógeno. Cada bandeja continha uma espuma umedecida com água e eram mantidas tampadas com vidro transparente (Figura 1).



Figura 1. Fragmentos de folhas de mamona (*Ricinus communis*) com disco de micélio de *Cylindrocladium candelabrum* acondicionadas em bandeja plástica com espuma umedecida.

As bandejas contendo as folhas foram mantidas em sala climatizada a 28 °C e fotoperíodo de 12 h. Após sete dias, as folhas de mamona foram lavadas com água destilada esterilizada e filtradas com gaze esterilizada, a fim de recuperar os conídios formados na superfície foliar. Antes de proceder a inoculação, amostra da suspensão foi levada a microscópio ótico ($\times 100$ aumento) para confirmar apenas a presença de conídios do patógeno. A concentração de conídios da suspensão foi aferida em câmara de Neubauer e diluída para a concentração de 2×10^5 conídios mL⁻¹. Foi adicionado 0,5 mL⁻¹ de Tween 20 à suspensão de conídios. A inoculação do patógeno em todos os ensaios foi realizada por meio de pulverização da suspensão de conídios até o ponto de escorrimento nas folhas destacadas e nas mudas de *E. urophylla*.

5.2 Ensaio com folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla*

Folhas jovens totalmente expandidas, retiradas do quadrante superior de plantas de *E. urophylla*, mantidas em vasos em casa de vegetação, foram

coletadas, lavadas com água destilada esterilizada e acondicionadas em bandejas plásticas (43 x 24 x 8 cm) contendo espuma umedecida com água e cobertas com lâmina de vidro transparente. O ar no interior das caixas foi mantido nas concentrações de CO₂ de 607 ± 86 μmol mol⁻¹ (controle), 705 ± 105 μmol mol⁻¹, 855 ± 152 μmol mol⁻¹ e 1101 ± 305 μmol mol⁻¹. Para tanto, nenhuma, uma, duas ou três mangueiras para injeção de CO₂ foram fixadas na lateral das bandejas, respectivamente. Todas as bandejas também receberam aplicação constante de ar, por meio de tubos conectados a um compressor eletromagnético (Boyu[®] ACQ-007, p= 0,035 MPa, Q= 100 L min⁻¹). A aferição da concentração de CO₂ foi realizada com um analisador de gás por infravermelho (Vaisala CARBOCAP[®] Hand-Held Carbon Dioxide Meter GM70) em medições realizadas diariamente em todas as caixas. As bandejas contendo as folhas destacadas foram mantidas em sala climatizada por 24 dias a 28 ± 1,7 °C e fotoperíodo de 12 h (Figura 2).

A avaliação da severidade da mancha foliar foi realizada pela determinação da porcentagem de área foliar lesionada pelo patógeno até 21 dias após a inoculação (DAI). Para tanto, as folhas foram fotografadas e as imagens foram analisadas pelo programa ASSES 2.0 (APS Press[®], 2002-2008). Após 24 dias de inoculação, as folhas foram lavadas para a coleta dos conídios e posterior contagem em câmara de Neubauer, com a finalidade de determinar a produção de conídios. O delineamento experimental do ensaio foi o de blocos casualizados, com dez blocos, sendo que cada tratamento (concentração de CO₂ do ar) foi composto por quarenta folhas. O ensaio foi repetido por três vezes.



Figura 2. Bandejas plásticas contendo folhas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* e mantidas em sala climatizada.

5.3 Ensaio com mudas de *Eucalyptus urophylla*

Mudas seminais *E. urophylla* cultivadas em tubetes de 50 cm³ contendo substrato, com aproximadamente 45 dias de idade foram colocadas em caixas plásticas transparentes (34 x 24 x 32 cm) com o fundo coberto por vermiculita esterilizada (Figura 3). As plantas foram podadas a aproximadamente 10 cm de altura e mantidas nas diferentes concentrações de CO₂ durante 30 dias, para que novas folhas se desenvolvessem nas concentrações utilizadas no ensaio. Durante todo o ensaio, as mudas foram irrigadas diariamente com 15 mL⁻¹ de água sem adição de cloro. Não foi realizado nenhum tratamento com fertilizante, devido à ausência de sinais de deficiência mineral e pelo curto período dos ensaios.



Figura 3. Caixa plástica contendo mudas de *Eucalyptus urophylla* mantidas em sala climatizada.

As concentrações de CO₂ do ar utilizadas foram de $451 \pm 35 \mu\text{mol mol}^{-1}$ (controle), $645 \pm 118 \mu\text{mol mol}^{-1}$, $904 \pm 116 \mu\text{mol mol}^{-1}$, $1147 \pm 216 \mu\text{mol mol}^{-1}$. Os tratamentos com CO₂ foram monitorados diariamente, conforme descrito no item 5.2. A inoculação foi realizada por pulverização de conídios obtidos conforme descrito no item 5.1. Três dias após a inoculação, foi avaliada a severidade da doença, com auxílio de uma escala diagramática proposta por Carvalho et al. (2008) modificada (Figura 4). Maiores porcentagens de área foliar lesionada (55%, 70%, 85% e 99%) foram acrescentadas à escala diagramática, devido à elevada severidade de doença obtida. O número de folhas lesionadas por planta e o número de folhas contendo esporos do patógeno por planta também foram avaliados. As folhas contendo conídios do patógeno foram observadas em microscópio estereoscópico ($\times 40$ aumento) para a confirmação da presença de conidióforos.

Variáveis de crescimento da planta também foram avaliadas: diâmetro da haste na altura do colo, altura da muda, peso da matéria seca da parte aérea e da raiz. As avaliações foram realizadas a cada dois dias durante o período de sete dias após a inoculação. O delineamento adotado foi o de blocos casualizados, contendo cinco blocos, com quatro tratamentos (concentrações de CO₂ do ar), sendo a unidade experimental composta por dez plantas. O ensaio foi repetido duas vezes.

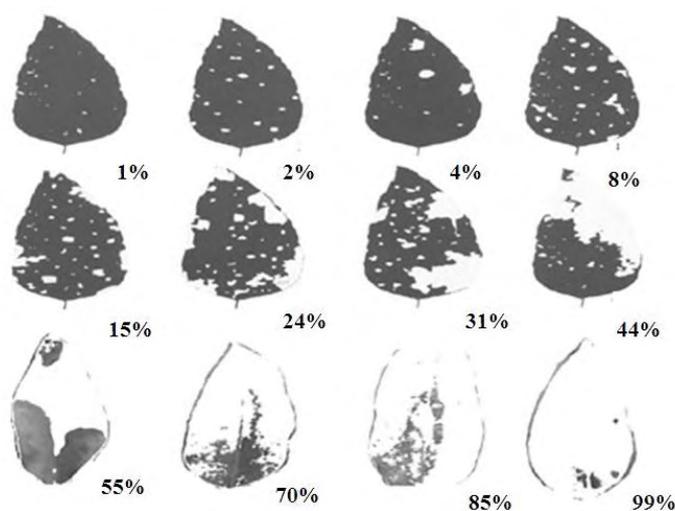


Figura 4. Escala diagramática (porcentagem de área foliar lesionada) para avaliação da mancha foliar do eucalipto causada por *Cylindrocladium* spp., adaptada de Carvalho et al. 2008.

5.4 Reisolamento do patógeno

Ao final dos ensaios com folhas destacadas e com mudas, foi realizado o reisolamento do patógeno a partir de folhas com sintomas da doença. Para tanto, fragmentos de folhas lesionadas foram inicialmente incubados em placas de Petri contendo meio de ágar-água (Acumedia[®], Lansing, Michigan), em câmara de crescimento a 28 °C e fotoperíodo de 12 h. Após dez dias de incubação, fragmentos do meio contendo crescimento micelial foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura de BDA (Acumedia[®], Lansing, Michigan), que foram mantidas sob as mesmas condições. Decorridos dez dias de incubação, foram feitas lâminas para a observação das características morfológicas das colônias obtidas e identificação do patógeno. Para tanto, fragmentos da colônia obtida em meio BDA foram observados ao microscópio ótico (× 100 aumento) e as características morfológicas das hifas, conidióforos e vesícula terminal foram comparadas com a chave de identificação proposta por Crous (2002) para *C. candelabrum*.

5.5 Análise estatística

Para a análise dos resultados, foi utilizado o pacote estatístico SAS e o software SigmaPlot. Variáveis de crescimento das plantas e da doença foram analisadas por análise de variância (ANOVA) e os tratamentos comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados obtidos nas repetições dos experimentos foram semelhantes, assim sendo, foi realizada a análise estatística conjunta dos resultados.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Ensaio com folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla*

Nos três ensaios realizados com folhas destacadas de *E. urophylla*, a severidade da mancha foliar, avaliada por meio da porcentagem de área foliar lesionada, não diferiu em todas as concentrações de CO₂ do ar estudadas (Figura 5).

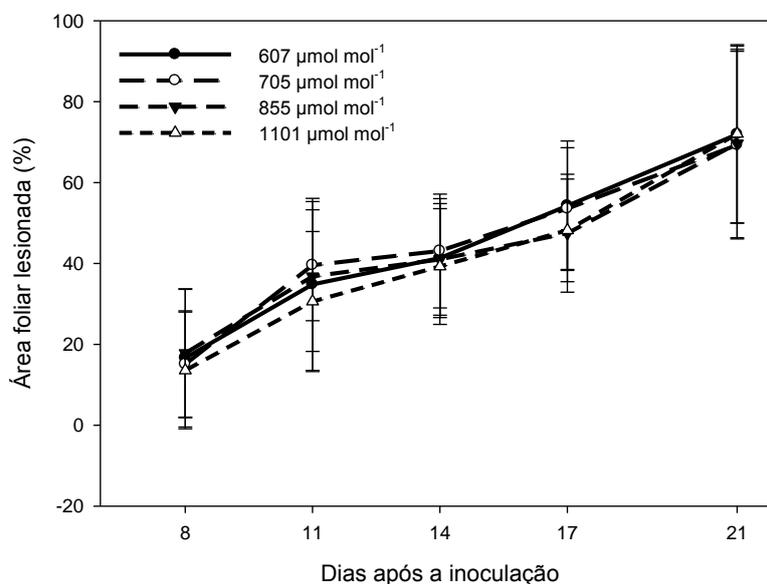


Figura 5. Progresso da severidade da mancha foliar causada por *Cyindrocladium candelabrum* em folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla* mantidas em quatro concentrações diferentes de CO₂ (média dos três ensaios).

Na avaliação da área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) também não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos. Na avaliação da esporulação do patógeno, as concentrações de CO₂ utilizadas não apresentaram diferença significativa no número de conídios produzido pelo patógeno nas folhas destacadas do hospedeiro (Tabela 1).

Tabela 1. Área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha foliar e produção de conídios de *Cylindrocladium candelabrum* em folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla* mantidas sobre diferentes concentrações de CO₂ (média de três ensaios).

Concentração de CO ₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	AACPS	Produção de conídios por folha (mL^{-1})
607 ± 86	587,1153 a	3,15 × 10 ⁵ a
705 ± 105	596,5009 a	2,90 × 10 ⁵ a
855 ± 152	568,0932 a	2,37 × 10 ⁵ a
1101 ± 305	542,5466 a	2,31 × 10 ⁵ a

*Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Manning e Tiedmann (1995) comentaram que para determinados patossistemas, a elevação da concentração de CO₂ do ar pode não revelar diferenças na severidade da doença. Segundo Chakraborty e Datta (2003), ensaios de longa duração são necessários para que sejam observados os efeitos do aumento da concentração de CO₂ do ar sobre a severidade das doenças.

6.2 Ensaio com mudas de *Eucalyptus urophylla*

Quando se avaliou a área abaixo da curva do progresso da incidência de folhas lesionadas (AACPI), os tratamentos com injeção de CO₂ apresentaram valores significativamente menores quando comparadas ao tratamento com 451±35 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ (controle).

A área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha foliar causada pelo patógeno foi menor nos tratamentos com injeção de CO₂, quando comparados ao controle.

Quando se comparou a área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPIC) de folhas contendo conídios do patógeno, novamente os tratamentos que sofreram aumento da concentração de CO₂ apresentaram um menor número de folhas com conídios de *C. candelabrum* quando comparadas ao controle. Os tratamentos onde ocorreu a injeção de CO₂ não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 2).

Tabela 2. Área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPI) de folhas lesionadas, do progresso da severidade (AACPS) da mancha foliar e da incidência de folhas contendo conídios (AACPIC) de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus urophylla* mantidas sobre diferentes concentrações de CO₂ do ar (média de dois ensaios).

Concentração de CO ₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	Área abaixo da curva do progresso		
	Incidência de folhas lesionadas (AACPI)	Severidade da doença (AACPS)	Incidência de folhas com conídios por tratamento (AACPIC)
451 \pm 35	324,352 a	200,224 a	90,094 a
645 \pm 118	201,392 b	78,947 b	59,465 b
904 \pm 116	227,176 b	93,453 b	52,342 b
1147 \pm 216	207,011 b	85,766 b	54,808 b

*Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em revisão de literatura feita por Luck et al. (2011), os autores concluíram que os efeitos da elevação da concentração de CO₂ atmosférico variam conforme a espécie do patógeno e do hospedeiro. Em outros estudos sobre o efeito da elevação de CO₂, também foi observada redução na severidade de fitopatógenos em altas concentrações de dióxido de carbono. Chakraborty e Datta (2003) verificaram que em ambiente controlado com elevada concentração de dióxido de carbono, houve redução na severidade de *Colletotrichum gloeosporioides* em duas cultivares de *Stylosanthes scabra* após vinte ciclos consecutivos do patógeno.

MacLeod (2012), em um estudo realizado com mudas clonais de híbridos de *E. urophylla* \times *E. camaldulensis* infectadas com *Puccinia psidii* e mantidas sobre diferentes concentrações de CO₂, observou que o aumento da concentração de CO₂ do ar diminuiu a área foliar lesionada e o número de pústulas do patógeno. Santos (2011), em estudo com híbridos de *E. urophylla* infectados por *Cerotocystis fimbriata* e mantidas

sob alta concentração de CO₂ do ar, observou que o aumento da concentração de CO₂ diminuiu a severidade da murcha causada pelo fungo e aumentou o período de incubação do patógeno.

A intensa severidade da mancha foliar causou desfolha das plantas cultivadas com $451 \pm 35 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂ (Figura 6). Este resultado é condizente com a descrição fornecida por Ferreira (1989), onde o autor relata que *C. candelabrum* pode causar altos índices de desfolha, quando a umidade relativa do ar se torna elevada, podendo ocorrer tanto no campo como em viveiros.



Figura 6. Mudanças de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cyindrocladium candelabrum* e mantidas sob diferentes concentrações de CO₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$) do ar ao final do sétimo dia após a inoculação no primeiro (A) e no segundo (B) ensaio.

Quanto ao crescimento das mudas, foi observado que houve aumento na altura das mudas nos tratamentos com injeção de CO₂ quando comparados com o tratamento controle ($451 \pm 35 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂); não houve diferença significativa no diâmetro do colo das mudas nas concentrações testadas; houve aumento do peso da massa seca da parte aérea nos tratamentos com injeção de CO₂, quando comparados com o tratamento controle ($451 \pm 35 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂). No caso do peso da

massa seca da raiz, apenas o tratamento com $1147 \pm 216 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 apresentou diferença significativa quando comparado com os demais tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Altura de plantas, diâmetro do colo, peso da massa seca da parte aérea e da raiz de mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* e mantidas sobre diferentes concentrações de CO_2 (média de dois ensaios).

Concentração de CO_2 ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	Altura (cm)	Diâmetro (mm)	Massa seca parte aérea (g)	Massa seca raiz (g)
451 ± 35	11,2 b	2,037 a	0,185 b	0,214 b
645 ± 118	12,7 a	2,105 a	0,249 a	0,190 b
904 ± 116	12,5 a	2,115 a	0,268 a	0,214 b
1147 ± 216	12,5 a	2,141 a	0,278 a	0,260 a

*Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% e probabilidade.

Segundo Idso e Idso (1994), para que os efeitos da elevação da concentração de CO_2 do ar sobre as plantas se tornem evidentes, é necessária a condução de experimentos com no mínimo 60 dias de duração. Ainda, os mesmo autores relatam que as respostas da planta ao enriquecimento do ar pelo dióxido de carbono, dependem do tempo que a planta foi exposta a tal alteração atmosférica.

Dessa forma, quando se avaliou o diâmetro do colo, os tratamentos não induziram mudanças significativas, devido ao curto tempo de exposição que o patossistema permaneceu sobre a influência dos tratamentos. O curto período de exposição das plantas aos diferentes tratamentos se deve ao fato de, o patógeno causar lesões nas folhas rapidamente e de induzir uma intensa desfolha.

Em relação à altura das plantas, os resultados obtidos neste estudo se assemelham com os encontrados por Driscoll et al. (2006). Os autores verificaram que plantas de milho (*Zea mays*) que foram mantidas em $700 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 , apresentaram maior altura quando foram comparadas com plantas mantidas sobre $350 \mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO_2 .

A massa seca da parte aérea e das raízes foi afetada pelo aumento da concentração de CO_2 do ar (Figura 7). Este resultado condiz com os encontrados por Gleadow, Foley e Woodrow (1998). Os autores observaram que mudas de *Eucalyptus cladocalyx* mantidas por longo período sob alta concentração de CO_2 ($804 \mu\text{mol mol}^{-1}$) e

nitrate de sódio apresentaram maior massa seca de raiz quando comparadas a testemunha ($400 \mu\text{mol mol}^{-1}$).



Figura 7. Raízes de mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* e mantidas sob diferentes concentrações de CO₂ do ar no primeiro (A) e no segundo (B) ensaio.

O aumento da altura das mudas e da massa seca da parte aérea foi também observado em estudos realizados por Santos (2011) e Mac Leod (2012), em mudas de híbridos de *E. urophylla* × *E. camaldulensis* mantidas sobre altas concentrações de CO₂ do ar por aproximadamente 60 dias em ambiente controlado. Souza et al. (2008) afirmam que a fotossíntese é estimulada em condições atmosféricas com altas concentrações de CO₂ do ar. A elevação deste gás induz a uma diminuição na condutância estomática, reduzindo a transpiração e melhorando o uso da água. Concomitante a estas alterações, o aumento da expressão de determinados genes que regulam a fotossíntese, crescimento e expansão celular em ambiente com alta concentração de CO₂, podem ter sido responsáveis pelo incremento da altura e da massa seca da parte aérea e da raiz nas mudas (SOUZA et al., 2008).

Com base nos resultados obtidos, não foi possível determinar os efeitos da elevação da concentração de CO₂ do ar sobre *C. candelabrum* em folhas que se desenvolveram em condições ambientes, infectadas com o patógeno e posteriormente transferidas para ambientes com enriquecimento de CO₂ do ar. Porém, quando mudas de *E. urophylla* foram podadas e suas folhas se desenvolveram em ambiente com elevadas concentrações de CO₂ e inoculadas com o patógeno, foi possível verificar os efeitos na severidade e incidência da mancha foliar, assim como os efeitos sobre a planta. Dessa forma, o método mais adequado para esses estudos foi o ensaio com mudas.

6.3 Reisolamento do patógeno

Em todos os reisolamentos foi confirmada a presença de *C. candelabrum*, como causador dos sintomas de mancha foliar (Figura 8).

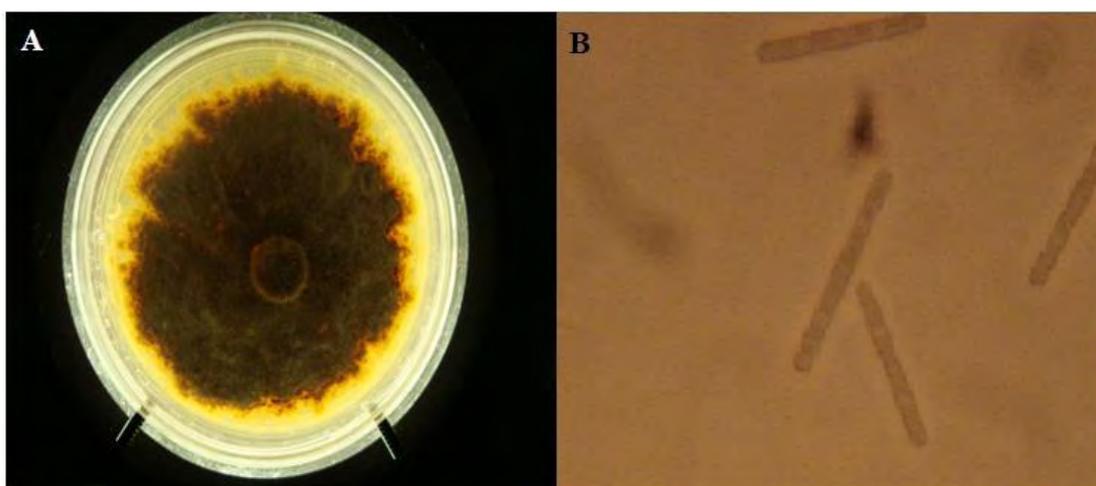


Figura 8. Crescimento micelial em meio de BDA (A) e de conídios (B) de *Cylindrocladium candelabrum* reisolados nos experimentos.

7 CONCLUSÕES

Em folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla*, o aumento da concentração de CO₂ do ar não tem efeito sobre a incidência e a severidade da mancha foliar e a esporulação de *Cylindrocladium candelabrum*.

Em mudas de *Eucalyptus urophylla*, o aumento da concentração de CO₂ do ar:

- diminui a incidência de folhas lesionadas por *Cylindrocladium candelabrum*;
- diminui o número de folhas contendo conídios de *Cylindrocladium candelabrum*;
- diminui a severidade da doença, expressa pela porcentagem de área foliar lesionada, causada por *Cylindrocladium candelabrum*;
- aumenta a altura e o peso da matéria seca da parte aérea das mudas;
- não altera o diâmetro do colo das mudas;
- aumenta o peso da matéria seca da raiz apenas em altas concentrações de CO₂ do ar.

8 REFERÊNCIAS

ABRAF (Associação brasileira de produtores de florestas plantadas). Anuário estatístico da ABRAF 2012. Brasília, 2012. 150p.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5^aed, p.250-263, 2004.

ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**, Ed.UFV, Lavras, 2007, 382p.

ALMEIDA, O. C.; BOLKAN, H. A. Patogenicidade de quatro espécies de *Cylindrocladium* em amendoim, soja, eucalipto e tubérculos de batata. **Fitopatologia Brasileira**, vol.6, n.2, p.237-244, 1981.

APARECIDO, C. C.; FINATTI, D. Impacto do gênero *Cylindrocladium* para diferentes culturas. Instituto Biológico – Comunicado técnico. São Paulo, n° 176, 2012.

APARECIDO, C.C. et al. Caracterização morfofisiológica de isolados do gênero *Cylindrocladium*. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.1, p.38-47, 2008.

AUER, C. G., SOTTA, E. D. Boletim de Pesquisa Florestal. Circular técnico Embrapa Florestas, n. 30/31, p.29-35, Colombo, 1995.

BOEHMER, H. J.. Vulnerability of tropical montane rain forest ecosystems due to climate change. In: BRAUCH, H. G. et al. (Org.). **Coping with global environmental change, disasters and security: Threats, challenges, vulnerabilities and risks**. vol.5, ed. Springer-Verlag, Berlin, 2011. 1816p.

BOIVESNUE, C., RUNNING, S.W. Impacts of climate change on natural forest productivity: evidence since the middle of the 20th century. **Global Change Biology**, vol.12, p.862-882, 2006.

BRAUCH, H. G. et al. (Org.). **Coping with global environmental change, disasters and security: Threats, challenges, vulnerabilities and risks**. vol.5, ed. Springer-Verlag, Berlin, 2011. 1816p.

BOOTH, T. H. Climatic mapping to identify high-risk areas for *Cylindrocladium quinqueseptatum* leaf blight on eucalyptus in mainland South East Asia and around the world. **Environmental Pollution**, vol.108, p.365-372, 2000.

BUCKERIDGE, M.S. **Biologia & Mudanças Climáticas no Brasil**. São Carlos: Ed. Rima, 2008. 316 p.

CARVALHO, M. R. F. et al. Avaliação de isolados de *Trichoderma* no controle da mancha foliar do eucalipto in vitro e quanto a esporulação em dois substratos sólidos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, n. 225, 21p., 2008

CHAKRABORTY, S.; DATTA, S. How will plant pathogens adapt to host plant resistance at elevated CO₂ under a changing climate? **New Phytologist**, vol.159, p.733-742, 2003.

CHAKRABORTY, S. et al. Impacts of global change on diseases of agricultural crops and forest trees. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**. vol. 3, n.54, p.1–15, 2008.

CHAKRABORTY, S.; TIEDMANN, A. V.; TENG, P.S. Climate change: potential impact on plants disease. **Environmental Pollution**, vol.108, p.317-326, 2000.

COAKLEY, M. S.; SHERM, H.; CHAKRABORTY, S. Climate change and plant disease management. **Annual Review of Phytopathology**, vol. 39, p.399-426, 1999.

CROUS, P. W., et al. *Calonectria scoparia* and *Calonectria morganii* sp. nov., and variation among isolates of their *Cylindrocladium* anamorphs. **Mycological Research**, 1993.

CROUS, P. W., et al. The *Cylindrocladium candelabrum* species complex includes four distinct mating populations. **Mycologia**, vol. 91, n. 2, p.286-298, 1999.

CROUS, P.W. **Taxonomy and pathology of *Cylindrocladium* (*Calonectria*) and allied genera**. APS Press, St. Paul, MN, U. S.A, 2002.

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

FERREIRA, E. M. *et al.* Eficiência de fungicidas sistêmicos para o controle de *Cylindrocladium candelabrum* em eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, vol.31, p.468-475, 2006.

FERREIRA, F. A. Patologia Florestal: Principais doenças florestais no Brasil. Viçosa, UFV, SIF, 1989. 570p.

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

GALLI, F. (Coord.). **Manual de Fitopatologia Vol.II – Doenças das Plantas Cultivadas**. 2ª Ed, 1980. p. 128-140.

GHINI, R. et al. Research approaches, adaptation strategies, and knowledge gaps concerning the impacts of climate change on plant diseases. **Tropical Plant Pathology**, vol. 37, p. 5-24, 2012.

GHINI, R. **Mudanças climáticas globais e doenças de plantas**. Brasília: Editora Embrapa, 2005. 104 p.

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

GHINI, R.; HAMADA, E. **Mudanças Climáticas – Impactos sobre doenças de plantas no Brasil**. Brasília: Editora Embrapa. p.215-220, 2008.

GLEADOW, R. et al. 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.

GRIFFIN, D. M.; NAIR, N. G. Growth of *Sclerotium rolfsii* at concentrations of oxygen and carbon dioxide. **Journal of Experimental Botany**. Vol.19, p.812-816, 1968.

HIBBERD, J. M. et al. 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.

IDSO, K. E., IDSO, S. B. Plant responses to atmospheric CO₂ enrichment in the face of environmental constraints: a review of the past 10 years research. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.69, n. 3-4, p. 153-203, 1994.

INDEX FUNGORUM (CABI, CBS, Landcare Research-NZ). 2008. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>>. Acesso em: 04 jul 2012.

IPCC. **Climate Change 2007: the physical science basis** – Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007. (IPCC Fourth Assessment Report 2007). Disponível em: <http://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/wg1/en/ch2s2-3.html#2-3-1>.

KARNOSKY, D.F et al. Interacting elevated CO₂ and tropospheric O₃ predisposes Aspen (*Populus tremuloides* Michx.) to infection by rust (*Melampsora medusae* f.sp.*tremuloidea*). **Global Change Biology**, v.8, p.329-338.2002.

LIMA, W. P. et al. Stomatal responses of *Eucalyptus* species to elevated CO₂ concentration and drought stress. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 2, p.231-238, 2003.

LOMBARD, L. et al. *Calonectria* (*Cylindrocladium*) species associated with dying *Pinus* cuttings. **Persoonia**. vol.23, p.41-47, 2009.

LUCK, J. et al. Climate change and diseases of food crops. **Plant Pathology**. vol.60, p.113-121, 2011.

MAC LEOD, R. E. O. **Efeito do aumento da concentração de dióxido de carbono do ar sobre a ferrugem e o crescimento de mudas clonais de eucalipto**. 2012. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2012.

MANNING, W.J.; TIEDEMANN, A.V. Climate change: potential effects of increase atmospheric carbon dioxide (CO₂), ozone (O₃) and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. **Environmental Pollution**, v.88, n.2, p.219-245, 1995.

McELRONE, A.J. et al. Combined effects of elevated CO₂ and natural climatic variation on leaf spot diseases of redbud and sweetgum trees. **Environmental Pollution**. v.158 p. 108-114, 2010.

McKIERNAN et al. Stability of Plant Defensive Traits Among Populations in Two Eucalyptus Species Under Elevated Carbon Dioxide. **Journal of Chemical Ecology**, vol. 38, p. 204-212, 2012.

MIELKE, M. S. et al. Leaf gas exchange in a clonal eucalypt plantation as related to soil moisture, leaf water potential and microclimate variables. **Trees**, vol. 14, p. 263-270, 2000.

NOVRIYANTI, E. High nitrogen and elevated CO₂ effects on the growth, defense and photosynthetic performance of two eucalyptus species. **Environmental Pollution**, vo. 170, p.124-130, 2012

PRITCHARD, S.G.; AMTHOR, J.S. **Crops And Environmental Change**. Haworth Press Inc, Binghamton, NY, 2005.

PUGLIESE, M.; GULLINO, M, L., GARIBALDI, A. Effects of elevated CO₂ and temperature on interactions of grapevine and powdery mildew: first results under phytotron conditions. **Journal of Plant Disease and Protection**,. v.117, p.9-14. , 2010

REHN, V. N. C. et al. Isolation, morphological identification and pathogenicity of *Cylindrocladium scoparium* and *C. clavatum* isolates obtained from plants rhizosphere cultivated in Pernambuco state. **Brazilian Journal of Microbiology**. vol.35, p.292-294, 2004.

ROGERS, H.H., DAHLMAN, R.C. Crops responses to CO₂ enrichment. **Plant Ecology**, vol.117, n.31, p.104-105. 1993.

SAMPAIO, G.; MARENGO, J.; NOBRE, C. A atmosfera e as mudanças climáticas. In: BUCKERIGDE, M. S. (Org.). **Biologia e Mudanças Climáticas no Brasil**. São Carlos, ed. Rima, p.5-27, 2008.

SANTOS, M. S. **Efeito do aumento da concentração de dióxido de carbono do ar sobre a murcha de *Cerarocystis* em mudas clonais de eucalipto.** 2011. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2011.

SOUZA, A. P. et al. Ajustando os botões: como as plantas lidam com o aumento do CO₂ atmosférico? In. BUCKERIGDE, M. S. (Org.). **Biologia e Mudanças Climáticas no Brasil.** São Carlos, ed. Rima, p.101-113, 2008.

STURROCK, R. N. et al. Climate change and forest diseases. **Plant Pathology**, vol. 60, p. 133-149, 2011.

TABAK, H. H.; COOKE, W. B. The effects of gaseous environments on the growth and metabolism of fungi. **Botanical Review**, vol. 34, p. 126-252, 1968.

VITALE, A.; POLIZZI, G. First record of leaf spot and stem lesions on *Pistacia lenticus* caused by *Cylindrocladium pauciramosum* and *C. scoparium* in Italy. **Plant Pathology**. vol.57, p.384, 2008.

WILLIAMSON, T.B. *et al.* **Climate change and Canada's forest: from impacts to adaptation.** Canadian Forest Service, Alberta, Canadá, 2009.

WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION. **Press release no. 965.** Disponível em: <http://www.wmo.int/pages/mediacentre/press_releases/pr_965_en.html>. Acesso: 22 abr. 2013.

APÊNDICE 1

Análise estatística da área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha foliar causada por *Cylindrocladium candelabrum* em folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla* (Ensaio 1).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				
Blocos	29	2778899,61235	95824,12456	10,2151 **
Tratamentos	3	51052,41964	17017,47321	1,8141 ns
Resíduo	87	816111,81988	9380,59563	
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				
Total	119	3646063,85186		
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				

** significativo (Tukey 5%)

ns: não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>	
1	587,11530 A
2	596,50090 A
3	568,09320 A
4	542,54660 A
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>	

dms = 65,58543

APÊNDICE 2

Análise estatística para a produção de conídios de *Cylindrocladium candelabrum* em folhas destacadas de *Eucalyptus urophylla* (Ensaio 1).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	14	342749933333,3	24482138095,2	1,2101 ns
Tratamentos	3	75687783333,33	25229261111,1	1,2470 ns
Resíduo	42	849732466666,7	20231725396,8	
Total	59	1268170183333,3		

** significativo (Tukey 5%)

ns: não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

1	315333,30000	A
2	290000,00000	A
3	237533,30000	A
4	230666,70000	A

dms = 138928,30000

APÊNDICE 3

Análise estatística para a área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPI) de folhas lesionadas por *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus urophylla* (Ensaio 2).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	9	89080,03453	9897,78161	4,4258 **
Tratamentos	3	98585,76262	32861,92087	14,6941 **
Resíduo	27	60382,97389	2236,40644	
Total	39	248048,77105		

** significativo (Tukey 5%)

ns: não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

1	324,35280	A
2	201,39260	B
3	227,17630	B
4	207,01190	B

dms = 57,82453

APÊNDICE 4

Análise estatística para a área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPS) da mancha foliar causada por *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus urophylla* (Ensaio 2).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	9	29267,38380	3251,93153	1,6519 ns
Tratamentos	3	98812,20971	32937,40324	16,7319 **
Resíduo	27	53150,70632	1968,54468	
Total	39	181230,29983		

** significativo (Tukey 5%)

ns não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

1	200,22450	A
2	78,94704	B
3	93,45334	B
4	85,76669	B

dms = 54,25120

APÊNDICE 5

Análise estatística para a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) de folhas contendo conídios de *Cylindrocladium candelabrum* em mudas de *Eucalyptus urophylla* (Ensaio 2).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	9	31065,20132	3451,68904	2,2502 **
Tratamentos	3	66134,68318	22044,89439	14,3713 **
Resíduo	27	41416,85200	1533,95748	
Total	39	138616,73649		

** significativo (Tukey 5%)

ns: não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

1	149,25690	A
2	59,46539	B
3	52,34281	B
4	54,80837	B

dms = 47,88984

APÊNDICE 6

Análise estatística para as médias de altura de mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* (Ensaio 2).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	9	11,74150	1,30461	1,6946 ns
Tratamentos	3	15,24525	5,08175	6,6009 **
Resíduo	27	20,78600	0,76985	
Total	39	47,77275		

** significativo (Tukey 5%)

ns: não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

1	11,20500	B
2	12,73500	A
3	12,57000	A
4	12,56000	A

dms = 1,07285

APÊNDICE 7

Análise estatística para as médias de diâmetro das mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* (Ensaio 2).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	9	1,22821	0,13647	18,0410 **
Tratamentos	3	0,05925	0,01975	2,6110 ns
Resíduo	27	0,20424	0,00756	
Total	39	1,49169		

** significativo (Tukey 5%)

ns: não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

1	2,03740 A
2	2,10550 A
3	2,11540 A
4	2,14170 A

dms =	0,10635

APÊNDICE 8

Análise estatística para as médias do peso da matéria seca da parte aérea de mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* (Ensaio 2).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	9	0,01655	0,00184	1,0383 ns
Tratamentos	3	0,05181	0,01727	9,7495 **
Resíduo	27	0,04783	0,00177	
Total	39	0,11619		

** significativo (Tukey 5%)

ns: não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

1 0,18550 B
2 0,24980 A
3 0,26800 A
4 0,27800 A

dms = 0,05146

APÊNDICE 9

Análise estatística para as médias do peso da matéria seca da raiz de mudas de *Eucalyptus urophylla* infectadas com *Cylindrocladium candelabrum* (Ensaio 2).

EXPERIMENTO EM BLOCOS CASUALIZADOS

QUADRO DE ANÁLISE

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	9	0,04790	0,00532	6,7363 **
Tratamentos	3	0,02589	0,00863	10,9247 **
Resíduo	27	0,02133	0,00079	
Total	39	0,09512		

** significativo (Tukey 5%)

ns: não significativo ($p \geq 0,05$)

Médias de tratamento

1	0,21460 B
2	0,19000 B
3	0,21470 B
4	0,26040 A

dms = 0,03437

