

ANNY MERY MARCON RUIZ

**INTENSIDADE DE SINTOMAS DE OÍDIO EM MINIJARDIM CLONAL DE
EUCALIPTO SOB DIFERENTES AMBIENTES DE CULTIVO**

Botucatu

2019

ANNY MERY MARCON RUIZ

**INTENSIDADE DE SINTOMAS DE OÍDIO EM MINIJARDIM CLONAL DE
EUCALIPTO SOB DIFERENTES AMBIENTES DE CULTIVO**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Câmpus
de Botucatu para obtenção do título de
Mestre em Ciência Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Furtado
Coorientadores: Prof^a. Dr^a. Cristiane de
Pieri e Prof. Dr. Fábio Suzart
Albuquerque

Botucatu

2019

R934i

Ruiz, Anny Mery Marcon

Intensidade de sintomas de oídio em minijardim clonal de eucalipto sob diferentes ambiente de cultivo / Anny Mery Marcon Ruiz. -- Botucatu, 2019

94 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientador: Edson Luiz Furtado

Coorientador: Cristiane de Pieri; Fábio Suzart Albuquerque

1. Podosphaera pannosa. 2. epidemiologia. 3. severidade. 4. filme plástico. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: **“INTENSIDADE DE SINTOMAS DE OÍDIO EM MINIJARDIM CLONAL DE EUCALIPTO SOB DIFERENTES AMBIENTES DE CULTIVO”**

AUTORA: ANNY MERY MARCON RUIZ

ORIENTADOR: EDSON LUIZ FURTADO

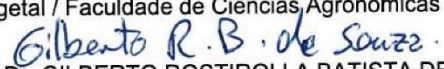
COORIENTADOR: FÁBIO SUZART DE ALBUQUERQUE

COORIENTADORA: CRISTIANE DE PIERI

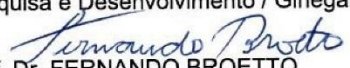
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA FLORESTAL, pela Comissão Examinadora:



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



Pesquisador Dr. GILBERTO ROSTIROLLA BATISTA DE SOUZA
Pesquisa e Desenvolvimento / Ginegar Polysack Brasil



Prof. Dr. FERNANDO BROETTO
Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP

Botucatu, 23 de agosto de 2019.

*Aos meus pais, que sempre me acompanharam
em todos os momentos da minha vida, dedico!*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me dar a vida, por me guiar e me dar forças.

Aos meus pais, Jose Antônio Ruiz e Neusa Marina Marcon Ruiz, que sempre me deram muito amor, me incentivaram, me apoiaram e me acompanharam em todas as fases de minha vida.

Ao meu irmão, Flávio Henrique Marcon Ruiz, pelo companheirismo e pela ajuda nos problemas do meu PC.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edson Luiz Furtado, por toda atenção, paciência, conversas e conhecimento transmitido ao longo dessa jornada.

À minha amiga e coorientadora Prof. Dra. Cristiane de Pieri, que esteve ao meu lado sempre que precisei, tanto como professora quanto amiga, que cuidou de mim como sua pupila.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Fabio Albuquerque, que mesmo tão longe, foi atencioso, me ajudou, sanou minhas dúvidas e também pela contribuição da estatística com a pesquisa. À sua esposa, Maria Albuquerque, por tanto carinho.

À esta Universidade, em especial ao Departamento de Ciência Florestal e Departamento de Proteção de Plantas, por proporcionarem condições de realizar este trabalho

Ao Antônio Cunha pela instalação dos equipamentos, pela ajuda e conselhos.

À Prof. Dra. Magali Ribeiro por abrir as portas do viveiro e ao Rafael, por permitir conduzir o experimento em parceria com ele.

Ao Claudinho, que me ensinou tanto, me protegeu e me ajudou a cuidar do experimento.

À Sara, por me ajudar nas avaliações e nas infinitas podas das cepas.

Aos amigos que Botucatu me deu, Jéssica Karine, Laryssa Bernades, Jaqueline Pinheiro, Letícia Ferrarezi, Ícaro Nery, Lisandro Pieroni, Danielle Dantas, David Vitor e Lucas Benso, por terem feito deste mestrado mais leve e divertido.

Às minhas amigas de infância, que mesmo longe sempre estiveram ao meu lado: Bah, Carol, Mi, May, Tiki, Fer e Bru.

Ao professor Fernando Broetto por me receber tão bem em seu laboratório e por toda paciência em me explicar passo a passo das análises enzimáticas.

À minha irmã de coração Daniella Schettini, que me ajudou, me aconselhou e me acompanhou nessa jornada.

Aos funcionários do Departamento de Proteção Vegetal e do Viveiro da Ciência Florestal.

À Empresa Ginegar pelas doações dos filmes plásticos utilizados no experimento.

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

A todos que fizeram parte diretamente e indiretamente da minha formação, minha eterna gratidão.

RESUMO

Em 2016, a eucaliptocultura atingiu 5,67 milhões de hectares plantados no Brasil, garantindo uma grande rentabilidade ao setor (IBÁ, 2017). Para manter esse patamar, é necessário a produção de mudas no viveiro e realizar o manejo adequado das plantas e doenças. *Podosphaera pannosa* (Wallr.) de Bary (oídio do eucalipto) é um dos principais patógenos biotróficos encontrados em viveiros florestais, que afeta o processo fotossintético da planta e causa intensos danos. Para o controle desta doença, é necessário encontrar novas alternativas, umas delas pode ser o uso de filmes plásticos difusores, os quais são responsáveis em aumentar a umidade e temperatura, filtrar a radiação fotossinteticamente ativa (PAR), e como consequência melhorar o desenvolvimento das plantas e controlar doenças. Para o sucesso do controle, é necessário compreender o comportamento do patógeno e realizar a quantificação dos sintomas. Dessa maneira, esse trabalho apresenta como objetivos específicos: 1) desenvolver a escala diagramática de oídio do eucalipto; 2) Avaliar o patossistema oídio-eucalipto em quatro materiais genéticos distintos de eucalipto Híbridos de *Corymbia torelliana* x *C. citriodora* ("Toreliodora"), *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (IPB 02, IPB 13) e híbrido natural de *E. urophylla* (I144) em minijardim clonal sob quatro ambientes de cultivo (Pé direito alto, descoberto, mini túnel com plástico difusor branco e mini túnel com plástico difusor azul); 3) Correlacionar a intensidade de oídio com a radiação fotossinteticamente ativa, temperatura, chuva e umidade relativa; 4) Medir o teor de nitrogênio foliar dos clones nos diferentes tratamentos; 5) Analisar respostas metabólicas de defesa da planta através das enzimas peroxidase e superóxido dismutase (SOD). O experimento foi instalado no Viveiro Florestal do Departamento de Ciência Florestal da Faculdade de Ciências Agronômicas em Botucatu-SP com quatro tratamentos e três repetições para cada clone. Cada parcela foi representada por um clone com 35 cepas, avaliando somente 15 cepas centrais. Foi monitorada a temperatura, umidade, chuva e PAR dos tratamentos. A severidade de oídio foi avaliada semanalmente, utilizando-se escala diagramática. A severidade de oídio entre tratamentos e clones, a quantidade de nitrogênio foliar entre tratamentos e clones e atividade das enzimas entre tratamentos e clones foram analisadas através do teste de Kruskal-Wallis e comparações múltiplas. Para identificar se as variáveis climáticas interferiram na severidade de oídio, utilizou-se a técnica de regressão múltipla, através dos modelos lineares generalizados, com os

valores da escala de nota sendo as variáveis dependente e a temperatura, PAR, chuva e umidade como variáveis independentes. A escala diagramática desenvolvida foi eficiente para a avaliação da severidade de oídio em eucalipto. Os clones não apresentaram diferença significativa na severidade de oídio. O pé direito alto foi o que apresentou maior severidade, seguido do descoberto. Os minitúneis não diferiram em relação a severidade, sendo os tratamentos mais eficientes para o controle de oídio. A PAR foi o fator que mais influenciou na severidade de oídio no tratamento descoberto, enquanto para o restante dos tratamentos foi a temperatura. O teor de nitrogênio foliar diferiu entre o tratamento descoberto com os minitúneis e os clones IPB13 e “Toreliodora” apresentaram diferença significativa no teor de nitrogênio foliar. A atividade da enzima SOD e peroxidase não diferiu entre os tratamentos e, entre os clones, a atividade foi maior no “Toreliodora”, diferindo de todos os outros clones.

Palavras-chave: *Podosphaera pannosa*, epidemiologia, severidade, filme plástico

ABSTRACT

In 2016, eucalyptus cultivation reached 5.67 million hectares planted in Brazil, guaranteeing a great profitability to the sector (IBÁ, 2017). To maintain this level, it is necessary to produce seedlings in the nursery and to carry out the appropriate management of the plants and diseases. *Podosphaera pannosa* (Wallr.) de Bary (Eucalyptus powdery mildew) is one of the main biotrophic pathogens found in forest nurseries, which affects the photosynthetic process of the plant and causes severe damage. To control this disease, it is necessary to find new alternatives, one of them may be the use of diffuser plastic films, which are responsible for increasing the humidity and temperature, filtering the photosynthetically active radiation (PAR), and consequently improving the development of plants and control diseases. For the success control of this disease, it is necessary to understand the behavior of the pathogen and perform the symptom quantification. In this way, this study presents as specific objectives: 1) to develop the diagrammatic scale of eucalyptus powdery mildew; 2) evaluate the oidium-eucalyptus patossystem in four different genetic materials of eucalyptus Hybrids: *Corymbia torelliana* x *C. citriodora* ("Toreliodora"), *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* (IPB 02, IPB 13) and natural hybrid of *E. urophylla* (I144) in clonal mini-garden under four different coverings (high right foot, uncovered, mini tunnel with white diffuser plastic and mini tunnel with blue diffuser plastic); 3) Correlate the intensity of powdery mildew with photosynthetically active radiation, temperature, rain and relative humidity; 4) measure the leaf nitrogen content of the clones in the different treatments; 5) analyze the plant defense metabolic responses through the enzymes peroxidase and superoxide dismutase (SOD). The experiment was installed in the Forest Nursery in the Department of Forest Science of the Faculty of Agronomic Sciences in Botucatu-SP, with four treatments and three replicates for each clone. Each plot was represented by a clone with 35 stump, evaluating only 15 of the center. The temperature, humidity, rainfall and PAR of the treatments were monitored. The severity of powdery mildew was evaluated weekly using a diagrammatic scale. The severity of powdery mildew between treatments and clones, the amount of leaf nitrogen between treatments and clones and enzyme activity between treatments and clones were analyzed through the Kruskal-Wallis test and multiple comparisons. In order to identify if the climatic variables interfered in the powdery mildew severity, was used the multiple regression technique, using the

generalized linear models, with the values of the note scale being the dependent variables and the temperature, PAR, rainfall and humidity as independent variables. The developed diagrammatic scale was efficient to evaluate the severity of mildew in eucalyptus. The clones showed no significant difference in the severity of powdery mildew. The high right foot was the one with the highest severity, followed by the uncovered. The mini tunnels did not differ in relation to the severity, being the treatments more efficient for the control of powdery mildew. PAR was the factor that most influenced the severity of powdery mildew in the uncovered treatment, while for the rest of the treatments it was the temperature. Leaf nitrogen content differed between the treatment uncovered with the mini tunnels and the clones IPB13 and "Toreliodora" had a significant difference in the leaf nitrogen content. The activity of the SOD and peroxidase enzyme did not differ between treatments and; among the clones, the activity was higher in "Toreliodora", differing from all other clones.

Keywords: *Podosphaera pannosa*, epidemiology, severity, plastic film

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vista aérea do experimento, mostrando os quatro tratamentos: 1. Pé direito alto com plástico difusor; 2. Mini túnel com plástico branco difusor; 3. Mini túnel com plástico azul; 4. Descoberto	33
Figura 2 - Croqui do experimento mostrando a ordem dos clones em todos os tratamentos: Pé direito alto (PDA), Minitúnel branco (MTB), minitúnel azul (MTA), Descoberto (DESC).....	34
Figura 3 - Clones de eucalipto utilizados no experimento. A) I144; B) IPB02; C) IPB13 e D) “Toreliodora”	35
Figura 4 - Sintomas do oídio em eucalipto no minijardim clonal coletados para identificação a nível molecular	37
Figura 5 – Sensores instalado no experimento. A) Abrigo multiplaca RM Young modelo 41002; B) Sensor instalado dentro do minitúnel.....	40
Figura 6 - Escala diagramática para avaliação da severidade de oídio do eucalipto causado pelo fungo <i>P. pannosa</i> . Valores em porcentagem da área foliar com sintomas (área cinza)	44
Figura 7 - Validação estatística da escala diagramática para avaliar a severidade de oídio no eucalipto. Os avaliadores 3 e 6 foram selecionados para representar a análise de regressão linear entre a gravidade real e estimada, com e sem a utilização da escala diagramática.....	45
Figura 8 - Escala de nota média de oídio no eucalipto ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19) para o tratamento descoberto	47
Figura 9 – Sobreposição do gráfico do comportamento do oídio no tratamento descoberto sob a pluviometria na cidade de Botucatu, SP, ao longo do período de avaliação	48
Figura 10 - Escala de nota média de oídio no eucalipto ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19) para o tratamento pé direito alto	49
Figura 11 - Escala de nota média de oídio no eucalipto ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19) para o tratamento mini túnel branco.....	50
Figura 12 - Escala de nota média de oídio no eucalipto ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19) para o tratamento mini túnel azul	51

Figura 13 - Umidade relativa média dos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (mini túnel branco) e PDA (pé direito alto) durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19)	52
Figura 14 - Representação da PAR dos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (mini túnel branco) e PDA (pé direito alto) durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19)	53
Figura 15 - Representação da temperatura média dos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (mini túnel branco) e PDA (pé direito alto) durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19).....	55
Figura 16 - Pluviometria ao longo do período de avaliação do experimento (mai/18 a abr/19) na cidade de Botucatu, SP. Dados obtidos pela estação meteorológica instalada no Departamento de Ciência do Solo e Recursos Ambientais da FCA, Botucatu	56
Figura 17 - Boxplots comparando a escala de notas de oídio em eucalipto para os clones I144, IPB 02, IPB 13 e “Toreliodora”. Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos	57
Figura 18 - Boxplots comparando as notas de oídio para os diferentes tratamentos PDA, DESC, MTA e MTB com o agrupamento de todos os clones. Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos.....	58
Figura 19 - Boxplots mostrando a severidade de oídio em eucalipto, de acordo com a escala de nota, nos clones (A) – I144, (B) – IPB 13, (C) – IPB02, (D) – “Toreliodora” para os tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (mini túnel branco) e PDA (pé direito alto).....	60
Figura 20 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a temperatura média para o tratamento descoberto durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”	63

- Figura 21 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a pluviosidade para o tratamento descoberto durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”.....64
- Figura 22 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a temperatura para o tratamento pé direito alto durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”66
- Figura 23 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a umidade para o tratamento pé direito alto durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”.....67
- Figura 24 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a temperatura para os tratamentos mini túnel azul e branco durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”69
- Figura 25 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a umidade para o tratamento mini túnel azul e mini túnel branco durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”70
- Figura 26 - Teor de nitrogênio foliar contido em cada tratamento nos três meses de coleta (mar/18, jul/18 e fev/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa à mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos73
- Figura 27 - Teor de nitrogênio foliar (g Kg-1) contido nos clones I144, IPB02, IPB13 e “Toreliodora” nos três meses de coleta (mar/18, jul/18 e fev/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa à mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos75
- Figura 28 - Atividade da enzima SOD em relação aos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (minitúnel branco), PDA (pé direito alto) ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa à mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores

mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos 78

Figura 29 - Atividade da enzima SOD em relação aos clones I144, IPB02, IPB13 e “Torelidora” ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos..... 79

Figura 30 - Atividade da enzima peroxidase em relação aos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (minitúnel branco), PDA (pé direito alto) ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos..... 81

Figura 31 - Atividade da enzima peroxidase em relação aos clones I144, IPB02, IPB13 e “Torelidora” ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos..... 82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Informações dos plásticos difusor branco e difusor azul de acordo com a Ginegar Polysack Brasil	34
Tabela 2 - Solução nutritiva aplicada nas mudas de eucalipto no minijardim clonal durante o período de avaliação do experimento de acordo com as estações do ano	36
Tabela 3 - Fertilizantes utilizados para o preparo da solução nutritiva aplicada no minijardim clonal de eucalipto durante o período de avaliação do experimento.....	36
Tabela 4 - Coeficientes de determinação obtidos de uma regressão linear simples entre os valores reais e estimados da severidade de oídio no eucalipto por dez avaliadores com e sem o uso da escala diagramática.....	46
Tabela 5 - Teste de comparação múltipla entre os tratamentos para os clones I144, IPB 02, IPB 13 e “Toreliodora” para a severidade de oídio	59
Tabela 6 - Coeficientes padronizados dos modelos lineares generalizados obtidos para o tratamento descoberto dos clones de eucalipto I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” em relação à severidade de oídio	62
Tabela 7 - Coeficientes padronizados dos modelos lineares generalizados obtidos para o tratamento pé direito alto dos clones de eucalipto I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” em relação à severidade de oídio	65
Tabela 8 - Coeficientes padronizados dos modelos lineares generalizados obtidos para o tratamento mini túnel branco dos clones de eucalipto I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” em relação à severidade de oídio	68
Tabela 9 - Coeficientes padronizado dos modelos lineares generalizados obtidos para o tratamento mini túnel azul dos clones de eucalipto I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” em relação à severidade de oídio	68
Tabela 10 - Teste de comparação múltipla entre os tratamentos dos clones I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” para o teor de nitrogênio foliar	74
Tabela 11 - Teste de comparações múltiplas entre os clones I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” para o teor de nitrogênio foliar	76

Tabela 12 - Teste de comparações múltiplas realizadas entre os clones para a atividade da enzima SOD ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19).....	80
Tabela 13 - Teste de comparações múltiplas realizado entre os clones para a atividade da enzima peroxidase ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19)	83

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	OBJETIVO GERAL.....	23
2.1	Objetivos específicos.....	23
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3.1	A cultura do eucalipto.....	24
3.2	O patógeno <i>Podosphaera pannosa</i> (= <i>Oidium eucalypti</i>).....	25
3.3	Resposta de defesa da planta a patógenos.....	28
3.4	Efeitos da radiação solar sobre o crescimento das plantas.....	30
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1	Caracterização da área experimental.....	32
4.2	Delineamento experimental.....	32
4.3	Identificação do patógeno.....	36
4.4	Elaboração da escala diagramática de <i>P. pannosa</i> para eucalipto.....	38
4.5	Avaliações.....	39
4.5.1	Severidade de <i>P. pannosa</i>	39
4.5.2	Monitoramento das variáveis meteorológicas.....	39
4.5.3	Análise do teor de nitrogênio.....	40
4.5.4	Análises bioquímicas.....	40
4.5.4.1	Coleta e armazenamento do material vegetal	41
4.5.4.2	Procedimentos para obtenção do extrato bruto	41
4.5.4.3	Determinação do teor de proteína	41
4.5.4.4	Atividade de enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1).....	41
4.5.4.5	Atividade da enzima Peroxidase (POX; EC 1.11.1.7).....	42
4.6	Análise estatística.....	42
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1	Identificação do patógeno.....	44
5.2	Escala diagramática.....	44
5.3	Severidade de oídio ao longo do período de avaliação.....	47
5.3.1	Descoberto.....	47
5.3.2	Pé direito alto	49
5.3.3	Mini túnel branco.....	49
5.3.4	Mini túnel azul	50
5.4	Variáveis climáticas.....	51
5.4.1	Umidade Relativa.....	51
5.4.2	PAR.....	52
5.4.3	Temperatura.....	53
5.4.4	Pluviometria	55
5.5	Severidade de oídio	56
5.6	Influência das variáveis climáticas sobre a severidade de oídio.....	62
5.6	Teor de Nitrogênio foliar.....	72
5.7	Atividades enzimáticas.....	77
6	CONCLUSÃO	86

REFERÊNCIAS.....	87
------------------	----

1 INTRODUÇÃO

Em 2016, a eucaliptocultura atingiu 5,67 milhões de hectares plantados no Brasil (IBÁ, 2017), o que corresponde a 90% de toda madeira produzida para fins industriais no país (IBÁ, 2018). Nos últimos cinco anos, o crescimento da área de eucalipto foi de 2,4% ao ano (IBÁ, 2017). Este crescimento ocorreu devido à demanda com o aumento de indústrias de papel, celulose e carvão vegetal. As condições favoráveis de clima, solo e oferta fazem do Brasil um produtor desta espécie (SILVA, 2005).

Para manter a cultura, a rentabilidade e o aumento na produção dos produtos derivados do eucalipto, torna-se necessário a produção de mudas e manejo correto das mudas desde o viveiro. Os viveiros de eucalipto possuem um microclima favorável ao desenvolvimento de doenças, devido à alta umidade, homogeneidade das plantas e temperatura favorável (ALFENAS et al., 2009). Diversas doenças podem ocorrer, como por exemplo oídio, ferrugem das mirtáceas, murchas e manchas foliares. Muitas das doenças iniciam-se no viveiro e acompanham o hospedeiro no campo, reduzindo o desenvolvimento das plantas. Em viveiro as doenças podem comprometer toda a produção de mudas, causando grande perda econômica (ALFENAS et al., 2009; SANTOS et al., 2001).

O ascomicota *Podosphaera pannosa* (Wallr.) de Bary, conhecido popularmente como oídio do eucalipto, é um dos principais patógenos biotróficos encontrados em viveiros florestais e se destaca devido à intensidade e danos causados (ALFENAS et al., 2009). Os oídios são frequentemente encontrados sobre plantas nos minijardins clonais, com fertirrigação por gotejamento, onde há pouco molhamento foliar (ALFENAS et al., 2009).

A sintomatologia desta doença se caracteriza pela formação de camada esbranquiçada com aspecto pulverulento nas folhas, afetando os processos fotossintéticos da planta. Como consequência, ocorre a redução do número de mini estacas produzidas pelas cepas no minijardim clonal, além de interferir no enraizamento das estacas na casa de vegetação (KRUGNER e AUER, 2005). Este patógeno é responsável por diminuir o crescimento da planta em até 40% e reduzir sua qualidade (BEDENDO, 2018).

Como o oídio é uma doença muito frequente em viveiros, há constante demanda por recomendação de controle. O controle de oídio normalmente é realizado com

fungicidas. Porém, novas alternativas de controle estão sendo estudadas para diminuir a reprodução de oídio nas plantas, para reduzir custos, melhorar a qualidade de vida do produtor e prevenir danos ambientais. O uso de minitúneis, que consistem em uma estufa em forma de túnel revestida com plásticos difusores, melhora o crescimento das plantas (SGANZERLA, 1995; ASSIS, 2011) e podem ainda ser uma alternativa no controle mais efetivo de doenças em viveiros.

O sucesso de medidas de controle, para a maioria dos patógenos, requer conhecimento detalhado do ciclo de vida de cada organismo, de seu comportamento na planta, o efeito dos fatores ambientais na interação entre o hospedeiro e o patógeno e a quantificação dos sintomas da doença (ZAMBOLIM, 2001). Um dos métodos mais utilizados para avaliar a quantificação de doenças foliares, é através da avaliação da severidade da doença, ou seja, quantos por cento da folha apresenta infecção. A severidade da doença pode ser avaliada pelo uso de escalas diagramáticas, tornando as avaliações sempre padronizadas e precisas, auxiliando na tomada de decisão do controle (MICHEREFF, 2015).

Entretanto, nem todas as doenças apresentam escalas, sendo necessário o seu desenvolvimento para auxiliar na tomada de decisão no controle de oídio em viveiros de eucalipto. Com este estudo, espera-se contribuir para o controle e comportamento do oídio em eucalipto através do uso de diferentes filmes plásticos difusores na cobertura do minijardim clonal.

2 OBJETIVO GERAL

Estudar o comportamento do oídio e desenvolver ferramentas epidemiológicas para o seu controle em minijardim clonal de eucalipto em diferentes ambientes de cultivo e materiais genéticos.

2.1 Objetivos específicos

- a) Desenvolver a escala diagramática de oídio do eucalipto
- b) Avaliar o patossistema oídio-eucalipto em quatro materiais genéticos distintos de eucalipto (I144, IPB 13, IPB 02 e “Toreliodora”) em minijardim clonal sob quatro diferentes coberturas (Pé direito alto, descoberto, mini túnel com plástico difusor branco e mini túnel com plástico difusor azul);
- c) Correlacionar a severidade de oídio com a radiação fotossinteticamente ativa, temperatura, umidade relativa e chuva;
- d) Medir o teor de nitrogênio foliar dos clones nos diferentes tratamentos para correlacionar com a severidade de oídio;
- e) Analisar bioquimicamente as respostas de defesa da planta através das enzimas peroxidase e superóxido dismutase.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A cultura do eucalipto

O gênero *Eucalyptus* é pertencente à família Myrtaceae, originário do continente australiano. Possui cerca de 700 espécies, quase todas originárias da Austrália, ocorrendo também na Indonésia e em ilhas adjacentes (PRYOR, 1976; VENTURIN, 2014).

Atualmente o eucalipto é destinado para diversos fins, como carvão vegetal, produção de celulose, papel, móveis, pisos laminados, aglomerados e até mesmo para usos não madeireiros (IBÁ, 2017). Destaca-se a produção de essências extraídas das folhas de algumas espécies de eucalipto, como o *Corymbia citriodora* (Hook) K. D. Hill & L. A. Johnson (VENTURIN, 2014) e o uso de espécies de *Eucalyptus* para fins paisagísticos e recuperação de áreas degradadas (FURTADO et al., 2008).

O Brasil tem uma vasta área e condições climáticas favoráveis para a implantação de florestas sendo o gênero *Eucalyptus* escolhido por apresentar inúmeras vantagens sobre outras espécies. Algumas das vantagens são possuir espécies adaptadas a diferentes condições de clima e solo; características silviculturais desejáveis como boa forma de fuste, rápido crescimento e alta produtividade; facilidade a programas de manejo e melhoramento; facilidade de propagação vegetativa; e diversos fins industriais, tendo ampla aceitação no mercado (SILVA, 2005).

O Brasil contabilizou cerca de 7,84 milhões de hectares de floresta de reflorestamento em 2018, o que representa um crescimento de 0,5% em relação ao ano de 2015, crescimento exclusivamente devido ao aumento do plantio de eucalipto (IBÁ, 2017). O setor de árvores plantadas no país corresponde a 90% de toda madeira produzida para fins industriais e 6,1% do PIB industrial (IBÁ. 2018).

O plantio de eucalipto em 2016 ocupou uma área de 5,7 milhões de hectares, sendo que os Estados mais plantam esta espécie são Minas Gerais (24%), São Paulo (17%) e Mato Grosso do Sul (15%) (IBÁ, 2017). Pelo crescimento dos plantios florestais de eucalipto, a demanda por mudas pelos produtores rurais e empresas florestais aumentou. Essas mudas normalmente são produzidas por propagação vegetativa para que assim possam ter árvores uniformes e produzirem madeira de qualidade (VALE et al., 2014).

As mudas são produzidas no minijardim clonal, via propagação clonal, com destaque para a miniestaquia, sendo as mini estacas coletadas após a emissão de brotações das gemas axilares. A parte basal da muda é denominada mini cepa que é responsável por fornecer as mini estacas, as quais serão futuras mudas clonais (XAVIER et al., 2009). Porém, a utilização de mudas clonais pode acarretar maior suscetibilidade em relação a pragas e doenças, pois se o material plantado for suscetível a um determinado patógeno, todo o plantio poderá ser afetado (VALE et al., 2014).

Com a expansão da eucaliptocultura ao longo dos anos, surgiram também várias doenças durante a produção de mudas em viveiro e em campo. No viveiro, as doenças podem ocorrer em todas as fases, isto é, desde a fase de produção de brotos nos minijardins, até a fase de rustificação a céu aberto. As doenças em viveiros causam prejuízos significativos, sendo as epidemias mais frequentes as causadas por podridão de estacas, anelamento de haste e as manchas foliares (ALFENAS et al., 2009). Recomenda-se sempre que houver incidência de doenças realizar uma análise da relação custo/benefício de controle para quantificar as perdas dos prejuízos diretos (ALFENAS et al., 2009). As doenças podem comprometer toda a produção das mudas em viveiro e por isso, o aspecto demanda atenção e manejo (FURTADO et al., 2001).

Em viveiros florestais e nos minijardins clonais de eucalipto, ocorrem vários patógenos, entre eles destaca-se o oídio (ALFENAS et al., 2009).

3.2 O patógeno *Podosphaera pannosa* (= *Oidium eucalypti*)

P. pannosa (fase sexuada), sendo a fase assexuada *Oidium eucalypti* Rostr., é um fungo popularmente conhecido como oídio do eucalipto, pertencente ao filo Ascomycota, classe Leotiomycetes, ordem Erysiphales, família Erysiphaceae (KIRK, 2019). Os oídios são responsáveis por causar danos foliares em plantas (AMORIM et al., 2011), e estão presentes em várias regiões brasileiras e em diversas espécies (AUER et al., 2016).

Em 2014, na Coreia, a primeira ocorrência de oídio causada por *P. pannosa* foi identificada em *Corymbia citriodora* (CHO et al., 2016). Fonseca et al. (2017) denominaram o agente etiológico do oídio que ataca espécies de eucalipto como *Podosphaera pannosa* (fase sexuada). Bovolini et al. (2018) realizaram testes

moleculares para confirmar a identificação de alguns isolados de oídio do eucalipto e o resultado aproximou-se de *P. pannosa* como fase teleomórfica do *Oidium eucalypti*.

O oídio do eucalipto é um parasita biotrófico obrigatório, ou seja, obtêm nutrientes do interior da célula do hospedeiro vivo para que possam manter seu crescimento e reprodução. O processo de infecção se inicia quando o conídio (esporos formados através da mitose nas extremidades dos conidióforos) da fase assexuada chega na superfície da folha. O conídio origina o tubo germinativo e em sua extremidade forma-se o apressório, o que se adere na superfície foliar. As hifas são formadas a partir do apressório e rompem a cutícula e célula epidérmica da folha. O haustório é formado a partir da dilatação do ápice da hifa, a qual se mantém dentro do citoplasma e retira os nutrientes para o patógeno. Quando já penetrado, as hifas começam a se ramificar e então os conídios são produzidos em grande quantidade (BEDENDO, 2018). Existe uma alta especificidade na relação patógeno-hospedeiro, pois o patógeno obrigatório deve se adaptar ao hospedeiro (STADNIK e RIVERA, 2001; BEDENDO, 2018).

P. pannosa é facilmente reconhecido por formar uma camada esbranquiçada com aspecto pulverulento na superfície da folha, podendo cobrir totalmente a superfície ou de maneira isolada, também aparece nos ramos novos, gemas, flores e frutos (STADNIK e RIVERA, 2001; BEDENDO, 2018). Esta camada branca é composta por micélio, conídios e conidióforos do patógeno, ou seja, apresentam sinal da doença (BEDENDO, 2018). Quando as estruturas do patógeno são observadas em microscópio, visualizam-se hifas emitindo conidióforos eretos e hialinos, conídios produzidos em cadeia basipetal, oblongos a ovais, unicelulares, com dimensões que variam de 13-20 a 21-36 µm (AUER et al., 2016; BEDENDO, 2011).

Ainda que o oídio não leve a planta à morte, os efeitos da doença são prejudiciais porque reduzem o desenvolvimento e a produção da planta. O oídio também afeta os processos fotossintéticos, pois isola a quantidade de luz que chega à superfície das folhas, com isso provoca um aumento da transpiração e respiração celular do hospedeiro. Como consequência, essa doença diminui o crescimento da planta e a produção, causando danos na produção de até 40% (BEDENDO, 2018).

Além da redução no crescimento, os sintomas mais evidentes nas plantas são: deformação do limbo foliar, necrose e queda das folhas. Nas plantas suscetíveis, o oídio causa deformação das folhas apicais e, como consequência, a muda acaba perdendo a qualidade, inviabilizando sua comercialização (GRIGOLETTI et al., 2005). Em minis jardins clonais podem causar redução no número de estacas, perda da

qualidade da matriz e afeta o enraizamento das estacas na casa de vegetação (KRUGNER; AUER, 2005).

P. pannosa está distribuído em regiões com diferentes condições climáticas, desde a umidade alta e clima frio, até em ambientes secos e quentes. Seus esporos, quando liberados, germinam e causam infecção mesmo com a umidade do ar relativamente baixa e quando a infecção se inicia, esta continua se desenvolvendo sobre a superfície da planta, independente da umidade do ar (AGRIOS, 2005). Para o oídio, o filme de água sobre a folha dificulta à germinação e penetração do patógeno, por isso, nos viveiros, o oídio é frequentemente encontrado sobre plantas nos minijardins clonais nos canaletões com fertirrigação por gotejamento, onde há pouco molhamento foliar (ALFENAS et al., 2009).

A disseminação do fungo é realizada pela água e pelo vento (ALFENAS et al., 2009). A água, por meio dos respingos, espalha os conídios da própria planta para as plantas vizinhas. O vento atua como o principal disseminador, pois distribui os conídios a longas distâncias. Já as chuvas fortes interferem na dispersão, pois eliminam as estruturas do fungo na superfície foliar (ALFENAS et al., 2009).

A quantificação dos danos de oídio é realizada pela severidade (porcentagem da área de tecido coberto com sintomas). Porém, é preciso o desenvolvimento de métodos padronizados de quantificação da severidade da doença. Quando a doença é estimada visualmente, está sujeita a erros e subjetividade. Por isso, é recomendado o uso de escalas diagramáticas, as quais representam ilustrações da parte da planta a ser avaliada com diferentes níveis de severidade, auxiliando o avaliador e minimizando a subjetividade (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 1996).

Para o controle de oídio em eucalipto, viveiristas buscam híbridos tolerantes ao *P. pannosa*. Para selecionar os clones resistentes, faz-se o uso de escalas diagramáticas, avaliando a severidade e selecionando os mais resistentes (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

De acordo com o AGROFIT (www.agrofit.agricultura.gov.br), há dois ingredientes ativos utilizados para o controle de oídio em eucalipto: azoxistrobina (estrobilurina) + difenoconazol (triazol) e metconazol (triazol) + piraclostrobina (estrobilurina). Porém, Campanhola e Bettiol, (2003), recomendam o uso de controle alternativo, que pode ser feito com o uso de leite de vaca cru, solução de bicarbonato de sódio e suspensões de bacilos em extrato de esterco (AUER et al., 2016).

3.3 Resposta de defesa da planta a patógenos

Todas as plantas estão sujeitas ao ataque de diferentes patógenos. Por essa razão, as plantas buscam maneiras de evitar ou retardar a entrada do patógeno em seus tecidos (PASCHOLATI et al., 2008). As plantas sofrem algumas mudanças bioquímicas significativas em resposta ao ataque de fitopatógenos e insetos. Quando o ataque é realizado por patógenos, as plantas se defendem por meio de dois mecanismos: estruturais e bioquímicos (ALMAGRO et al., 2009; PASCHOLATI et al., 2008).

O mecanismo de defesa estrutural está relacionado com as barreiras físicas posicionadas estrategicamente que acabam impedindo a penetração e/ou colonização do tecido pelo patógeno (PASCHOLATI et al., 2008), devido a formação da lignificação e o acúmulo de sílica nas paredes (MARSCHNER, 2012).

O mecanismo de defesa bioquímico inclui substâncias capazes de inibir o desenvolvimento do patógeno ou gera condições para que o patógeno não se desenvolva no hospedeiro. Assim, a substância produzida na quantidade exata pode implicar apenas na mudança da expressão da doença e não na planta (PASCHOLATI et al., 2008), como por exemplo a redução nos compostos fenólicos, que atuam como inibidores do desenvolvimento da doença (MARSCHNER, 2012).

Os compostos fenólicos são constituídos por lignina, taninos, fitoalexinas, entre outros. A lignina, que é de extrema importância para os vegetais, pois além da sustentação, a lignificação é responsável por bloquear o crescimento de patógenos, pois sua capacidade de se ligar com a celulose e às proteínas, reduz a digestibilidade dessas substâncias (TAIZ e ZEIGER, 2013).

De acordo com Marschner (2012), a nutrição das plantas pode afetar as propriedades bioquímicas, como por exemplo, a redução dos compostos fenólicos. A alta quantidade de nitrogênio reduz a produção de compostos fenólicos e como consequência, a lignina das folhas, diminuindo a resistência aos patógenos obrigatórios. Dessa maneira, o excesso de nitrogênio nas plantas, tanto na forma de nitrato quanto de amônio, as torna menos resistentes as infecções fúngicas, favorecendo a germinação de certos conídios (MARSCHNER, 2012). Segundo Silveira et al. (2000), em minijardim clonal e viveiro de eucalipto, quando ocorre o excesso de nitrogênio, favorece a infecção de alguns fungos, como a ferrugem e oídio.

Ainda sobre o mecanismo de defesa bioquímico, há outras respostas bioquímicas de defesa das plantas contra o ataque de fitopatógenos, como: resposta hipersensitiva (HR), resistência sistêmica adquirida (SAR), indução de proteínas relacionadas à patogênese (PR-Proteínas) e espécies reativas de oxigênio (EROs), como por exemplo, o peróxido de hidrogênio (ALMAGRO et al., 2009).

Quando as plantas são atacadas pelos fitopatógenos, ocorrem mudanças nas atividades enzimáticas do metabolismo primário e secundário do hospedeiro. As plantas respondem de uma forma rápida com o que é chamado de explosão oxidativa, que produz espécies reativas de oxigênio, incluindo ânion superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de hidrogênio é responsável por acionar as moléculas para indução de genes de defesa e estimular a produção de enzimas antioxidativas (LUKASIK et al., 2012).

Existe uma variedade de enzimas antioxidativas que compõem as espécies reativas de oxigênio, como por exemplo: a superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1), a catalase (E.C. 1.11.1.6), a peroxidase (POD - EC. 1.11.1) (PASCHOLATI et al., 2008; MITTLER, 2002).

As peroxidases são enzimas responsáveis pela remoção de átomos de hidrogênio dos grupos álcoois hidroxicinâmicos, cujos radicais se polimerizam e formam a lignina. A mudança na atividade dessa enzima está relacionada à resistência ou não da planta aos patógenos. Os radicais polimerizados, juntamente com a celulose e outros polissacarídeos, servem como uma barreira física à penetração de fungos. Devido à lignificação do tecido vegetal, o fungo é impedido de entrar pela formação da barreira mecânica, dada pela maior resistência da parede celular, impedindo que nutrientes do hospedeiro sejam utilizados pelo invasor (PASCHOLATI et al., 2008).

A superóxido dismutase (SOD - EC 1.15.1.1) é uma metaloenzima que desempenha importante papel na resposta ao estresse oxidativo nas plantas, atuando sobre o radical (O_2^-), formando peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. Estes são classificadas pelos seus cofatores de metal em: cobre/zinco, manganês e ferro, localizados em diferentes compartimentos celulares (GILL e TUTEJA, 2010).

De acordo com Pascholati et al. (2008) as enzimas de estresse aumentam para se defender do ataque de fitopatógenos, havendo importância em avaliar se a presença do oídio nos diferentes clones de eucaliptos aumentou a atividade das enzimas de estresse.

3.4 Efeitos da radiação solar sobre o crescimento das plantas

A energia solar é vital para a sobrevivência das plantas. A radiação solar ocorre no sistema superfície-atmosfera, e é composto por quatro componentes: a radiação solar incidente e refletida e a radiação emitida pela superfície e emitida pela atmosfera para a superfície (AIMI et al., 2018).

A radiação fotossinteticamente ativa (PAR do inglês – Photosynthetically Active Radiation) corresponde à faixa espectral da radiação solar de comprimento de onda de 0,4 a 0,7 μm (FINCH et al., 2004). É de suma importância para os processos fotossintéticos, uma vez que excita as moléculas de clorofila das plantas iniciando o fluxo de energia responsável pelo processo da fotossíntese, e tem grande importância nos estudos sobre a taxa de crescimento vegetal, condutância estomatal e taxa fotossintética (FRISINA et al., 2000).

Na agricultura, para a produção de mudas usa-se o sistema de cultivo protegido por plásticos (SGANZERLA, 1995). Esse tipo de cultivo tem como finalidade controlar o ambiente das plantas, no que se refere à radiação, temperatura e umidade do ar, e como consequência, aumentar o crescimento e melhorar o desenvolvimento das plantas (BECKMANN et al., 2006; SGANZERLA, 1995).

Entre os diversos tipos de plásticos utilizados nas estufas, os com mais destaque são os de polietileno de baixa densidade, que causam a difusão de luz, transformando a radiação solar direta em radiação difusa, sem alterar o espectro visível (FARIAS et al., 1993). Quando a radiação global externa incide na cobertura de polietileno, ocorre os processos de reflexão e transmissão. O que é refletido é perdido e o que é transmitido depende de fatores como espessura do filme plástico, tempo de uso, sujeiras na superfície, ângulo de incidência, entre outros fatores (MONTERO et al., 1985).

A radiação difusa é eficiente no processo de fotossíntese, pois abrange a área foliar de maneira uniforme, penetrando melhor entre as plantas (HUAWEL et al., 2010, LI et al., 2014) aumentando a produção em cultivo protegido (HEMMING et al., 2008b). Ambientes cobertos com materiais difusores também resultam em alterações no balanço de energia, temperatura, umidade e redução na transpiração (HEMMING et al., 2008a; KHOSHNEVISAN et al., 2013).

Os ambientes protegidos minimizam efeitos de chuva e granizo, que provocam danos mecânicos e fisiológicos as plantas (KHOSHNEVISAN et al., 2013). Quando

cultivadas em ambientes protegidos, as plantas apresentam maior resistência às doenças e são protegidas pelos ataques de insetos, o que acaba economizando com defensivos químicos (SGANZERLA, 1995). Existem distintas maneiras de se cultivar em ambiente protegido, como casa de vegetação, telados, túneis. O mercado está introduzindo o uso de mini túneis cobertos com plásticos, que trazem todos esses benefícios citados e estudos realizados pela empresa Aperam Bioenergia mostraram que os mini túneis aumentaram o enraizamento e a produção de mini estacas de eucalipto (APERAM, 2015).

Chavarria et al. (2007) realizaram estudo da incidência de algumas doenças em cultivo protegido de videiras, na área coberta com plástico impermeável translúcido foi necessário fazer apenas duas aplicações de fungicidas para controlar o oídio (*Uncinula necator* Schwein). Por outro lado, na área de controle convencional foram realizadas 17 aplicações de fungicida para controle de *U. necator*, durante um ciclo da videira.

Jacob et al. (2008) observaram baixa severidade de *Oidium neolycopersici* L. Kiss quando o cultivo de tomate era conduzido em ambiente protegido e nessas a temperatura atingia 35°C. Os autores concluíram que a combinação de alta temperatura e baixa umidade relativa talvez possa ajudar a diminuir a severidade do *O. neolycopersici* em tomates.

Tais estudos mostram que a cobertura de fato influencia no desenvolvimento das doenças de plantas. Dessa maneira outros estudos são necessários para comprovar o efeito da cobertura, principalmente na área florestal, onde tais estudos ainda são escassos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área experimental

O estudo foi conduzido na Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu, SP. O experimento de campo foi instalado no Viveiro Florestal (S 22°51.375' W 048°26.015') do Departamento da Ciência Florestal da UNESP, iniciou-se em maio de 2018 e encerrou-se em abril de 2019.

A cidade de Botucatu está localizada na região centro-oeste do Estado de São Paulo, Brasil. O município possui elevado gradiente de altitude, entre 400 m a 500 m na região mais baixa e entre 700 m a 900 m na região serrana, devido essa diferença de altitude ocorre variações na temperatura do ar e na precipitação. De acordo com a classificação Köppen, apresenta clima temperado quente (mesotérmico) úmido, com temperatura média do mês mais quente superior a 22°C (CUNHA, 2009). Sendo janeiro o mês mais úmido do ano e agosto é o mais seco (CUNHA, 2009).

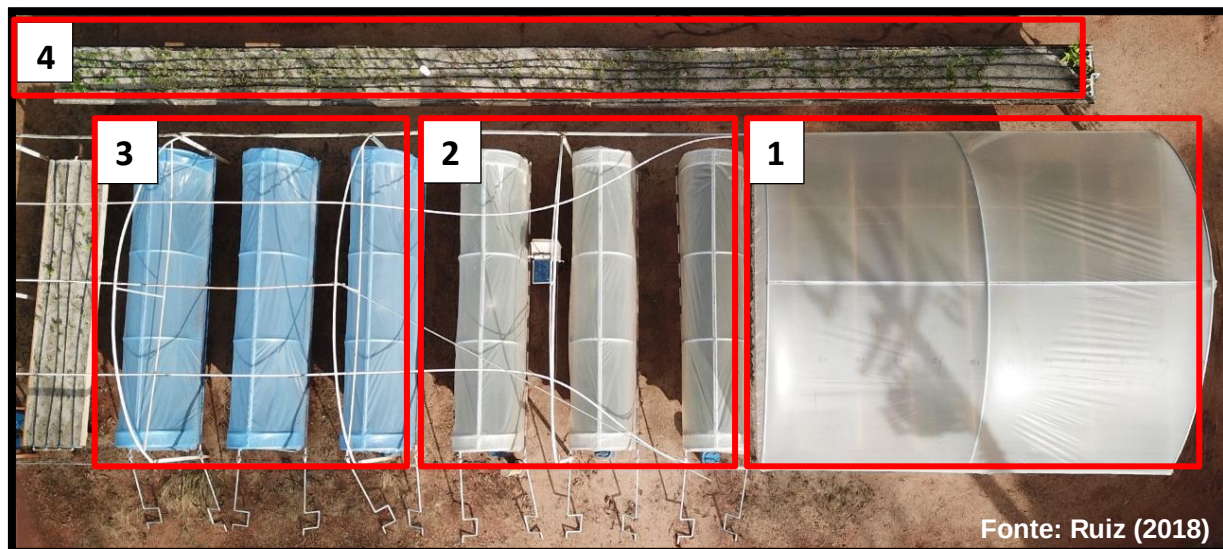
4.2 Delineamento experimental

O minijardim clonal localizado no viveiro foi composto por 12 canaletões de fibrocimento, suspenso a 1m de altura, com dimensões de 0,8 x 4,60 m e subdivididos em parcelas de 0,8 x 1 m (largura x comprimento). Os canaletões possuem inclinação de 1%, em seu interior com 8 cm de seixo rolado e 15 cm de areia, visando melhor drenagem.

O experimento foi composto de quatro tratamentos, quatro clones e três repetições, sendo que um canaletão representa uma repetição. Cada tratamento foi composto pelas seguintes ambientes de cultivo (Figura 1):

- a) Pé direito alto com cobertura de plástico branco difusor (PDA)
- b) Mini túnel com plástico branco difusor (MTB)
- c) Mini túnel com plástico azul difusor (MTA)
- d) Sem cobertura (DESC) – testemunha

Figura 1 - Vista aérea do experimento, mostrando os quatro tratamentos: 1. Pé direito alto com plástico difusor; 2. Mini túnel com plástico branco difusor; 3. Mini túnel com plástico azul; 4. Descoberto



O pé direito alto possuía estrutura com pé elevado, com dimensões 5,0 x 6,5 x 2,0 m (largura x comprimento x altura) com plástico difusor branco. Os mini túneis eram fechados, com estrutura tubular e dimensões de 0,9 x 4,60 x 0,80 m (largura x comprimento x altura), fabricada de aço galvanizado, plástico branco difusor e plástico azul, sendo que as especificações de cada um, de acordo com o fabricante, podem ser observadas na Tabela 1.

Os plásticos ou também chamados de filmes agrícolas, utilizados no experimento, são constituídos de polietileno extrusado em multicamadas, que protege as plantas contra os raios ultravioleta. Pelo fato de possuírem multicamadas, o plástico oferece resistência, versatilidade, transmissão e difusão de luz. O filme agrícola transmite a luz difusa e o tipo de comprimento de onda difere quando chega até as plantas.

Cada repetição foi composta por quatro parcelas e essas por quatro clones: IPB 13 (C2), IPB 02 (C3), I144 (C1) e "Toreliodora" (C4), os quais foram instalados de maneira inteiramente casualizada, de acordo com a Figura 2.

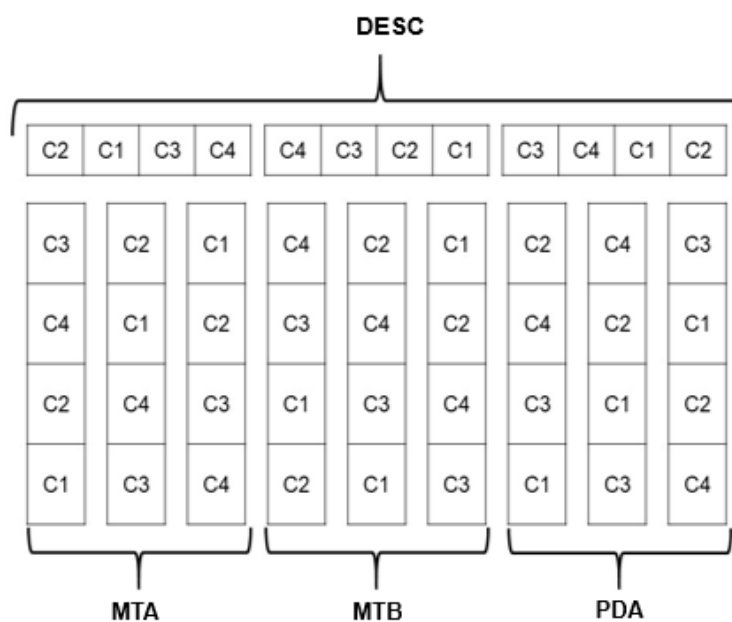
Cada parcela foi composta por 35 cepas, com espaçamento de 15 cm entre linhas e 10 cm entre as cepas.

Tabela 1 - Informações dos plásticos difusor branco e difusor azul de acordo com a Ginegar Polysack Brasil

Características	Branco (https://www.ginegar.com.br/galeria/C655.pdf)	Azul (https://www.ginegar.com.br/galeria/C699.pdf)
Espessura	150 microns	150 microns
Transmissão de Luz PAR	85%	78%
Difusão de Luz PAR	55%	67%
Informações	Antiestático: menor acúmulo de poeira; Proteção contra raios UVA/UVB: contra degradação por raios; Confeccionado em 5 camadas.	Antiestático: menor acúmulo de poeira; Fotoconversão: maior taxa fotossintética e maior transmissão de radiação PAR; Proteção contra raios UVA/UVB; Confeccionado em 5 camadas

Fonte: Ginegar (2019)

Figura 2 - Croqui do experimento mostrando a ordem dos clones em todos os tratamentos: Pé direito alto (PDA), Minitúnel branco (MTB), minitúnel azul (MTA), Descoberto (DESC)



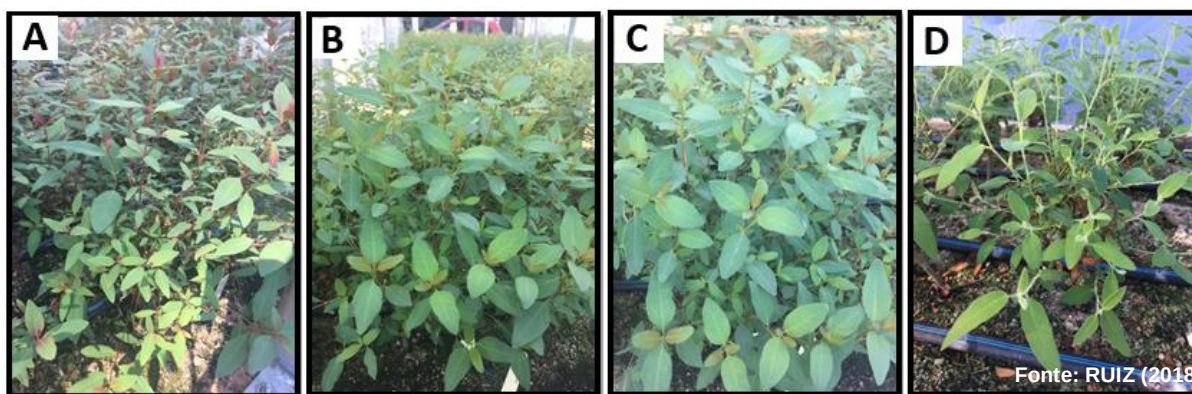
Fonte: RUIZ (2018)

Os clones utilizados nesse experimento são materiais genéticos já usados pelas empresas florestais no Brasil, devido a suas características físicas, silviculturais e tolerância a algumas pragas e doenças, além de mostrarem diferentes desempenhos na produtividade e no enraizamento de estacas.

O clone AEC I144 é um híbrido natural de *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake com alta capacidade de rebrota, possui volume de 45 m³/ha/ano e é tolerante à ferrugem e *Ceratocystis* sp. e ao déficit hídrico. O material genético IPB 02 (H15) e IPB 13 (H1069) são híbridos de *E. urophylla* x *E. grandis* Hill ex Maiden com volume de 35 a 45 m³/ha/ano e são considerados tolerantes à ferrugem, *Ceratocystis* sp. e *Ralstonia* sp. O “Toreliodora” é um híbrido de *Corymbia toreliana* Hook. x *Corymbia citriodora* F. V. Muell, mais indicado para serraria e uso múltiplo.

Os clones de eucalipto utilizados neste experimento pertencem a diferentes empresas: I144 (ArcelorMittal), IPB13 e IPB02 (ArboGen) e “Toreliodora” (Aperam) (Figura 3).

Figura 3 - Clones de eucalipto utilizados no experimento. A) I144; B) IPB02; C) IPB13 e D) “Toreliodora”



A irrigação e a nutrição mineral das cepas conduzidas no jardim clonal foram efetuadas por sistema automatizado de fertirrigação por gotejamento com quatro aplicações ao dia, com vazão de 1,6 L⁻¹ h⁻¹. A lâmina de irrigação média foi de 4,7mm no inverno e 5,3mm no verão. A solução nutritiva e os fertilizantes estão descritos nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 - Solução nutritiva aplicada nas mudas de eucalipto no minijardim clonal durante o período de avaliação do experimento de acordo com as estações do ano

Nutriente	Quantidade/Estação do ano ($\text{mg}^{-1} \text{L}^{-1}$)	
	Inverno/Outono	Verão/Primavera
N	194,2	134,8
P	27,3	27,3
K	160,0	160,0
Ca	160,0	160,0
Mg	41,8	41,8
S	57,2	57,2

Tabela 3 - Fertilizantes utilizados para o preparo da solução nutritiva aplicada no minijardim clonal de eucalipto durante o período de avaliação do experimento

Fertilizante	Fórmula
Nitrato de Ca	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Cloreto de K	KCl
Nitrato de K	KNO_3
MAP	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
Sulfato de Magnésio	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Ferro 13%	$\text{FeNa}_3\text{H}_2\text{O}$
Ácido Bórico	H_3BO_3
Sulfato de Cobre	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Sulfato de Zinco	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Sulfato de Manganês	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Molibdato de Sódio	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

As cepas foram podadas a cada 14 dias, sendo retirados os brotos com padrão de 7 cm de comprimento.

4.3 Identificação do patógeno

A fim de realizar a identificação em nível de gênero e espécie, foi realizada a caracterização molecular do agente causador do oídio do eucalipto. Para isso, foi

realizado o sequenciamento de regiões de interesse do patógeno presente nas folhas de eucalipto do minijardim clonal.

Para a realização da extração de DNA, com o auxílio de um pincel com cerdas macias realizou-se a raspagem da camada esbranquiçada na parte adaxial das folhas (Figura 4) e armazenadas em microtubo de 1,50 mL. Posteriormente, seguiu-se o protocolo de extração do DNA seguindo o protocolo CTAB 10% conforme descrito por Doyle e Doyle (1991). As amostras de DNA Genômico extraído foram quantificadas através da utilização do equipamento de NanoDrop®, apresentando concentração média de 400 a 500 ng μL^{-1} e posteriormente foi realizada a diluição dessas para 10 ng μL^{-1} . Seguidamente, as amostras foram submetidas à reação em cadeia polimerase (PCR), para amplificação da região ITS-5.8S do rDNA-600bp com os primers ITS1 (5' -T TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3') e ITS4 (5' -TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC - 3') de acordo com Willians et al. (1995). Para a amplificação, em termociclador dos dois primers, foi feito um programa padrão para fungos patogênicos. Utilizou-se de uma desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, seguidas por 30 ciclos de desnaturação a 95°C por 30 segundos, amplificação a 56°C por um minuto e alongação a 72°C por 1 minuto, com a finalização de uma alongação a 72°C por 10 minutos seguindo as temperaturas. Posteriormente, foi feito o gel de agarose a 1% para confirmação da amplificação da região de interesse.

Figura 4 - Sintomas do oídio em eucalipto no minijardim clonal coletados para identificação a nível molecular



Fonte: RUIZ (2018)

Após a confirmação, as amostras foram enviadas para o sequenciamento no Instituto de Biotecnologia da UNESP/Botucatu. As sequências nucleotídicas obtidas foram comparadas com as depositadas no GenBank, através do endereço eletrônico (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

4.4 Elaboração da escala diagramática de *P. pannosa* para eucalipto

Foi desenvolvida e validada a escala diagramática para quantificar o oídio do eucalipto em viveiro.

No laboratório de Patologia Florestal, da FCA, as folhas foram digitalizadas em scanner de mesa com resolução de 300 dpi. Em computador, através do programa QUANT® (VALE et al., 2003), determinou-se a área total da folha e a área lesionada das imagens. Baseando-se na lei acuidade visual de Weber-Fechner, determinou-se o valor máximo, mínimo da severidade da doença e a escala diagramática foi confeccionada de acordo com a forma, distribuição e frequência das lesões (HORSFALL e COWLING, 1978). Como a área total da folha foi determinada usando reconhecimento de formas, foi possível calcular a área total e a porcentagem da área sadia e da área doente.

Para os testes de validação da escala diagramática, foram selecionadas 60 imagens de folhas de eucalipto digitalizadas, abrangendo diferentes níveis de severidade. A escala foi validada por 10 avaliadores, que não possuíam conhecimento sobre uma escala diagramática.

As imagens de folhas de eucalipto selecionadas, foram projetadas para os avaliadores utilizando o Programa Power Point 2016, por 15 segundos cada folha, em duas etapas: a primeira observação foi realizada sem o uso de uma escala diagramática, onde os avaliadores realizaram a avaliação colocando um valor, expresso em porcentagem. Na segunda etapa, os avaliadores receberam a escala diagramática proposta para referência, e estimaram a severidade nas mesmas imagens avaliadas anteriormente. Dessa maneira, foi determinado o desempenho dos avaliadores quanto à precisão das estimativas obtidas.

A acurácia e precisão das estimativas visuais de cada avaliador foram determinadas pela análise de regressão linear simples, considerando a severidade real como variável independente e a severidade estimada, como variável dependente. A precisão dos avaliadores nas avaliações com e sem escalas, foi avaliada calculando

o coeficiente de determinação (R^2), considerando que quanto mais próximo de um, maior a precisão. As análises de regressão linear foram realizadas com o auxílio do Microsoft Excel 2016.

4.5 Avaliações

4.5.1 Severidade de *P. pannosa*

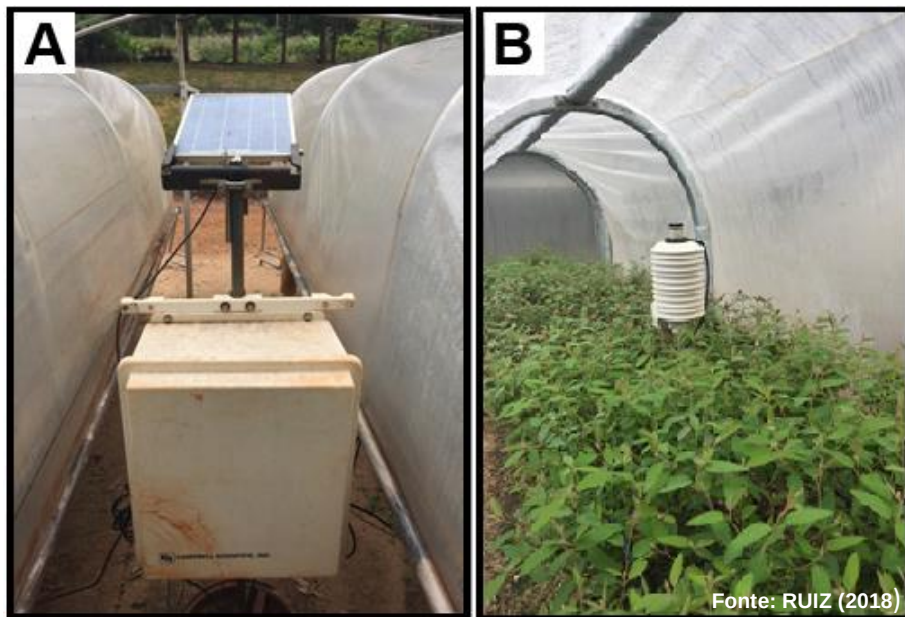
A avaliação da severidade de *P. pannosa* foi efetuada durante 12 meses (maio de 2018 a abril de 2019), avaliando as 15 cepas centrais, sendo quatro folhas de cada cepa do terço médio (3° e 4° par de folhas). Utilizou-se a escala diagramática realizada para verificar a porcentagem de área lesionada pelo oídio, para assim compreender o comportamento da doença ao longo do período de avaliação.

4.5.2 Monitoramento das variáveis meteorológicas

Durante o desenvolvimento do experimento foram feitas medições de radiação fotossinteticamente ativa (PAR), temperatura, umidade relativa do ar (UR) e chuva nos quatro diferentes ambientes. Essas medições iniciaram-se em maio de 2018 e encerraram em abril de 2019.

Essas medidas foram realizadas por meio dos sensores Vaisala (termohigrômetro HMP50 + abrigo multiplaca RM Young modelo 41002) instalados no interior dos mini túneis e do pé direito alto, ligados a um micrologger do modelo CR23X (Campbell Scientific, 23 Inc) e para a radiação utilizou um equipamento do modelo CMP3 com espectro de medida de 310 a 2800nm, da marca Kipp & Zonen (Figura 5). No tratamento descoberto realizou-se o monitoramento dos mesmos, incluindo a chuva, mas utilizando os dados da estação meteorológica instalada no Departamento de Ciência do Solo e Recursos Ambientais, FCA, UNESP, Botucatu/SP.

Figura 5 – Sensores instalados no experimento. A) Abrigo multiplaca RM Young modelo 41002; B) Sensor instalado dentro do minitúnel



Todos os dados foram medidos a cada cinco segundos, sendo registrada a média dos valores a cada 30 minutos. A cada 30 dias os dados eram descarregados em microcomputador.

4.5.3 Análise do teor de nitrogênio

Folhas do terço médio (3° e 4° par de folhas) das cepas de cada tratamento foram coletadas em março/18, julho/2018 e fevereiro/2019 para os diferentes clones, constituindo 16 amostras compostas, destinadas às análises de nitrogênio foliar. Depois de coletadas, as amostras foram secas em estufa a 60°C até atingirem peso constante e moídas em moinho tipo Willey (peneira de 20 mesh). A análise química foi realizada no Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA para avaliação do teor de nitrogênio foliar.

4.5.4 Análises bioquímicas

As análises das enzimas foram conduzidas no laboratório de Química e Bioquímica Vegetal do Instituto de Biociências, UNESP – campus Botucatu. As análises realizadas durante o experimento seguiram os protocolos segundo Broetto, 2014.

4.5.4.1 Coleta e armazenamento do material vegetal

As amostras de tecido vegetal (40 folhas/clone) para as análises bioquímicas foram coletadas, mensalmente, no período da manhã. O material vegetal fresco era acondicionado em envelope de papel alumínio e posteriormente submerso em nitrogênio líquido e, após, mantidas em ultrafreezer a -80°C, até o momento da realização das análises propostas.

4.5.4.2 Procedimentos para obtenção do extrato bruto

Para o processamento, essas folhas foram maceradas em almofariz com pistilo utilizando nitrogênio líquido, até a obtenção de um pó fino. Posteriormente foi realizado a pesagem desse material vegetal, transferidos para um microtubo de 2 mL e armazenados em ultrafreezer a -80°C.

Os extratos foram utilizados para as análises da proteína solúvel total, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e peroxidase. O processamento para obtenção do extrato bruto foi por meio da ressuspensão do material vegetal moído (300mg) e 200 mg de PVPP (Polyvinylpolypyrrolidone) em 5 mL de solução tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8. Foi realizada a maceração e a solução transferida para o tubo Falcon e então levados para centrifugação por 15 minutos a 6000 x.g. O sobrenadante foi coletado com pipeta, acondicionado em microtubo de 2 mL e armazenados novamente em ultrafreezer a -80 °C.

4.5.4.3 Determinação do teor de proteína

Para a análise da concentração de proteínas solúveis totais nos tecidos vegetais foi utilizado o extrato obtido, utilizando o método descrito por Bradford (1976), realizado em duplicata. Para a proteína padrão utilizou-se a albumina de soro bovino (BSA).

4.5.4.4 Atividade de enzima Superóxido Dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)

A determinação da atividade da SOD considera a capacidade desta em inibir a fotorredução do NBT (Azul de nitrotetrazólio cloreto). A atividade foi determinada pela

adição de 50 μL de extrato bruto a uma solução contendo 13 mM de metionina, 75 μM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 μM de riboflavina em 3,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8 (LONGO et al., 1993).

A reação iniciou-se pela iluminação dos tubos, em câmara composta por tubos fluorescentes (15 W), a 25°C. Após 5 minutos de incubação, o final da catálise foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS e RIES, 1977). Em seguida, o composto cinza formado pela fotoredução do NBT foi determinado por espectrofotometria com leitura a 560 nm, utilizando cubetas de plástico.

O tubo considerado branco para a análise recebeu o mesmo reagente, contudo foi coberto com papel alumínio, evitando o contato com a luz. Logo, uma unidade de SOD foi definida como a atividade da enzima necessária para a inibição de 50 % da fotoredução do NBT. Dessa maneira, para o cálculo da atividade da SOD, considerou-se a porcentagem de inibição obtida em função do volume da amostra e a concentração de proteína na amostra (mg mL^{-1}).

4.5.4.5 Atividade da enzima Peroxidase (POX; EC 1.11.1.7)

A atividade da enzima POX foi determinada pela diluição de 100 μL de extrato bruto em 4,9 mL de solução tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8 contendo 20 mM de Pyrogallol e 20 mM de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A reação ficou incubada por 1 minuto e depois foi interrompida com 0,5 mL de H_2SO_4 . A leitura da absorbância foi realizada a 420 nm, utilizando cubetas de vidros. A atividade específica dessa enzima ($\mu\text{Kat } \mu\text{g Prot}^{-1}$) foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 2,47 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (PEIXOTO et al., 1999).

4.6 Análise estatística

Para avaliar a severidade do oídio foi elaborada a hipótese nula, onde não existe diferença da severidade de oídio entre os tratamentos. Inicialmente, realizou-se o teste de Shapiro-Wilk para determinar a normalidade dos dados e o teste de Kruskal Wallis. Se o valor de p-value fosse menor que 0,05, era realizado o teste de comparações múltiplas, avaliando se havia diferença entre os tratamentos e clones a 95% de significância de acordo com os valores numéricos disponibilizado pelo

programa. Quando o valor de p-value obtido estava acima de 0,05 aceitava a hipótese elaborada. Para observar qual clone apresentou maior severidade de oídio, realizou-se a unificação de todos os tratamentos e se aplicou o teste de Kruskal-Wallis. Este foi feito para descobrir qual tratamento demonstrou maior severidade, através da junção da média de todos os clones.

Para testar a hipótese de que as variáveis climáticas interferiram na severidade de oídio, utilizou-se técnicas de regressão múltipla, através dos modelos lineares generalizados com os valores sendo as variáveis dependentes e a temperatura, PAR, umidade e chuva como variáveis independentes. Além disso, calcularam-se os coeficientes padronizados dos modelos, e quanto maior o valor do coeficiente absoluto, mais importante é a variável para explicar o padrão (valores). Foram produzidos gráficos representando a relação entre a severidade de oídio com as variáveis climáticas de acordo com os modelos lineares generalizados. Para essas análises, usou a escala de nota de oídio de maio/18 até abril/19, período em que foram monitoradas as variáveis climáticas.

Foi testada a hipótese em que a quantidade de nitrogênio foliar não diferiu entre os tratamentos e clones. Para isso, realizou-se o teste de Kruskal-Wallis e quando o valor de p-value obtido era menor que 0,05, realizava-se o teste de comparações múltiplas e o valor acima de 0,05, aceitava a hipótese.

Para as análises enzimáticas, testou a hipótese de que as enzimas não diferiram entre os tratamentos e clones. Dessa maneira, realizou o teste de Kruskal-Wallis, quando o valor de p-value era menor que 0,05, realizava-se o teste de comparações múltiplas, para saber qual clone ou tratamento diferenciou de qual. Quando o valor de p-value era acima de 0,05, aceitava a hipótese.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R (R Core Team 2017). O teste de comparações múltiplas foi realizado com a função `kruskalmc` (`pgirmess`) (GIRAUDOUX, 2018).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação do patógeno

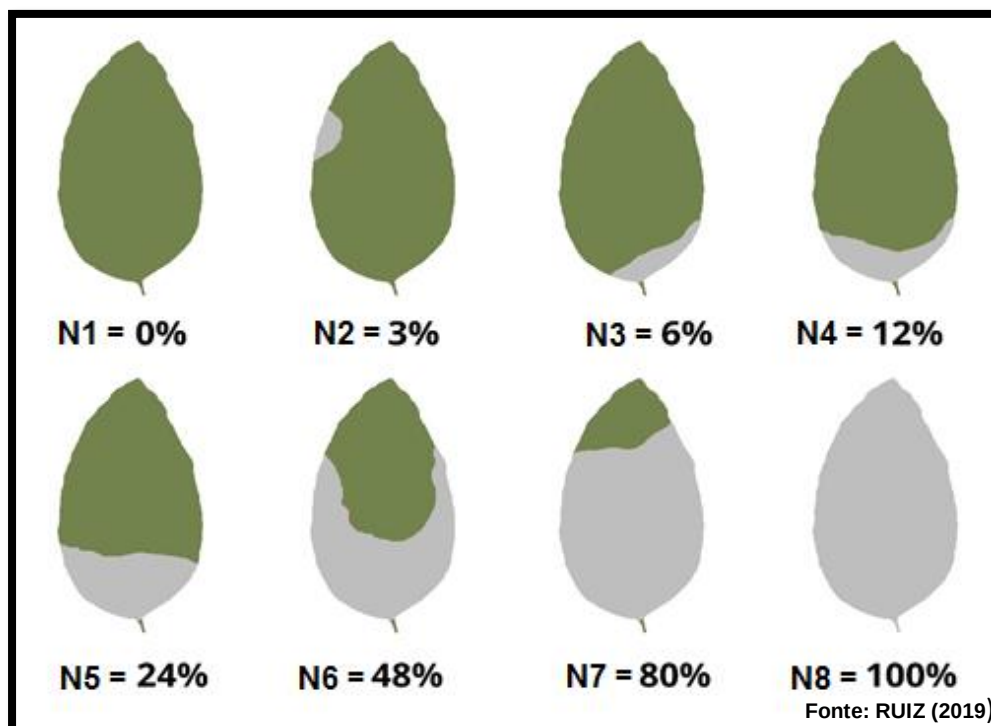
O resultado encontrado apresentou um valor de identidade de aproximadamente 99% e e-value = 0 para *Podosphaera pannosa*, com número de acesso MK432756.1, no sistema utilizado, GenBank.

5.2 Escala diagramática

A escala diagramática do oídio do eucalipto apresentou oito níveis de severidade, ou seja, notas variando de 1 a 8, com base na distribuição da amostra: N1 = 0% (sem sintomas ou sinais); N2 = 3%; N3 = 6%; N4 = 12%; N5 = 24%; N6 = 48%; N7 = 80%, N8 = 100%, exponencialmente, de acordo com a lei de Weber-Fechner (Figura 6).

A severidade mínima e máxima encontradas para a oídio em eucalipto foi de 3% e 100%, respectivamente, mostrando que é possível encontrar folha totalmente coberta pelo oídio.

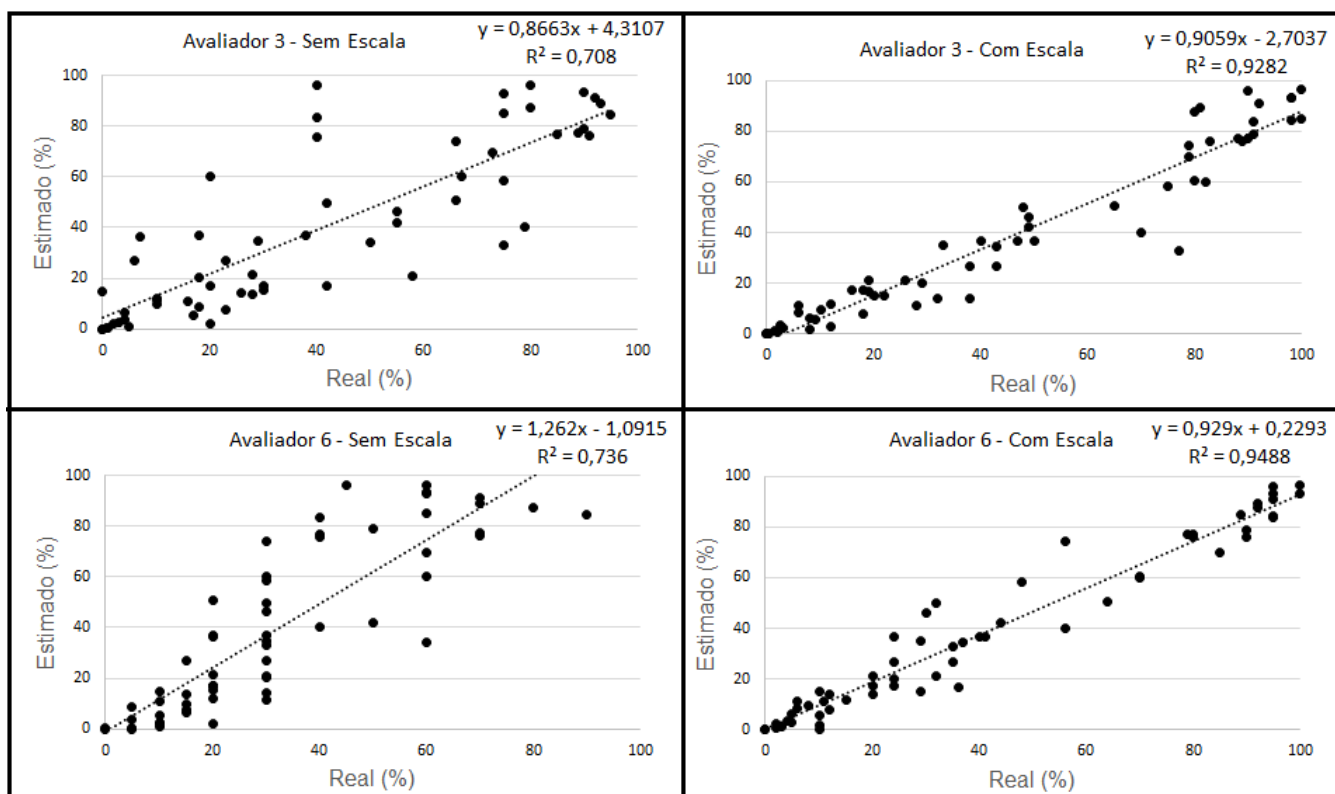
Figura 6 - Escala diagramática para avaliação da severidade de oídio do eucalipto causado pelo fungo *P. pannosa*. Valores em porcentagem da área foliar com sintomas (área cinza)



O valor máximo da severidade da doença não está de acordo com Valeriano et al. (2015), onde observou próximo de 50% a máxima severidade do oídio do eucalipto em folhas coletadas no viveiro. No mildio na soja, foi possível encontrar a doença em folhas com aproximadamente 90% de sua área coberta com fungo (KOWATA et al., 2008).

Para a validação da escala diagramática, os 10 avaliadores apresentaram estimativas adequadas, que podem ser visualizadas nos resultados da regressão entre a primeira e a segunda avaliação (com e sem escala). Na figura 7 observa-se as linhas de regressão obtidas entre a severidade real e a estimada dos avaliadores 3 e 6, pois foram os que demonstraram melhor precisão.

Figura 7 - Validação estatística da escala diagramática para avaliar a severidade de oídio no eucalipto. Os avaliadores 3 e 6 foram selecionados para representar a análise de regressão linear entre a gravidade real e estimada, com e sem a utilização da escala diagramática



Fonte: RUIZ (2019)

A validação da escala diagramática apresentou resultados bastante promissores, pois os 10 avaliadores apresentaram diferenças na percepção dos níveis de gravidade da doença. Os avaliadores não apresentaram boa acurácia sem a escala e com o uso

da escala, a acurácia foi maior. Isto pode ser observado no aumento dos R^2 quando a escala diagramática foi utilizada como auxílio para a avaliação (Tabela 4). Com o uso da escala diagramática proposta, todos os avaliadores melhoraram a precisão, aumentando a média do coeficiente de determinação (R^2) de 0,78 para 0,89.

Tabela 4 - Coeficientes de determinação obtidos de uma regressão linear simples entre os valores reais e estimados da severidade de oídio no eucalipto por dez avaliadores com e sem o uso da escala diagramática

Avaliador	R^2 (sem escala)	R^2 (com escala)
1	0,782	0,875
2	0,775	0,820
3	0,708	0,928
4	0,797	0,884
5	0,841	0,875
6	0,736	0,949
7	0,835	0,881
8	0,782	0,888
9	0,720	0,880
10	0,819	0,881

Fonte: RUIZ (2019)

Os valores estimados quando próximos aos valores reais, determinam a acurácia das avaliações. A acurácia é avaliada pela determinação do coeficiente de análise de regressão, que deve ser próximo de 1, e pela variação do erro absoluto (AMORIM et al., 2018). Dessa maneira, a escala diagramática desenvolvida resultou em melhor acurácia das estimativas realizadas, podendo ser usada para auxiliar na avaliação de oídio em eucalipto.

Os avaliadores apresentaram bons níveis de acurácia nas estimativas, semelhante ao confirmado na validação de escalas diagramáticas para oídio no mamoeiro (SANTOS et al., 2011), em castanhas do cajueiro (LIMA et al., 2017), em alface (CAMARA et al., 2018), em tomate (COSTA LAGE et al., 2015).

O trabalho de Del Ponte et al. (2017), aponta uma lista das melhores práticas de condução e validação de escalas diagramáticas para quantificar doenças de plantas, e a escala desenvolvida neste estudo, atende há vários itens presente nesta lista, como por exemplo o uso de plantas infectadas naturalmente, validação da escala e a aplicação da estatística na validação, mostrando o aumento da acurácia.

Os resultados demonstram a importância do uso de escalas diagramáticas no processo de avaliação de doenças. A importância está relacionada com o

desenvolvimento de métodos padronizados de avaliação da doença, indicando que quando a avaliação é realizada em diferentes momentos e por diferentes avaliadores, sempre apresentará um nível alto de precisão (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

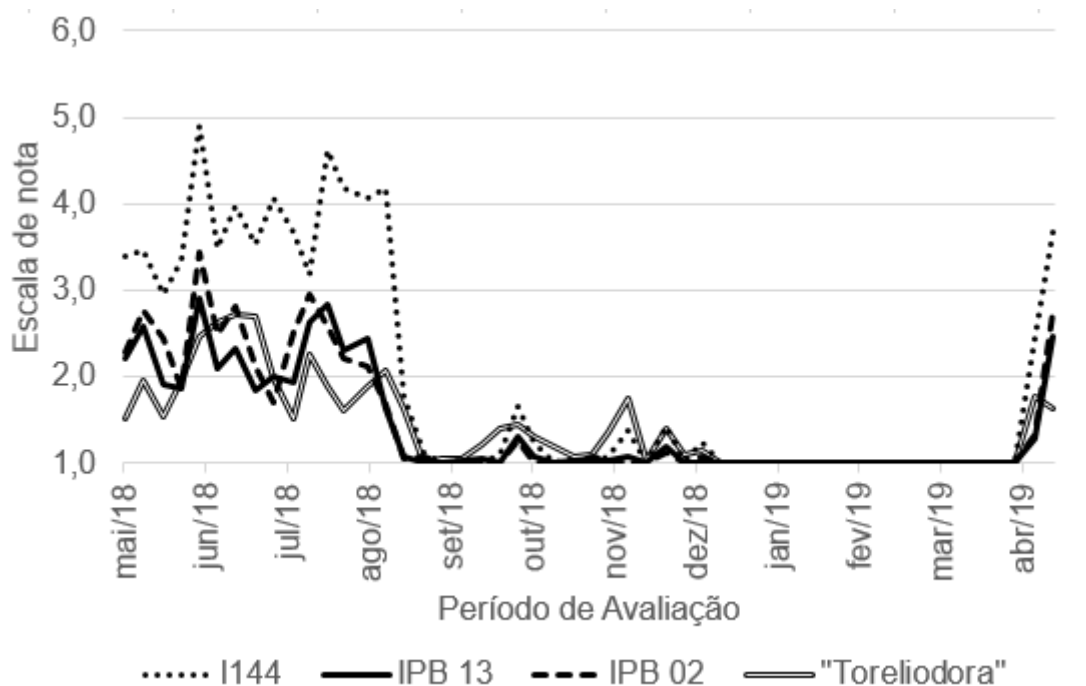
5.3 Severidade de oídio ao longo do período de avaliação

5.3.1. Descoberto

O pico de oídio para o minijardim descoberto ocorreu do mês de abril/18 até o fim do mês de agosto/18 para todos os clones, período em que ocorreu a epidemia de *P. pannosa*, com escala de nota média variando até 5. Em outubro, novembro e dezembro houve ocorrência da doença, porém a severidade foi baixa, enquanto de janeiro/19 a março/19 as plantas estavam livres de oídio. O clone I144 foi o que apresentou maior severidade de oídio quando comparada com os outros clones (Figura 8). Este tratamento mostrou o comportamento da epidemia aberta do oídio.

Freire e Viana (2001) reportaram que o *Pseudoidium anacardii* (oídio do cajueiro) expressa sua patogênese com maior intensidade de julho a dezembro.

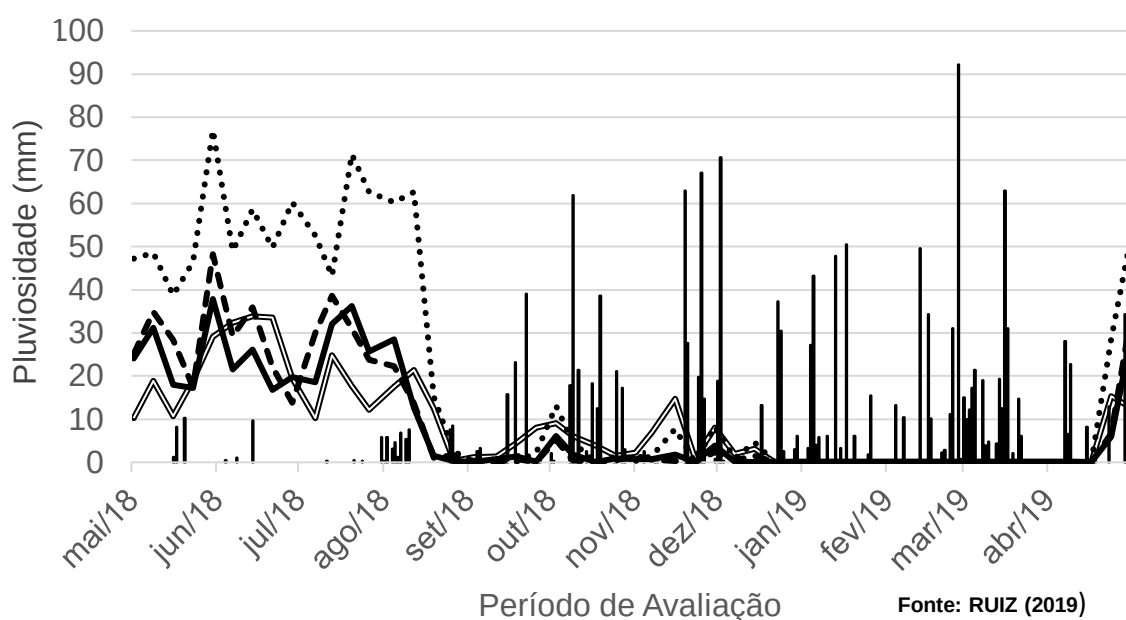
Figura 8 - Escala de nota média de oídio no eucalipto ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19) para o tratamento descoberto



Fonte: RUIZ (2019)

Na Figura 9 observa-se a pluviosidade ao longo do período de avaliação sobreposto ao comportamento do oídio no tratamento descoberto. O período mais seco coincidiu com o período da epidemia de oídio no viveiro de eucalipto, enquanto o período mais chuvoso foi quando ocorreu a ausência ou baixa severidade do oídio, conforme foi observado no tratamento descoberto. Segundo Santos et al. (2001), o oídio do eucalipto ocorre na época da estiagem, corroborando com o presente estudo.

Figura 9 – Sobreposição do gráfico do comportamento do oídio no tratamento descoberto sob a pluviometria na cidade de Botucatu, SP, ao longo do período de avaliação



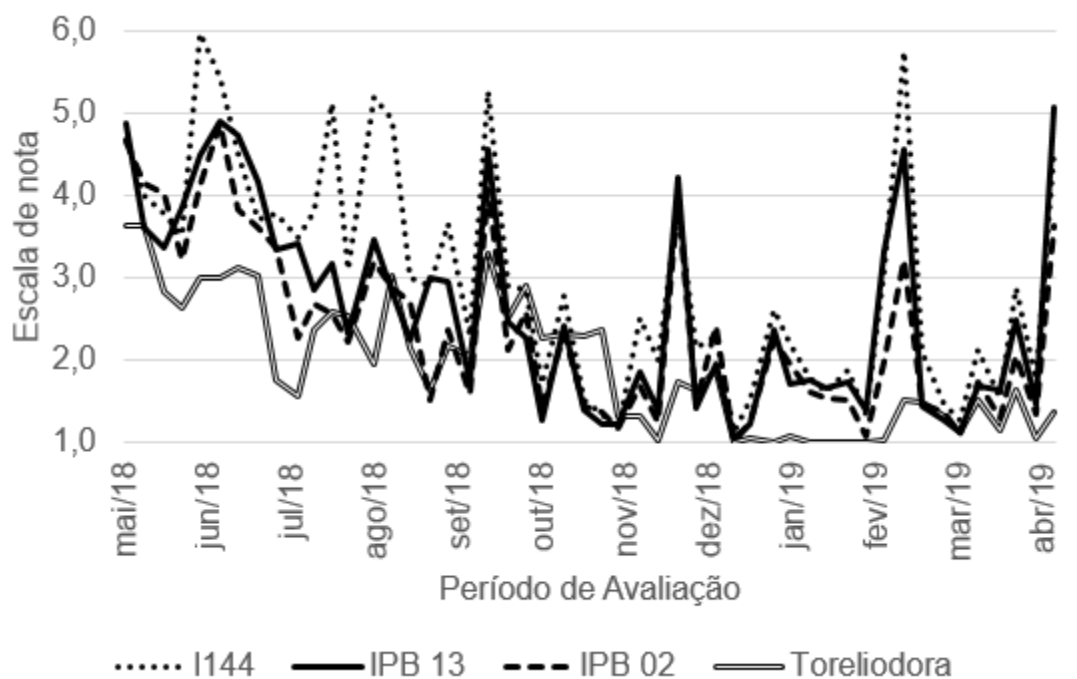
O potencial de inóculo de oídio pode ser diminuído quando ocorre em elevadas precipitações, devido à maior remoção ou lavagem da fonte de inóculo das folhas, diminuindo a infecção (SIVAPLAN, 1993). Como o oídio é um parasita obrigatório, com nenhuma capacidade saprofítica, a simples remoção do conídio da planta para o solo reduz a fonte de inóculo secundário no ambiente.

Boughey (1949) mostrou que, em todo o mundo, a incidência de oídio diminui à medida que a precipitação aumenta. Igualmente verificado no presente estudo, quando as chuvas diminuíram, a severidade de oídio aumentou e quando as precipitações estavam elevadas a severidade de oídio foi baixa ou ausente.

5.3.2. Pé direito alto

Para o tratamento pé direito alto, observa-se que no início do mês de maio/18 até o mês de julho/18 há um pico na severidade de oídio, com escala de nota média até 6,0. A partir de julho/18 até setembro/18 houve uma queda na severidade. De outubro/18 até abril/19 a severidade variou entre os clones, sendo que o I144 e o IPB13 mantiveram maior severidade quando relacionado com os outros clones. Mesmo que em baixa escala de nota, o oídio não foi ausente em nenhum período de avaliação para o pé direito alto (Figura 10).

Figura 10 - Escala de nota média de oídio no eucalipto ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19) para o tratamento pé direito alto

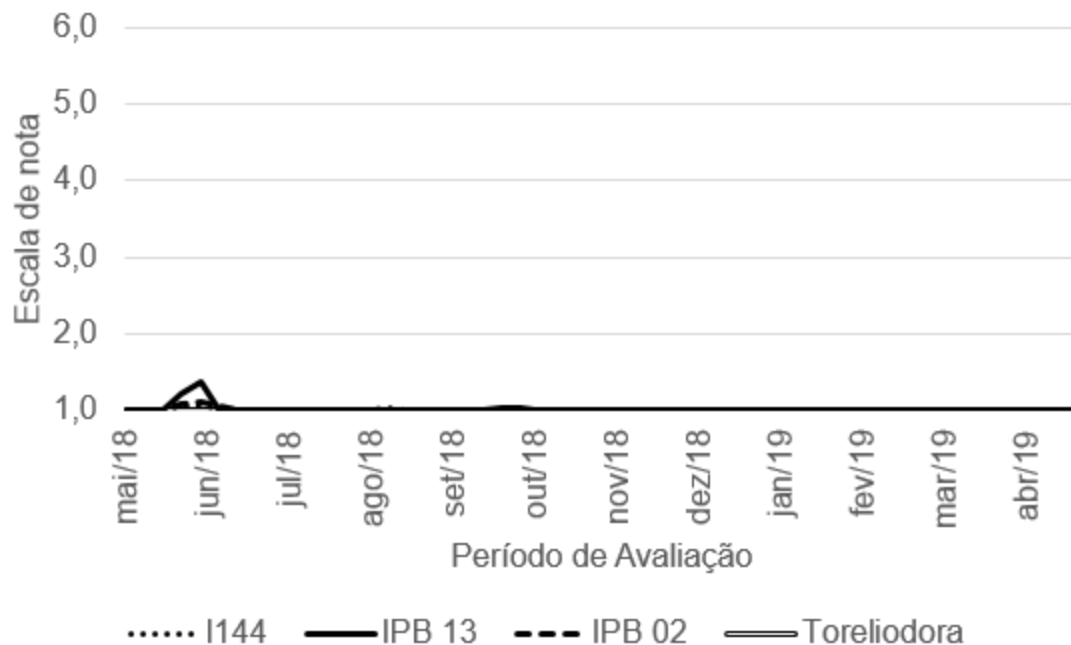


Fonte: RUIZ (2019)

5.3.3. Mini túnel branco

A severidade de oídio no mini túnel branco foi baixa, apresentando baixa escala de nota no mês de junho, com nota média menor do que 2, sendo a maior nota para o clone IPB 13. Enquanto que para o clone “Toreliodora” não houve ocorrência de oídio (Figura 11).

Figura 11 - Escala de nota média de oídio no eucalipto ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19) para o tratamento mini túnel branco

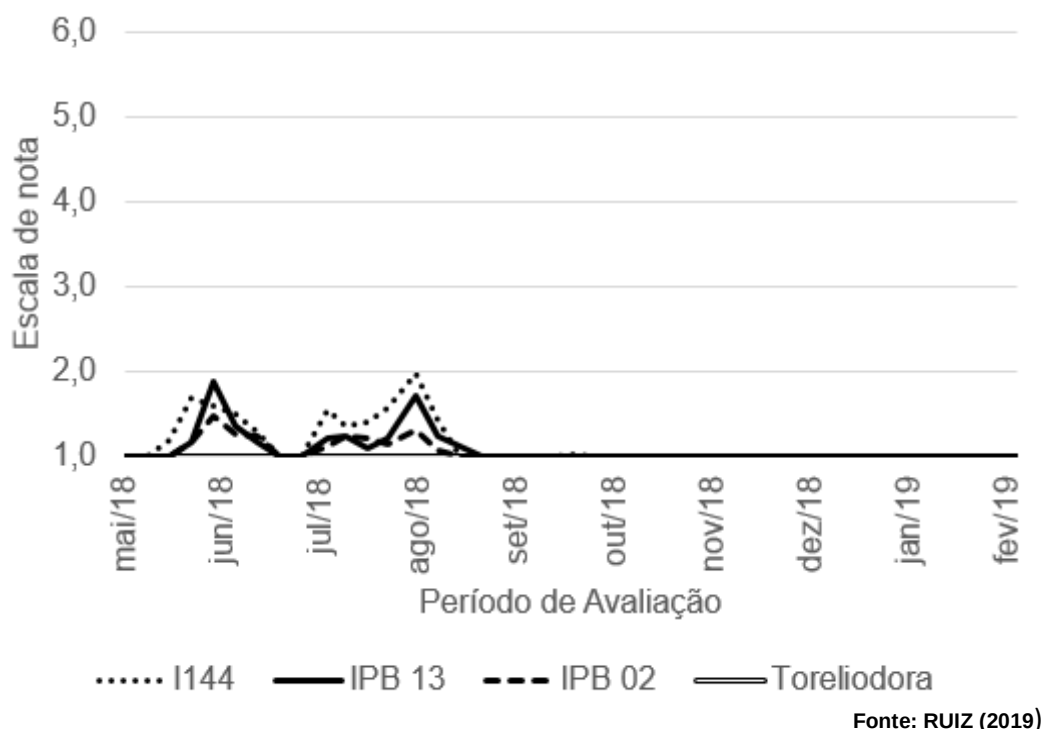


Fonte: RUIZ (2019)

5.3.4. Mini túnel azul

A média da escala de notas para o tratamento mini túnel azul durante o período de avaliação está representada na Figura 12. A severidade de oídio nesse tratamento foi baixa, não ultrapassou a escala de nota 2, apresentando baixa nota de oídio no período de junho a agosto, nos clones I144, IPB 13 e IPB 02, já o “Toreliodora” não apresentou oídio em nenhum período de avaliação.

Figura 12 - Escala de nota média de oídio no eucalipto ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19) para o tratamento mini túnel azul



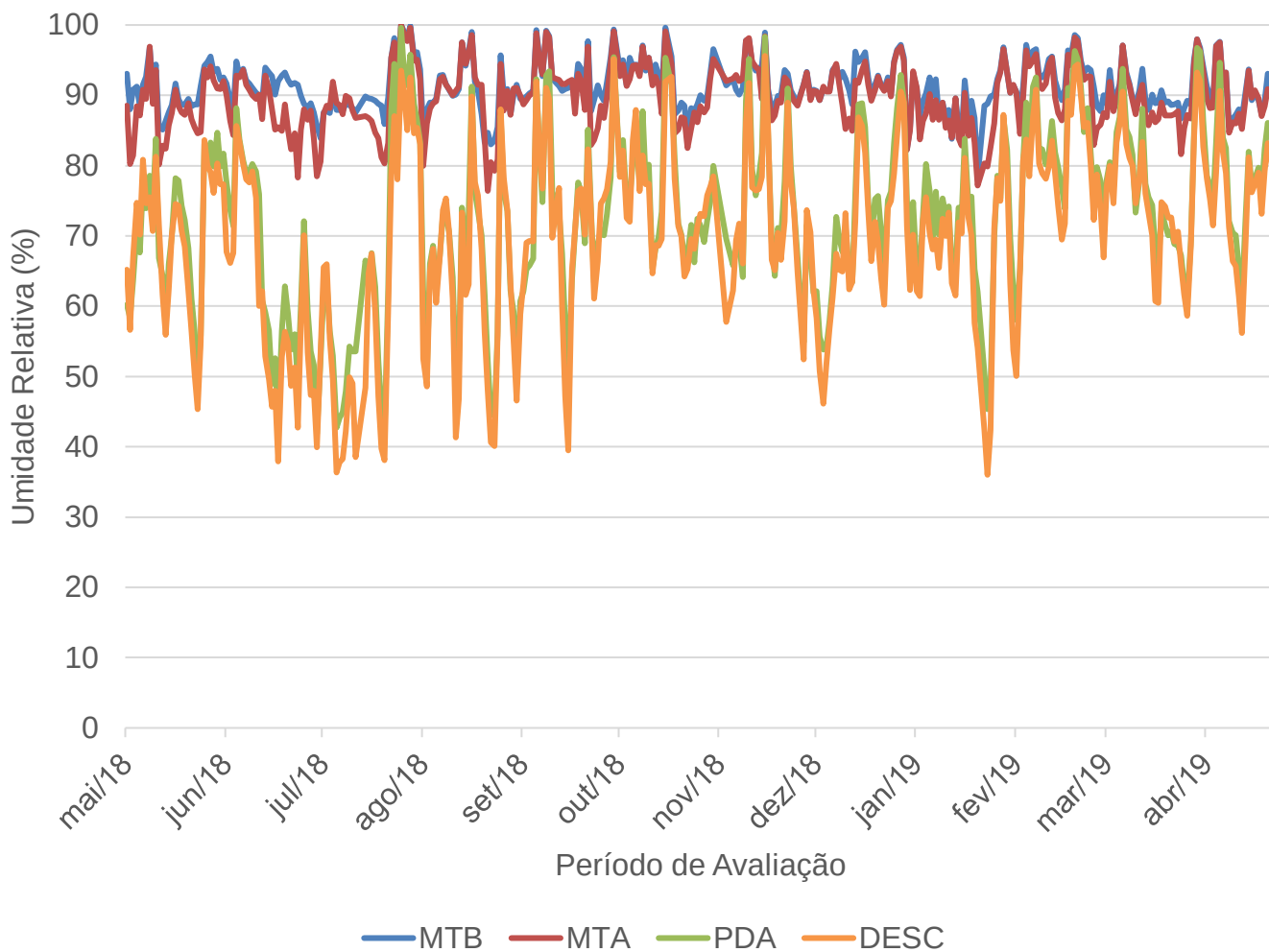
5.4 Variáveis climáticas

5.4.1 Umidade Relativa

O mini túnel branco e azul foram os que apresentaram maior umidade relativa, pois ambos eram ambientes fechados. O mini túnel branco apresentou maior umidade, com média de 91,31%, com variação de 80 a 100%, enquanto o mini túnel azul variou de 75 a 100%, com média de 89,74%, durante o período de avaliação (Figura 9).

Já os tratamentos descoberto e pé direito alto apresentaram menor umidade relativa, quando comparada com os mini túneis. A umidade do tratamento descoberto variou de 36 a 95%, com média de 69,84%. Para o tratamento pé direito alto, variou de 41 a 98%, com média de 72,4%, durante o período de avaliação (Figura 13). Ambos tratamentos apresentaram valores próximos, pois mesmo o pé direito alto com cobertura, havia abertura nas laterais, o que permitia circulação do vento.

Figura 13 - Umidade relativa média dos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (mini túnel branco) e PDA (pé direito alto) durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19)

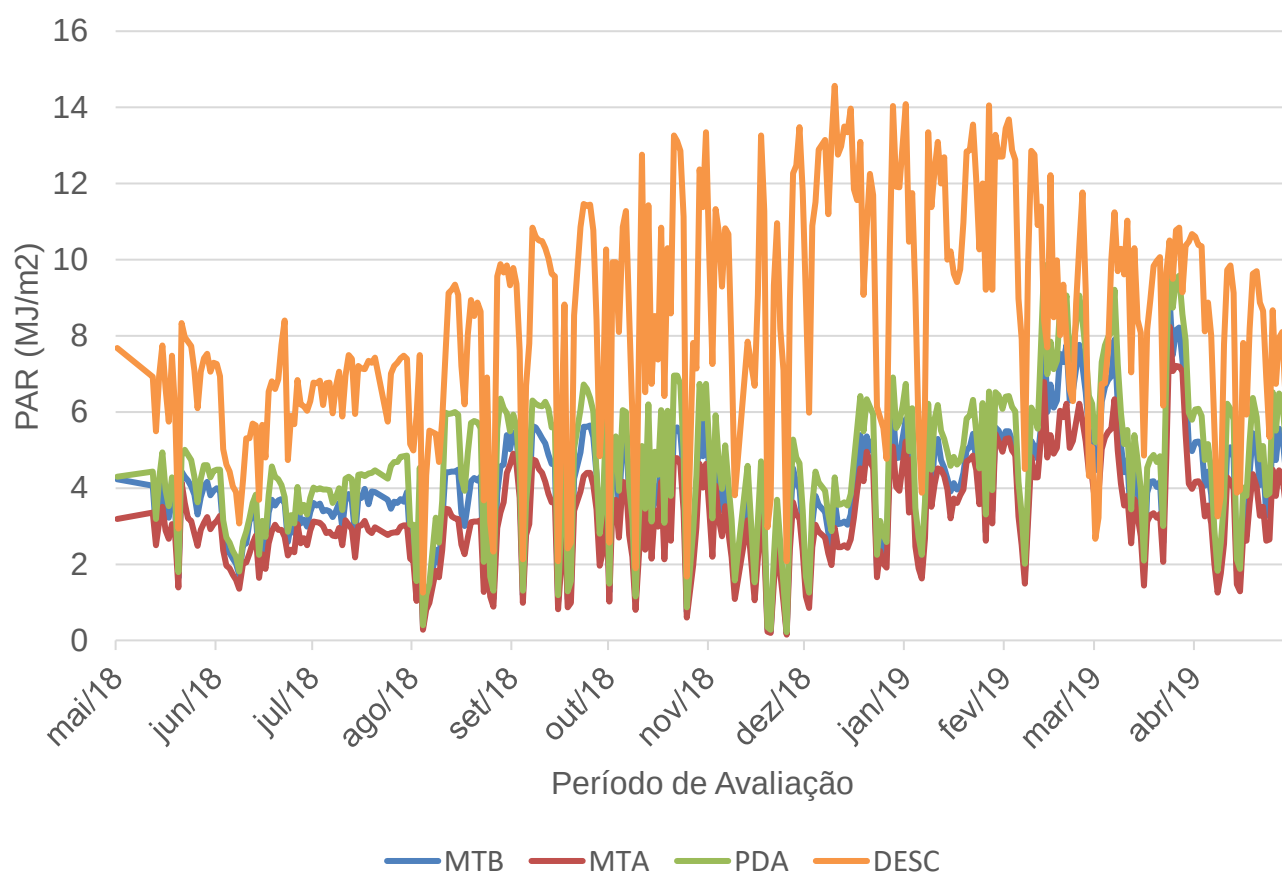


5.4.2. PAR

O tratamento descoberto foi o que apresentou maior PAR, com média de 8,43 MJ/m² e com variação de 1,5 a 14,5 MJ/m². A segunda maior radiação foi do tratamento pé direito alto, seguido do mini túnel branco e mini túnel azul. A média da PAR durante o período de avaliação para o tratamento pé direito alto foi de 4,68 MJ/m² e variou de 0,2 a 10 MJ/m². Para o mini túnel branco e mini túnel azul a variação foi de 0,4 a 8,5 MJ/m², enquanto suas médias foram de 4 MJ/m² e 3,29 MJ/m², respectivamente (Figura 14).

Mesmo o pé direito alto possuindo o mesmo plástico do mini túnel branco, este apresentou maior PAR por causa da entrada da radiação direta nas laterais. O mini túnel branco apresentou maior PAR em relação ao mini túnel azul devido a diferença na cor do plástico, sendo que o plástico azul retém mais radiação do que o plástico branco.

Figura 14 - Representação da PAR dos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (mini túnel branco) e PDA (pé direito alto) durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19)



5.4.3 Temperatura

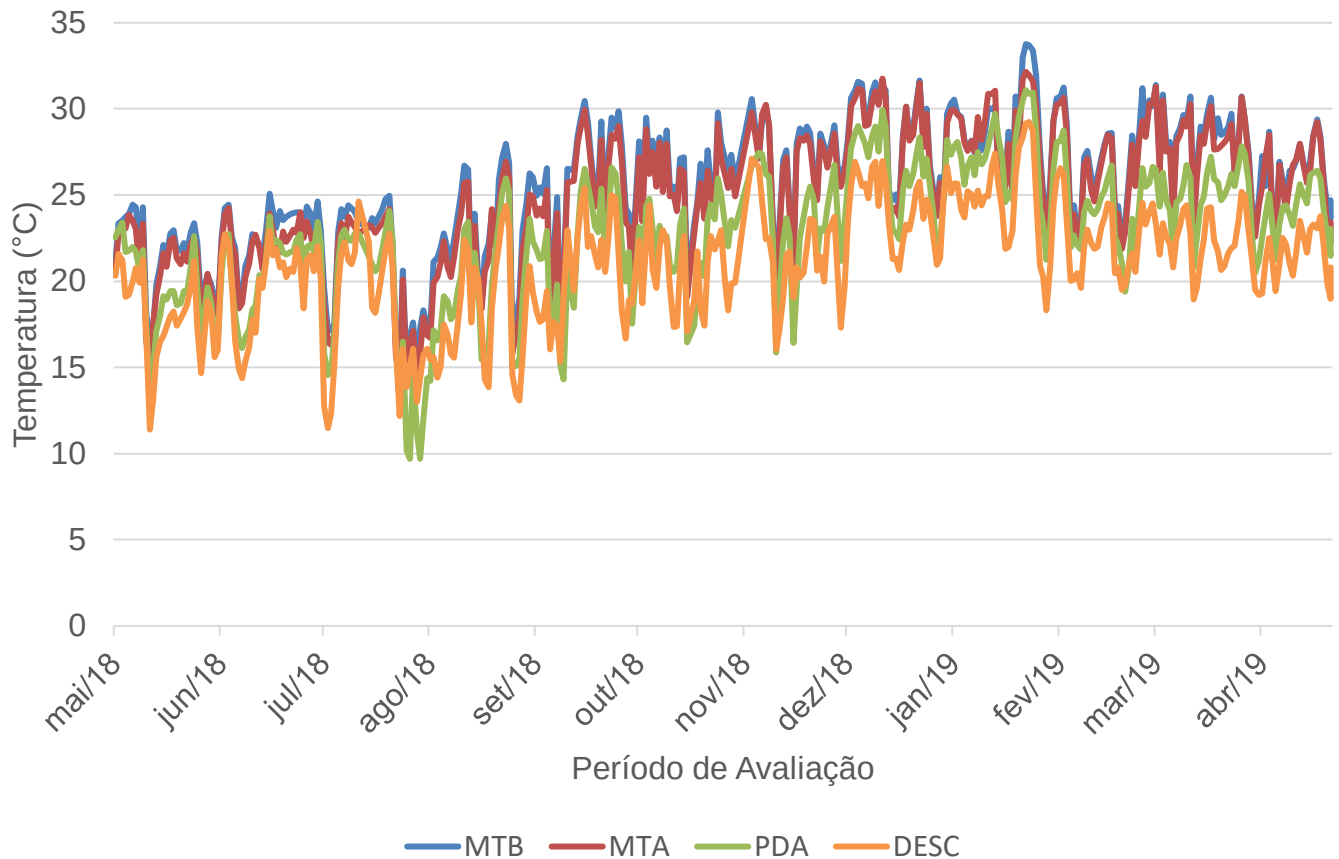
O tratamento descoberto foi o que apresentou menor temperatura, devido à ausência da cobertura, representando a temperatura natural do ambiente. O tratamento descoberto apresentou temperatura média com variação de 11 a 29°C e

a média de 20,94°C, durante o período de avaliação (Figura 15). A temperatura máxima registrada foi de 35°C, enquanto a mínima foi de 6,6°C.

A temperatura dos mini túneis (azul e branco) máxima registrada foi de 55°C e a mínima de 5°C. A alta temperatura foi registrada no período de janeiro de 2019, as 13h, enquanto a temperatura mínima registrou-se na madrugada do mês de julho de 2018. A temperatura média do mini túnel branco oscilou de 15°C a 33,5°C, com média de 23,63°C, enquanto a do mini túnel azul foi 22,8°C, variando de 14 a 32°C, durante esse período de avaliação (Figura 15). A temperatura do mini túnel branco permaneceu maior do que a do mini túnel azul, pois o plástico azul transmite menos luz PAR e absorve mais radiação, deixando sua temperatura menor. Em geral, os mini túneis apresentaram maior temperatura, pois dentro deles criou-se um microclima devido ser um ambiente fechado por plásticos.

O pé direito alto registrou temperatura máxima de 43°C e mínima de 1,3°C. A variação da temperatura média foi de 9,7°C a 31°C e com média de 20,5°C, durante o período de avaliação (Figura 15). O tratamento pé direito alto apresentou menor temperatura do que os mini túneis, mesmo com plástico em sua cobertura, devido à abertura nas laterais, o que permitiu maior circulação de ar e diminuiu a temperatura e umidade do ambiente.

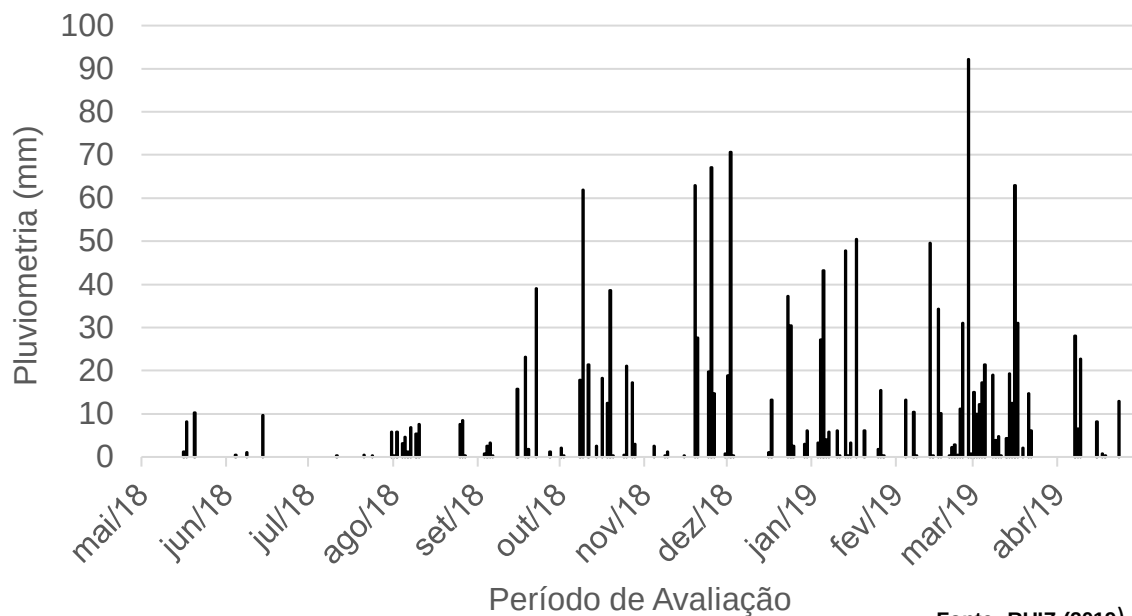
Figura 15 - Representação da temperatura média dos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (mini túnel branco) e PDA (pé direito alto) durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19)



5.4.4. Pluviometria

Na figura 16 observa-se a pluviometria durante o período de avaliação. No período de maio a agosto de 2018, as chuvas foram escassas, sendo um período mais seco, enquanto em setembro de 2018 até março de 2019 as chuvas tornaram-se frequentes e em maior quantidade.

Figura 16 - Pluviometria ao longo do período de avaliação do experimento (mai/18 a abr/19) na cidade de Botucatu, SP. Dados obtidos pela estação meteorológica instalada no Departamento de Ciência do Solo e Recursos Ambientais da FCA, Botucatu

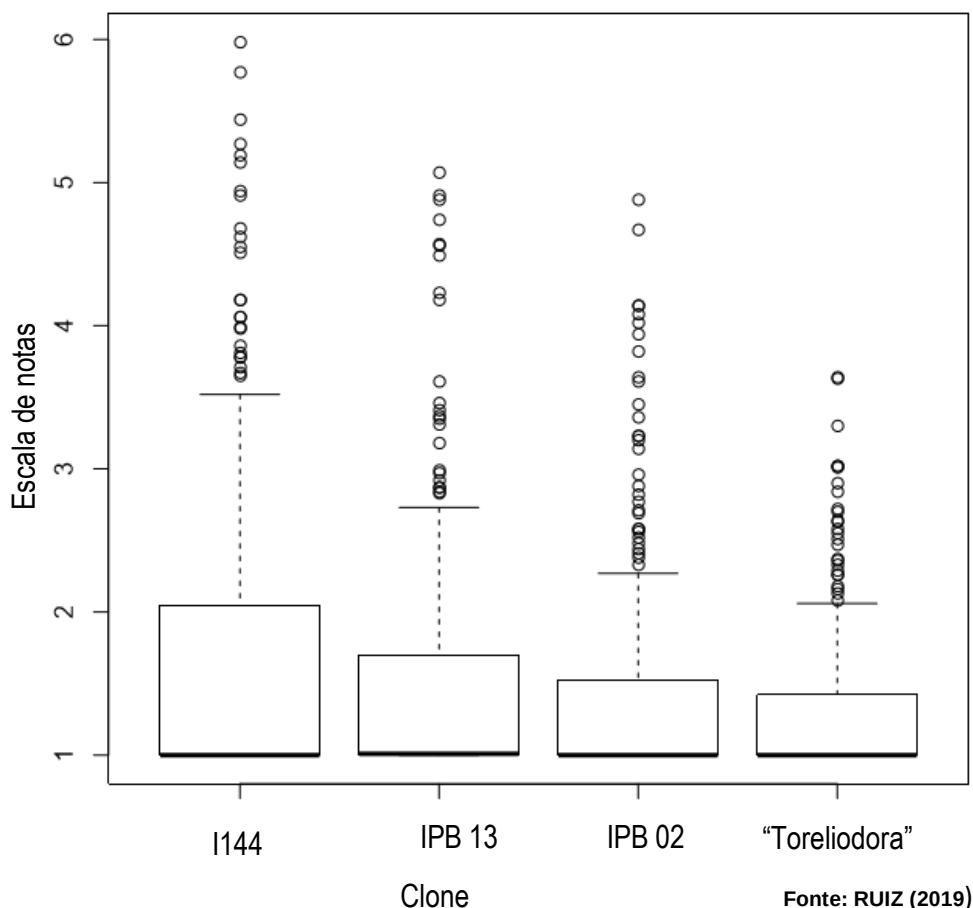


5.5 Severidade de oídio

Observa-se na Figura 17 a severidade de oídio nos clones quando agrupados todos os tratamentos. A ordem dos clones no boxplot mostra exatamente do ataque mais severo para o menos severo, observando que o clone I144 foi o mais infectado e o “Toreliodora” o menos infectado.

Para clone I144 sua variação média da escala de notas foi de 1 a 3,5 e com valores centrais de 1 a 2,1. O clone IPB 13, foi o segundo mais infectado pelo oídio, com valores variando de 1 a 2,8 e com valores centrais de 1 a 1,7 seguido do clone IPB 02, que apresentou variação média de 1 a 2,3 e valores centrais de 1 a 1,5. O clone “Toreliodora” apresentou variação de 1 a 2 e valores centrais de 1 a 1,4. No entanto, essas diferenças não são estatisticamente diferentes, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($p\text{-value} = 0,2069$).

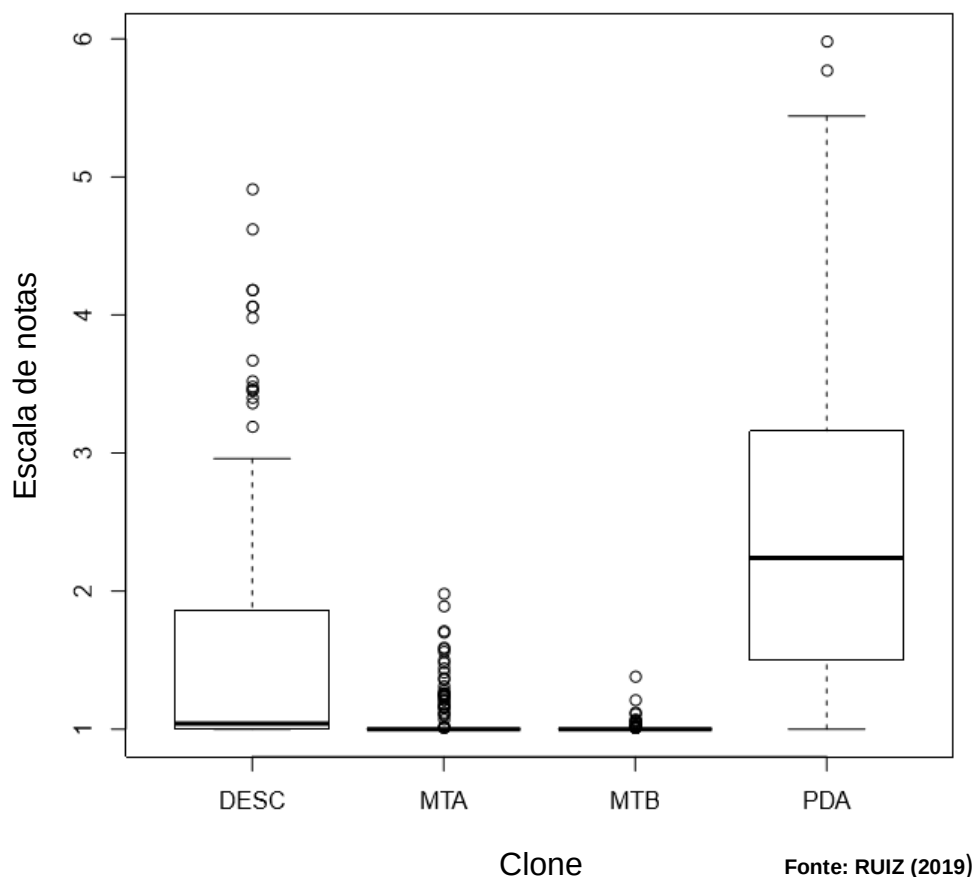
Figura 17 - Boxplots comparando a escala de notas de oídio em eucalipto para os clones I144, IPB 02, IPB 13 e “Toreliodora”. Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa à mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos



Na Figura 18, os boxplots mostram a escala de nota de oídio obtida para todos os tratamentos.

Para o tratamento pé direito alto observa-se variação de 1 a 5,5 e valores centrais de 1,5 a 3,2, com mediana de 2,2. Já o tratamento descoberto apresentou variação de 1 a 3, com valores centrais variando de 1 a 1,9 e mediana próxima a 1. Enquanto os tratamentos mini túnel azul e branco obtiveram mediana de valor 1, sem nenhuma variação nos valores centrais.

Figura 18 - Boxplots comparando as notas de oídio para os diferentes tratamentos PDA, DESC, MTA e MTB com o agrupamento de todos os clones. Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos



Com os dados acima, observamos que a severidade de oídio variou de um tratamento para outro e de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, houve diferença significativa entre os tratamentos ($p\text{-value} = 2,2 \times 10^{-16}$). O teste de comparação múltipla realizado entre todos os clones para a severidade de oídio, mostram estatisticamente que apenas os contrastes entre o MTA e MTB não apresentaram diferença significativa, enquanto os outros contrastes apresentaram diferença na severidade de *P. pannosa* (Tabela 5). Assim afirmamos que o pé direito alto foi o tratamento menos eficiente para o controle de oídio, seguido do descoberto. E os mini túneis foram os mais eficientes, apresentando baixa infecção sem diferenças significativas entre eles.

Tabela 5 - Teste de comparação múltipla entre os tratamentos para os clones I144, IPB 02, IPB 13 e “Toreliodora” para a severidade de oídio

Contrastes	Clones
Descoberto-Mini túnel azul	Sim
Descoberto-Mini túnel branco	Sim
Descoberto-Pé direito alto	Sim
Mini túnel azul-Mini túnel branco	Não
Mini túnel azul-Pé direito alto	Sim
Mini túnel branco-Pé direito alto	Sim

Sim: há diferença entre os tratamentos; Não: não há diferença entre os tratamentos.

Fonte: RUIZ (2019)

A média da severidade de oídio realizada para cada clone em cada tratamento pode ser observada na Figura 19.

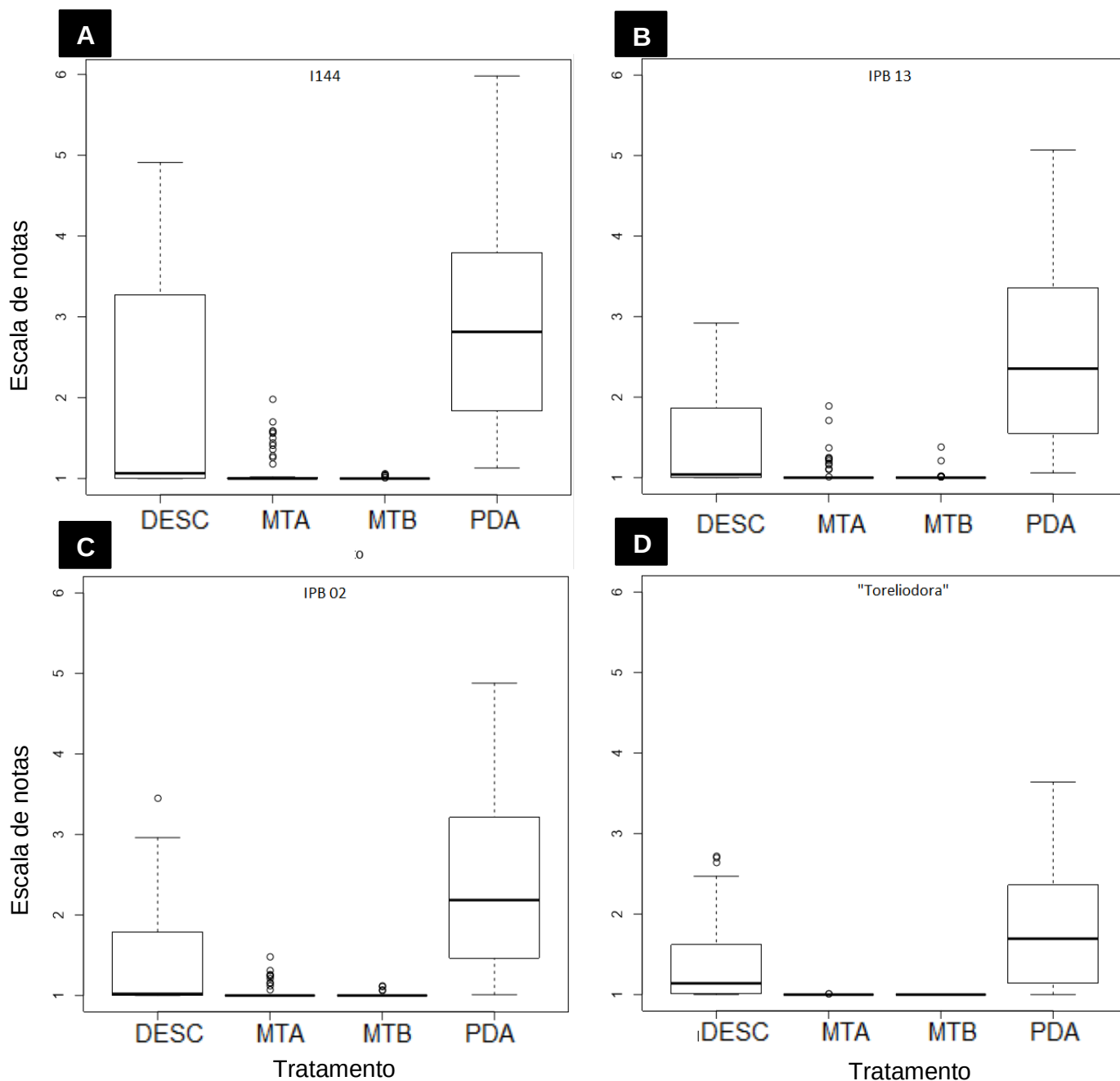
Para o clone I144 (Figura 19A), o tratamento pé direito alto foi o que apresentou maior severidade de oídio, variando de 1 a 6, com valores centrais de distribuição de 2 a 3,8 e com mediana de valor 2,8. Para o tratamento descoberto, a variância foi de 1 a 5, com valores centrais de distribuição de 1 a 3,3 e mediana de 1,1. O mini túnel azul e mini túnel branco obtiveram mediana 1, sem valores centrais de distribuição, devido à baixa severidade de oídio. O tratamento pé direito alto foi o que apresentou maior severidade de oídio nas cepas de eucalipto para o clone I144 e os mini túneis menor severidade.

Para o clone IPB 13 (Figura 19B), a severidade de oídio variou de 1 a 5,1 no tratamento pé direito alto, com mediana de 2,5 e valores centrais de distribuição de 1,5 a 3,4. O tratamento descoberto teve variância da severidade de 1 a 3, com valores centrais de distribuição de 1 a 1,9 e mediana de 1,1. Os mini túneis azul e branco apresentaram mediana 1, devido à baixa severidade de oídio. O tratamento pé direito alto apresentou a maior severidade de oídio para o clone IPB 13, seguido do descoberto e mini túneis.

O clone IPB 02 (Figura 19C) obteve no tratamento pé direito alto a variância da severidade de oídio de 1 a 5, com valores centrais distribuídos de 1,4 a 3,2 e mediana de 2,2. No tratamento descoberto a variância foi de 1 a 3, com valores centrais de 1 a 1,8 e mediana de 1,05. Já ambos os mini túneis apresentaram mediana 1, com baixa

severidade de oídio. O tratamento pé direito alto foi o com maior presença de oídio, seguido do descoberto, mini túnel azul e mini túnel branco.

Figura 19 - Boxplots mostrando a severidade de oídio em eucalipto, de acordo com a escala de nota, nos clones (A) – I144, (B) – IPB 13, (C) – IPB02, (D) – “Toreliodora” para os tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (mini túnel branco) e PDA (pé direito alto)



Fonte: RUIZ (2019)

O clone “Toreliodora” (Figura 19D) apresentou no tratamento pé direito alto a variância da severidade média de *P. pannosa* de 1 a 3,6, valores centrais variando de 1,2 a 2,3 e mediana de 1,8. O descoberto variou de 1 a 2,5, os valores centrais ficaram entre 1 e 1,7 e a mediana de 1,2. Enquanto os tratamentos dos mini túneis obtiveram mediana 1, sendo os tratamentos que controlaram a severidade de oídio, enquanto o PDA foi o que apresentou maior severidade, para o clone “Toreliodora”.

As cepas de eucalipto dentro dos minis túneis apresentaram baixa severidade de oídio, enquanto o material genético “Toreliodora” não foi infectado pelo oídio em nenhum momento durante o período de avaliação dentro dos mini túneis. Martins e Silveira (2014) constataram que as cepas do clone “Toreliodora” quando cultivadas em mini túnel são livres do oídio e além do mais as miniestacas apresentaram maior qualidade para enraizamento.

O “Toreliodora” também apresenta folhas coriáceas, embora o patógeno esteja depositado na folha, quando forma o seu tubo germinativo, ele apresenta dificuldade de encontrar as aberturas naturais para penetrar, o que acaba dificultando a infecção da planta pelo oídio.

Xiao et al. (2001) avaliou o crescimento de oídio (*Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae*) em morango comparando o campo aberto e o túnel coberto com plástico. Os túneis tinham tamanho de 15x5x3 m, cobertos com plástico transparente absorvente de UV e os painéis laterais eram abertos manualmente para facilitar o movimento do ar e controle da temperatura. O oídio foi significativamente maior em frutos de morango nos túneis do que no campo. A severidade da doença nas folhas não apresentou diferenças significativas. As condições ambientais para desenvolvimento dessa infecção pareceram ser diferentes para folhas e frutos. Os túneis podem ser comparados com o pé direito alto deste presente experimento, devido à abertura da lateral, onde também se observou maior severidade de oídio.

Burlakoti et al. (2013) estudou a epidemiologia do oídio (*Podosphaera aphanis*) em cultivares de morango sob campo aberto e de túneis elevados (8,5 m de largura, 4,25 m de altura, 45 m de comprimento). A incidência de oídio foi significativamente maior nos túneis elevados comparado com o ambiente aberto, a doença foi favorecida pela temperatura alta, baixa intensidade de luz e baixa umidade, pois esses túneis eram abertos nas laterais. No presente ensaio, o tratamento pé direito alto é considerado um túnel elevado e foi o qual apresentou maior severidade de *P. pannosa*

em eucalipto, justamente devido aos mesmos fatores observados pelos autores citados.

5.6 Influência das variáveis climáticas sobre a severidade de oídio

O aparecimento e desenvolvimento de doença dependem de três fatores: hospedeiro suscetível, ambiente favorável e o agente patogênico. Destes componentes, apenas o ambiente apresenta alterações importantes e frequentes ao longo do ano. O ambiente é responsável por modular o desenvolvimento das epidemias, podendo até mesmo impedir a sua ocorrência mesmo quando há presença de hospedeiros suscetíveis e patógenos virulentos (AMORIM et al., 2018). Como foi observado, o oídio apresentou comportamentos diferentes quando mudou o seu ambiente (diferenças entre os tratamentos utilizados).

Sobre a variável climática monitorada que mais interferiu a severidade de oídio no tratamento descoberto foi a PAR, pois apresentou os maiores valores dos coeficientes padronizado (Tabela 6), sendo que os valores estão negativamente correlacionados, significando que as variáveis climáticas movem em direção oposta dos valores do coeficiente.

Tabela 6 - Coeficientes padronizados dos modelos lineares generalizados obtidos para o tratamento descoberto dos clones de eucalipto I144, IPB13, IPB02 e "Toreliodora" em relação à severidade de oídio

Variáveis climáticas	I144	IPB13	IPB02	"Toreliodora"
Temperatura	-0,2453	-0,0851	-0,0961	-0,1498
Umidade	-0,5627	-0,2495	-0,2499	-0,1693
PAR	-0,6316	-0,3021	-0,3405	-0,2211
Chuva	-0,160	-0,0704	-0,1156	-0,0532

Fonte: RUIZ (2019)

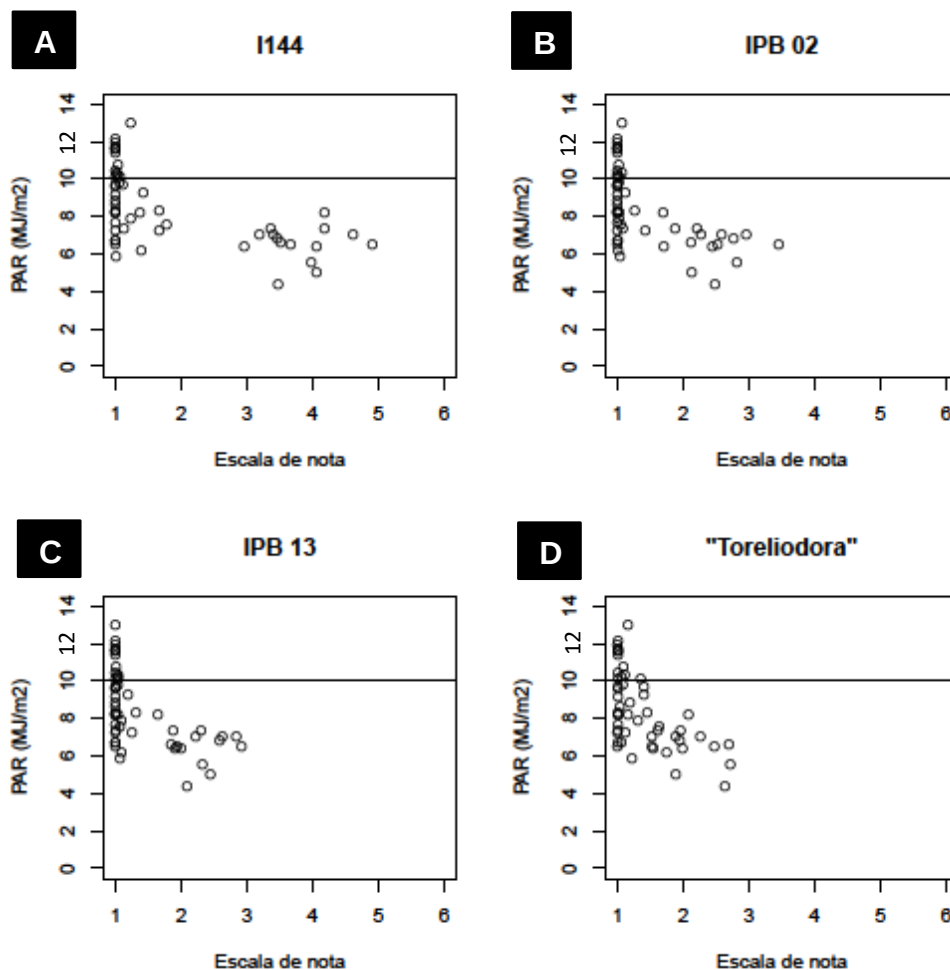
Assim, como observamos na Figura 14, o tratamento descoberto apresentou alta PAR, pois não havia o plástico para filtrar a luz. Dessa maneira, a alta incidência solar direto nas folhas dificultou a reprodução dos conídios, e o resultado do coeficiente afirma o que foi observado, sendo a PAR a principal variável para a severidade de oídio no descoberto. Mas, a umidade e a chuva também foram de importância para

este tratamento, já que a umidade é influenciada pela pluviometria. Ressaltando que a chuva foi responsável pela lavagem dos conídios na superfície das folhas.

No tratamento descoberto, a PAR acima de 10 MJ/m² demonstrou baixa escala de notas de oídio. Entre os valores de 4 MJ/m² a 10 MJ/m² foi quando se observou maior severidade de oídio e quando abaixo de 4 MJ/m² a severidade de oídio foi nula (Figura 20). A PAR abaixo de 10 MJ/m² favoreceu os conídios a se reproduzirem e formarem os micélios na parte superior das folhas.

Segundo Schnathorst (1965), a germinação e a maturação do apressório de oídio parecem ser favorecidas pela baixa iluminação e os efeitos disto no tecido do hospedeiro são favoráveis para o desenvolvimento dos oídios. Conforme se notou, a radiação direta nas folhas não foi favorável para o crescimento de oídio.

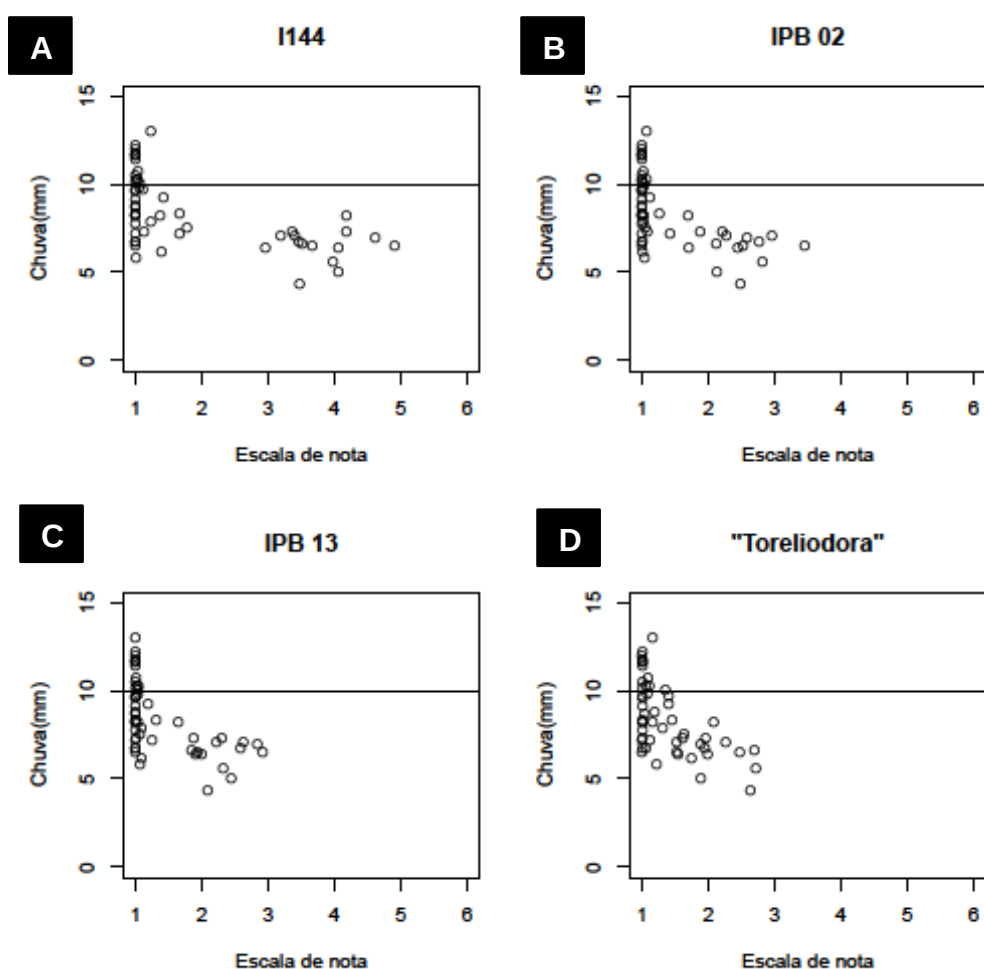
Figura 20 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a temperatura média para o tratamento descoberto durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - "Toreliodora"



Fonte: RUIZ (2019)

Na Figura 21 observa-se a relação da escala de nota com a média da pluviosidade para o tratamento descoberto, visualizando que quando ocorria chuva acima de 10mm, a escala encontrava-se sempre em valor 1. Abaixo da média de 10mm, observou-se maiores escalas de nota para a doença em estudo.

Figura 21 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a pluviosidade para o tratamento descoberto durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”



Fonte: RUIZ (2019)

Para o tratamento pé direito alto, os coeficientes padronizados com maiores valores foram observados para a temperatura, sendo a variável responsável para a alta severidade de oídio neste tratamento (Tabela 7). Os coeficientes estão negativamente correlacionados com as variáveis, ou seja, as variáveis climáticas movem em direção oposta dos valores do coeficiente.

Tabela 7 - Coeficientes padronizados dos modelos lineares generalizados obtidos para o tratamento pé direito alto dos clones de eucalipto I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” em relação à severidade de oídio

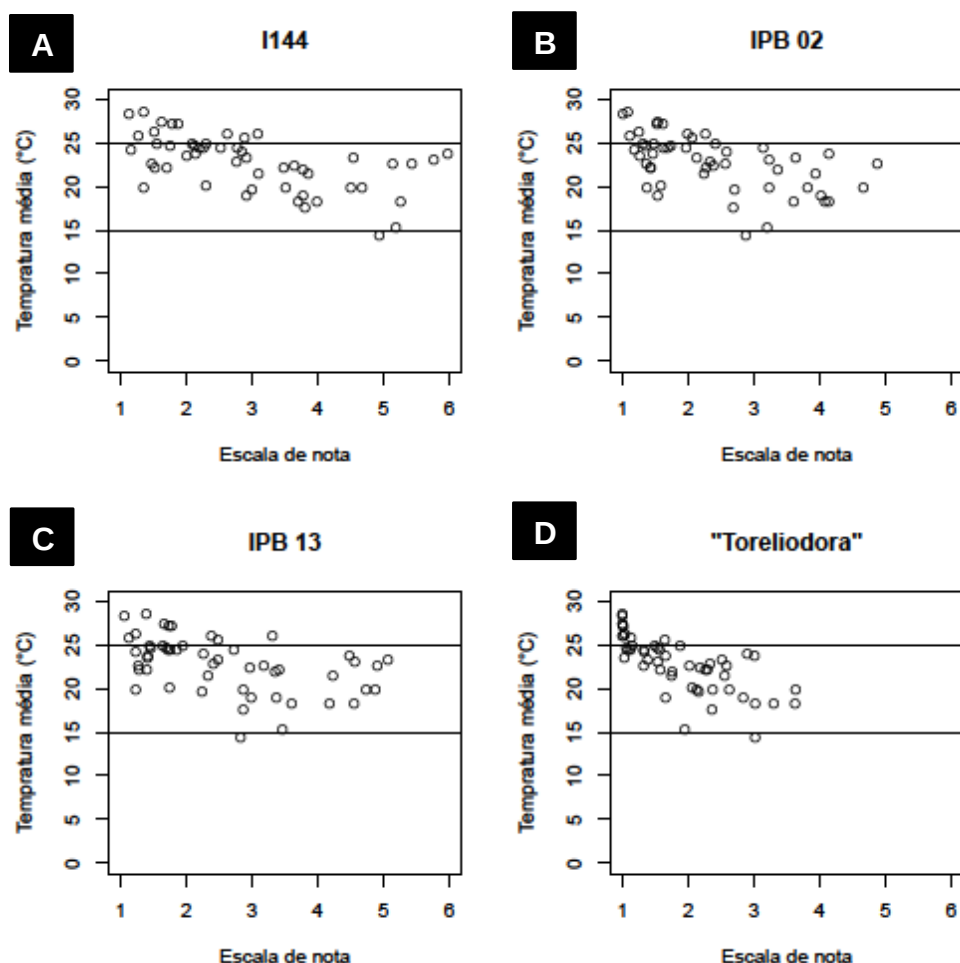
Variáveis climáticas	I144	IPB13	IPB02	"Toreliodora"
Temperatura	-0,7562	-0,5458	-0,5168	-0,5322
Umidade	-0,1077	-0,0440	-0,0265	-0,1207
PAR	-0,0193	-0,0574	-0,1642	-0,0237

Fonte: RUIZ (2019)

A temperatura do pé direito alto e do descoberto obtiveram valores próximos, porém a maior severidade de oídio no pé direito alto foi quando a temperatura do ar estava baixa, e quando a temperatura estava alta, a severidade de oídio diminuiu. Vale ressaltar que este tratamento não apresentou chuva, fator que não permitiu a lavagem dos conídios, e com isso o oídio foi encontrado em todas as avaliações.

Para o tratamento pé direito alto, a maior concentração das maiores notas da escala de oídio está na faixa de 15 a 25°C, para todos os clones. Porém, acima dos 25°C também se observou presença de oídio, sendo que para os clones I144, IPB13 e IPB02 as escalas de notas foram relativamente altas, enquanto para o “Toreliodora” a nota foi 1 (Figura 22).

Figura 22 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a temperatura para o tratamento pé direito alto durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - "Toreliodora"

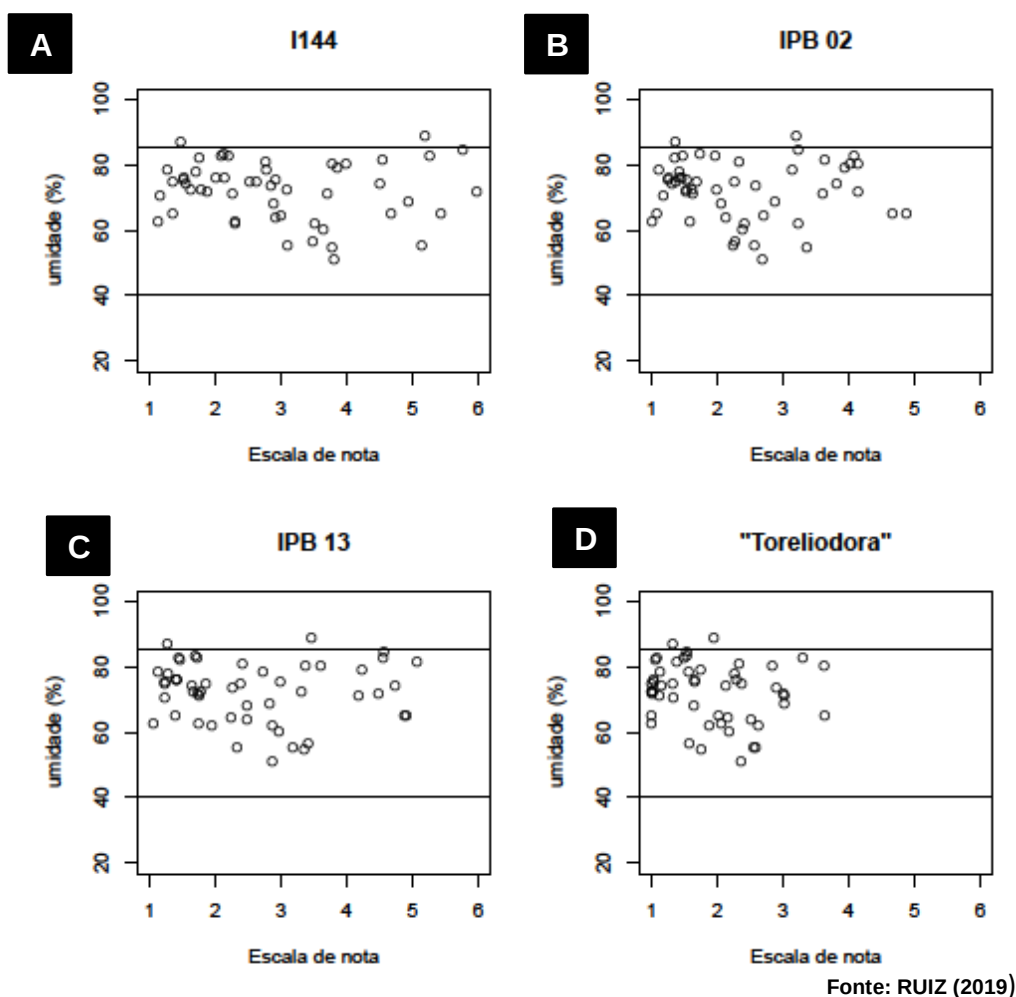


Fonte: RUIZ (2019)

Santana et al. (2012) mostrou em seus resultados que a temperatura apresentou um efeito significativo no processo de infecção do oídio em feijão caupi, reduzindo a severidade da doença com o aumento da temperatura. Segundo Brahm et al. (2005) a severidade de oídio do morangueiro diminuiu com a proximidade do verão, devido as maiores temperaturas. Com esses estudos e com a pesquisa desenvolvida, nota-se que a temperatura influencia na severidade de oídio, pois os conídios ficam mais aptos para reprodução em temperaturas amenas (15 a 25°C), não sendo favoráveis em temperaturas acima de 30°C.

É importante mostrar que para o tratamento pé direito alto, a umidade relativa acima de 85% e abaixo de 40% desfavoreceu para a reprodução de oídio. O período que apresentou maior severidade de oídio foi observado quando a umidade estava entre 40% a 85% (Figura 23).

Figura 23 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a umidade para o tratamento pé direito alto durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”



Fonte: RUIZ (2019)

No mini túnel branco, a variável que interferiu a severidade de oídio de acordo com os coeficientes padronizados, foi a temperatura, para os clones I144, IPB 13 e IPB02, e para o “Toreliodora” foi a umidade (Tabela 8). Os mesmos resultados foram vistos para o mini túnel azul (Tabela 9). Mas, observando as tabelas, nota-se que todos os coeficientes apresentaram valores baixos. E como a severidade de oídio nestes tratamentos foi baixa, é importante ressaltar que o conjunto de todas as variáveis climáticas (baixa PAR, alta umidade, temperatura alta e ausência da chuva) são responsáveis pela baixa severidade de oídio nos clones de eucalipto estudado.

Tabela 8 - Coeficientes padronizados dos modelos lineares generalizados obtidos para o tratamento mini túnel branco dos clones de eucalipto I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” em relação à severidade de oídio

Variáveis climáticas	I144	IPB13	IPB02	"Toreliodora"
Temperatura	-0,00583	-0,01501	0,00298	0,0005
Umidade	-0,00163	-0,00571	0,00298	0,0006
PAR	0,00044	0,00073	-0,0011	0,0001

Fonte: RUIZ (2019)

Tabela 9 - Coeficientes padronizado dos modelos lineares generalizados obtidos para o tratamento mini túnel azul dos clones de eucalipto I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” em relação à severidade de oídio

Variáveis climáticas	I144	IPB13	IPB02	"Toreliodora"
Temperatura	-0,1469	-0,0917	-0,0555	-0,0003
Umidade	-0,0275	-0,0039	-0,0079	-0,0004
PAR	-0,0228	-0,0166	-0,0109	-0,0001

Fonte: RUIZ (2019)

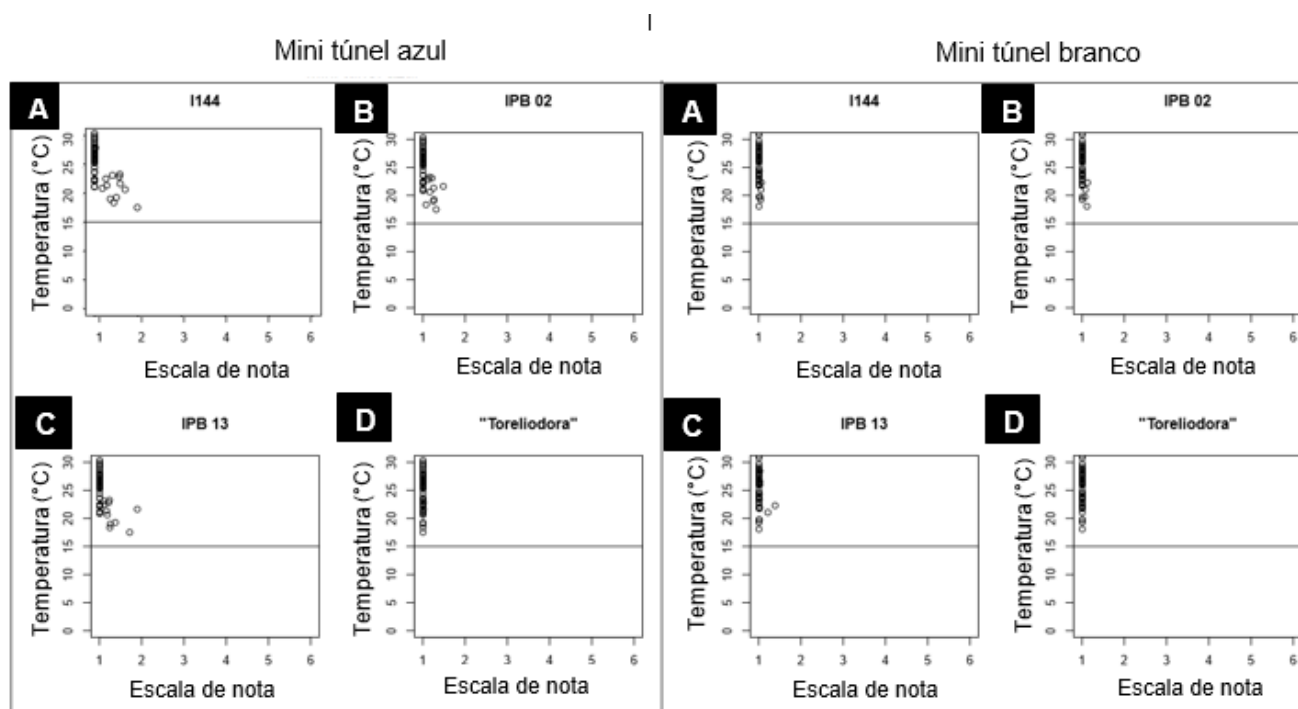
A temperatura e umidade dos mini túneis foram maiores do que a do pé direito alto, e como se observou, quando a temperatura do pé direito alto estava maior, a severidade de oídio diminuiu. Como nos mini túneis a temperatura era maior, desfavoreceu o desenvolvimento do oídio.

O conjunto da temperatura alta o tempo todo, a umidade relativa alta, a PAR filtrada e a ausência da chuva favoreceu o ambiente para a não infecção pelo *P. panossa* em eucalipto.

Como observado para o “Toreliodora”, a umidade foi o principal fator da baixa severidade de *P. pannosa*. A alta umidade dentro dos mini túneis formou uma camada de água em cima das folhas. O fato do molhamento foliar constante inibe completamente a esporulação de oídio. A esporulação dos oídios só ocorre com a umidade relativa abaixo do ponto de saturação, no entanto, podem existir diferenças quanto à preferência por baixa, alta ou níveis intermediários de umidade relativa entre as diferentes espécies de oídio (AMORIM et al., 2018).

Observa-se na Figura 24, que nos mini túneis azul e branco a severidade de oídio foi baixa ou ausente, para todos os clones, ressaltando que o “Toreliodora” apresentou escala de nota 1 em ambos os tratamentos. Quando se notou baixa severidade de oídio nestes tratamentos a temperatura estava entre 15 a 25°C e o maior período de ausência da doença, foi acima de 20°C.

Figura 24 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a temperatura para os tratamentos mini túnel azul e branco durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - “Toreliodora”

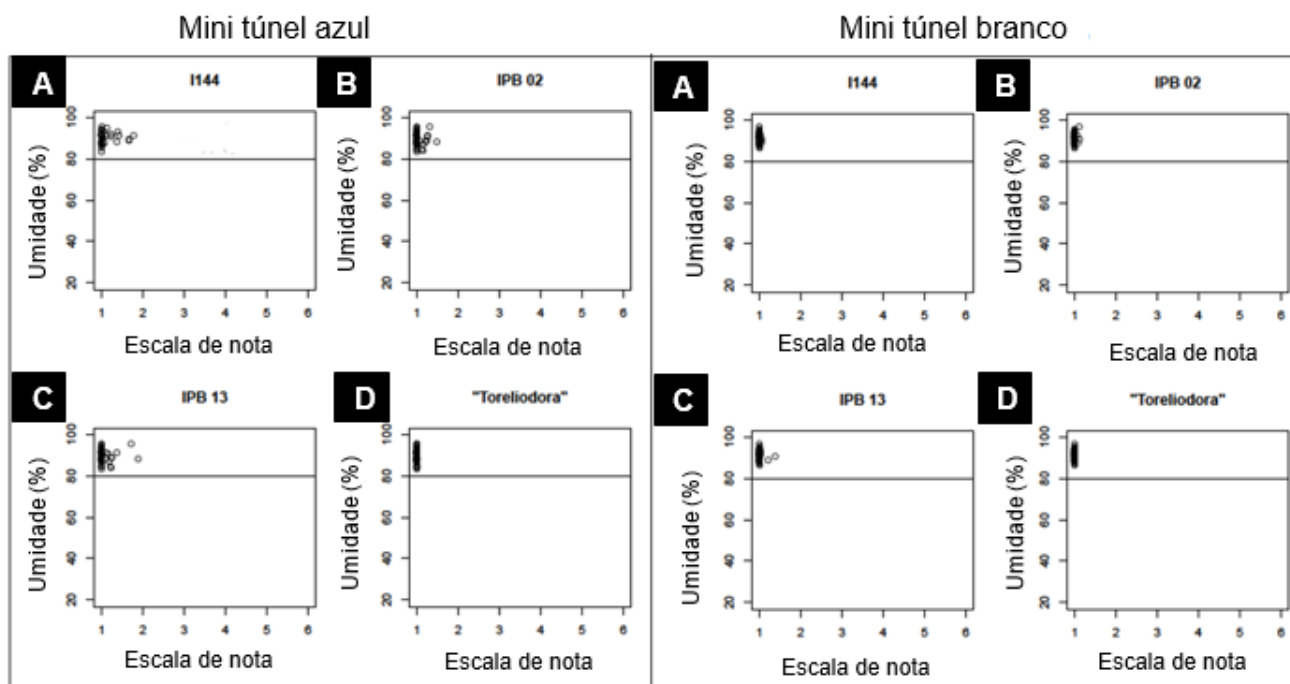


Fonte: RUIZ (2019)

Em ambos os minis túneis (branco e azul) a umidade foi maior do que 80% e houve baixa severidade de oídio. Os clones I144, IPB 02 e IPB 13 apresentaram baixa severidade, com notas variando de 1 a 2, enquanto o “Toreliodora” não foi infectado pelo oídio, apresentando nota 1 em todas as avaliações (Figura 25). Assim, pode-se afirmar que umidade acima de 80% dificultou a penetração do *P. pannosa*.

Os oídios em geral, podem germinar a diferentes umidades relativas do ar, variando de espécie para espécie (SCHNATHORST,1965). No caso do *P. pannosa*, é necessária umidade elevada (abaixo de 80%) para manter a sua reprodução.

Figura 25 - Relação da escala de nota de oídio em eucalipto de acordo com a umidade para o tratamento mini túnel azul e mini túnel branco durante o período de avaliação (mai/18 a abr/19). A - I144; B - IPB 02; C - IPB 13; D - "Toreliodora"



Fonte: RUIZ (2019)

Segundo Amorim et al. (2018), a ausência de chuvas que removem os esporos das folhas e a ausência de uma lâmina de água na superfície foliar é uma das razões as quais os oídios ocorrem em alta incidência em cultivo protegido. No presente estudo, o tratamento pé direito alto apresentou maior incidência de oídio, justamente devido aos fatos descrito pelos autores acima citados. Mas, quando o cultivo é totalmente protegido, no caso dos mini túneis, forma-se o molhamento foliar, dificultando a penetração dos conídios do oídio em eucalipto, tornando sua severidade baixa.

Para *Eucalyptus camadulensis*, a temperatura entre 15°C e 25°C favoreceu o aumento de oídio (SOUSA et al., 2017), corroborando com os resultados no presente estudo. Segundo Schnathorst (1965), os oídios possuem uma temperatura ótima para germinação e crescimento de cerca de 21°C, sendo vários graus abaixo do ideal médio para outros patógenos de plantas. Bedendo (2011) relata que as condições favoráveis para germinação dos conídios de oídio são favorecidas quando a temperatura varia entre 20 a 25°C e a umidade em torno de 95%. Para o *P. pannosa* no presente experimento, pode-se afirmar que a temperatura favorecida foi entre 15 a 25°C e umidade abaixo de 80%.

Santana et al. (2012) mostraram em seus resultados que as temperaturas de 10, 15 e 20°C favoreceram o progresso de oídio do feijão caupi, aos 11 dias após inoculação. As menores taxas de progresso da doença foram observadas nas plantas submetidas às temperaturas de infecção de 30, 35 e 40°C, concluindo que a temperatura acima de 30°C reduziu a severidade de oídio. Segundo Nogueira et al. (2017), temperaturas acima de 35°C inibem o desenvolvimento de oídio na videira. Estes trabalhos corroboram com os resultados encontrados neste trabalho em que, altas temperaturas inibiram a reprodução de oídio em eucalipto.

Chavarria et al. (2007) testaram o sistema de cultivo protegido, com abertura nas laterais, em videira para avaliar a incidência de doenças. Eles observaram que a cobertura plástica aumentou a temperatura diurna e diminui a PAR. Na área coberta, realizaram-se apenas duas aplicações para o controle de oídio, enquanto na área descoberta foram realizadas 17 aplicações para o controle de doenças fúngicas ao longo de um ano. Em contrapartida, neste trabalho o oídio foi mais frequente na área coberta (pé direito alto), local onde seriam necessárias mais aplicações de fungicida e no descoberto houve menor incidência de *P. pannosa*.

Estudos por Guzman-Plazola et al. (2003) avaliaram os efeitos da temperatura e umidade relativa na germinação dos esporos no desenvolvimento de oídio em folhas de tomateiro em ambiente controlado, para definir as condições que afetam o desenvolvimento da doença. Eles concluíram que em temperaturas de 30°C e superior, não houve germinação de esporos e desenvolvimento de oídio, enquanto o progresso da doença foi mais significativo a uma temperatura de 20°C. Essas informações confirmam os dados obtidos neste estudo.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que a temperatura em que o oídio estava mais intenso foi de 15 a 25°C com umidade variando de 40 a 85%, fatores que ocorreram nos tratamentos descoberto e pé direito alto. Para Jacob et al. (2007), a severidade do *Oidium neolycopersici* em tomateiro foi positivamente correlacionada com a duração da temperatura de 15 a 25°C e níveis de umidade relativa de 60 a 90%. Por outro lado, a doença foi negativamente correlacionada com temperaturas baixas (5 a 15°C) e altas (35 a 40°C).

Ainda sobre esses autores, eles concluíram que a combinação de altas temperaturas e baixa UR pode ajudar a reduzir a severidade do *O. neolycopersici* em tomates, contrapondo com o que foi observado nos dados obtidos em resposta aos tratamentos mini túnel azul e mini túnel branco deste trabalho.

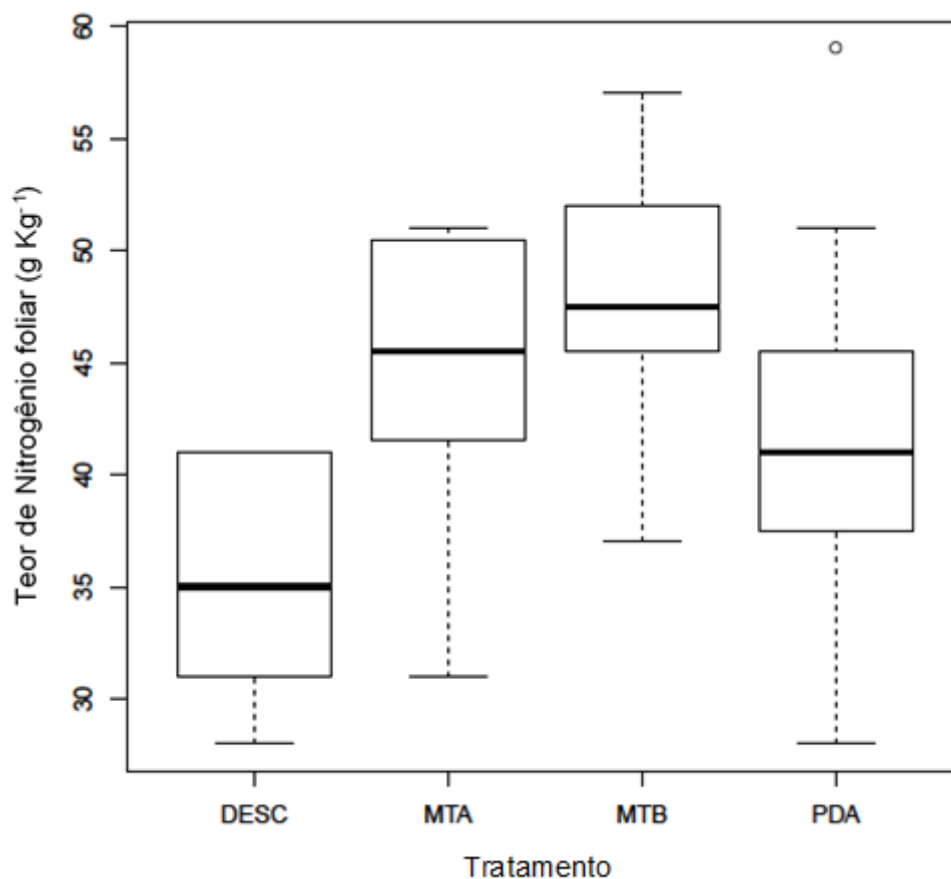
Pereira et al. (2013) afirmam que a ocorrência da doença causada pelo oídio é favorecida com temperaturas de 20 a 25°C, concordando com o presente trabalho em estudo.

A suscetibilidade das plantas pode ser alterada em função da temperatura, e esses fatores são atribuídos a diversas causas, como redução na formação de compostos fenólicos pela planta e bloqueio de mecanismos estruturais que dificultam a colonização do tecido vegetal pelo patógeno (AMORIM et al., 2018).

5.6 Teor de Nitrogênio foliar

O tratamento descoberto apresentou menor quantidade de nitrogênio foliar, com valores centrais de distribuição de 31 a 42 g kg⁻¹ e com mediana de 35 g kg⁻¹. Para o pé direito alto, o valor central de distribuição foi de 37 a 45 g kg⁻¹, com variação de 28 a 51 g kg⁻¹ e mediana 42 g kg⁻¹. Para o mini túnel azul, a variação foi de 31 a 51 g kg⁻¹, com valores centrais de distribuição de 41 a 50 g kg⁻¹ e mediana 45 g kg⁻¹. O mini túnel branco obteve maior mediana, sendo 47 g kg⁻¹, com variação de 37 a 57 g kg⁻¹ e valor central de destruição de 45 a 52 g kg⁻¹ (Figura 26).

Figura 26 - Teor de nitrogênio foliar contido em cada tratamento nos três meses de coleta (mar/18, jul/18 e fev/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos



Fonte: RUIZ (2019)

A quantidade de nitrogênio foliar diferiu entre os tratamentos, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($p=0,0003068$). Dessa maneira, afirmamos que há diferença entre os tratamentos para o teor de nitrogênio foliar.

A quantidade de nitrogênio foliar diferiu estatisticamente entre os tratamentos descoberto comparados com os mini túneis azul e branco (Tabela 10). Os restantes dos contrastes não apresentaram diferença estatística na quantidade de nitrogênio foliar.

Tabela 10 - Teste de comparação múltipla entre os tratamentos dos clones I144, IPB13, IPB02 e “Torelidora” para o teor de nitrogênio foliar

Contrastes	Comparação múltipla
Descoberto - Mini túnel branco	Sim
Descoberto - Mini túnel azul	Sim
Descoberto - Pé direito alto	Não
Mini túnel azul- Mini túnel branco	Não
Mini túnel azul- Pé direito alto	Não
Mini túnel branco - Pé direito alto	Não

Sim: há diferença entre os tratamentos; Não: não há diferença entre os tratamentos.

Fonte: RUIZ (2019)

Para o aparecimento de uma doença é necessário à interação do patógeno virulento, ambiente favorável e planta suscetível. Observamos que o tratamento descoberto apresentou menor teor de nitrogênio foliar, fato qual pode ser explicado pela presença de chuva neste local, o que permitia a lixiviação do solo, e a presença do patógeno em alta intensidade que retirava os nutrientes da planta.

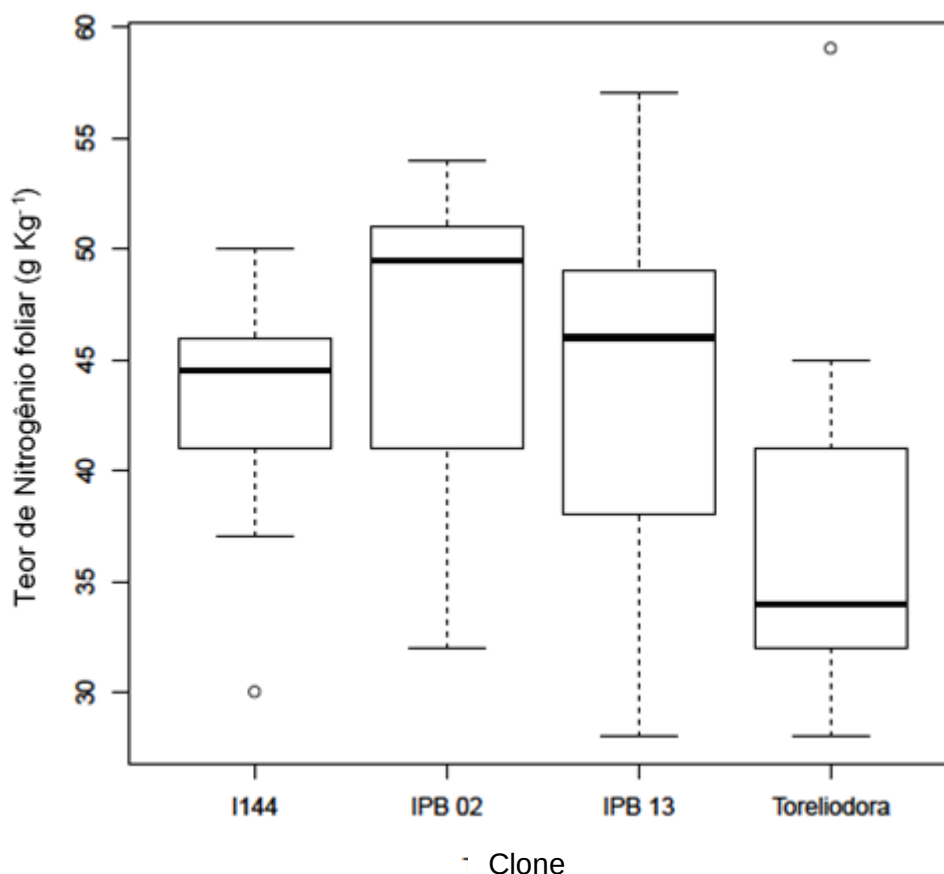
As maiores concentrações de nitrogênio nos ambientes com cobertura (mini túneis e pé direito alto) podem ser explicadas pela ausência da chuva. Além da cobertura para os mini túneis, sua alta quantidade de nitrogênio, é explicada pela ausência do patógeno no ambiente, que não se nutria do nitrogênio das plantas, permitindo maior concentração. E devido a menor perda de nitrogênio, favorecia o crescimento das plantas, o que as tornava com maior produção de estacas.

Nota-se que quanto menor a disponibilidade de luz, maior a quantidade de nitrogênio foliar. Sabe-se que os mintúneis são os com menor PAR e os com maior quantidade de nitrogênio, enquanto o descoberto apresenta maior PAR, devido à ausência do plástico em sua cobertura, e menor quantidade de nitrogênio foliar. Segundo Evans 1989, o nitrogênio na clorofila constitui de 15 a 20% do total do nitrogênio da folha, quando as plantas crescem em alta luminosidade, essa proporção varia inversamente com a radiação e pode aumentar em até 60% em plantas que crescem em sombra.

Em relação aos clones, o IPB02 apresentou maior quantidade de nitrogênio foliar, com mediana 50 g kg⁻¹ valores centrais variando de 41 a 51 g kg⁻¹ e variância de 32 a

54 g kg⁻¹. O clone IPB 13 foi o segundo com maior teor de nitrogênio foliar, variando de 28 a 57 g kg⁻¹, valores centrais de 38 a 49 g kg⁻¹ e mediana de 46 g kg⁻¹. Para o clone I144, a variância foi de 37 a 50 g kg⁻¹, com valores centrais de distribuição de 41 a 46 g kg⁻¹ e mediana de 45 g kg⁻¹. O “Toreliodora” exibiu a menor mediana de teor de nitrogênio foliar, sendo a média 34 g kg⁻¹, variância de 28 a 44 g kg⁻¹ e valores centrais de distribuição de 32 a 41 g kg⁻¹ (Figura 27).

Figura 27 - Teor de nitrogênio foliar (g Kg⁻¹) contido nos clones I144, IPB02, IPB13 e “Toreliodora” nos três meses de coleta (mar/18, jul/18 e fev/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa à mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos



Fonte: RUIZ (2019)

O teor de nitrogênio foliar diferiu entre os clones, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis ($p=0,02359$). Com isso, há diferença entre os clones sobre o teor de nitrogênio foliar, rejeitando a hipótese nula. O teste de comparações múltiplas mostra que,

apenas o clone IPB02 e “Toreliodora” apresentaram diferença estatística, enquanto os outros contrastes não diferiram estatisticamente (Tabela 11).

Tabela 11 - Teste de comparações múltiplas entre os clones I144, IPB13, IPB02 e “Toreliodora” para o teor de nitrogênio foliar

Contrastes (clone)	Comparação múltipla
I144 - IPB02	Não
I144 - IPB13	Não
I144 - "Toreliodora"	Não
IPB02 - IPB13	Não
IPB02 - "Toreliodora"	Sim
IPB13 - "Toreliodora"	Não

Sim: há diferença entre os clones; Não: não há diferença entre os clones.

Fonte: RUIZ (2019)

Vale ressaltar que o “Toreliodora” foi o clone menos infectado pela quantidade de oídio, e foi o que apresentou menor quantidade de nitrogênio.

De acordo com Higashi et al. (2000), a quantidade de nitrogênio foliar adequada é de 30 a 43 g kg⁻¹ e a faixa considerada baixa é abaixo de 30 g kg⁻¹, mas esses valores mudam de acordo com cada clone. Neste experimento, o clone “Toreliodora” foi o único que apresentou essa faixa ideal de teor de nitrogênio foliar.

Os clones IPB 13, IPB 02 e I144 apresentaram alto teor de nitrogênio nas folhas e foram os que exibiram maior infecção pelo oídio. Assim, pode-se dizer que o excesso de nitrogênio foliar deixou esses clones menos resistentes ao ataque de *P. pannosa*, quando comparado com o “Toreliodora”, que apresentou menor severidade. O acúmulo de compostos nitrogenados em tecidos infectados por fungos acontece em virtude do aumento da atividade biossintética geral decorrente da infecção.

Segundo Silveira e Higashi (2003), o excesso de nitrogênio nas folhas reduz os compostos fenólicos e lignina das folhas, tornando os tecidos menos enrijecidos, como consequência, as plantas exibem menor resistência aos fungos. O aumento de nitrogênio também aumenta a taxa de crescimento dos tecidos jovens, que são os mais suscetíveis a infecções (MARSCHNER, 2012).

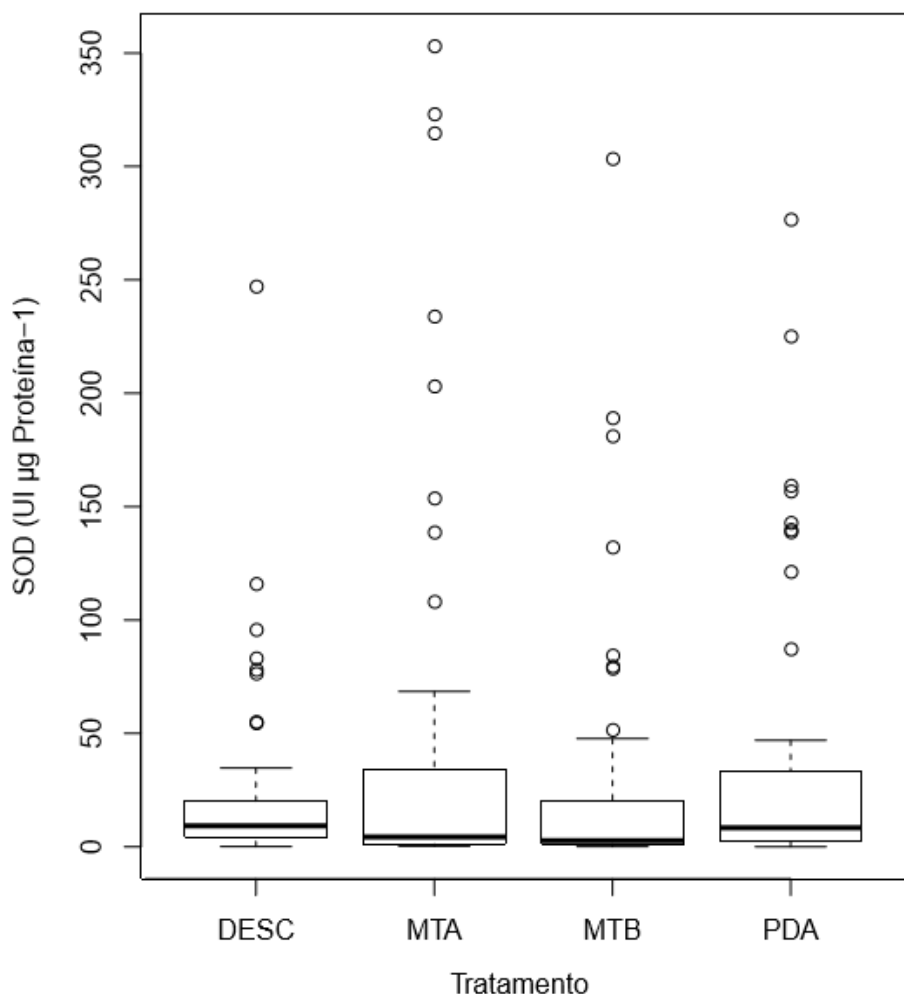
Os estudos de Silveira et al. (2000) mostraram que o excesso de nitrogênio em minijardim clonal de eucalipto, favorece a infecção de alguns fungos, como por exemplo o oídio. Segundo Bedendo et al. (2018), o uso de elevadas doses de nitrogênio favorece a infecção por ferrugem e oídio nas plantas de trigo.

Para obter um melhor resultado, talvez fosse necessário realizar a análise de todos os meses durante a avaliação do experimento e não apenas de três meses. Dessa maneira, as diferenças do teor de nitrogênio foliar poderiam ser visualizadas ao longo do tempo e melhor explicadas frente aos outros dados explorados pelo experimento.

5.7 Atividades enzimáticas

Os boxplots mostram a atividade da enzima SOD para todos os tratamentos (Figura 28). O teste de Kruskal-Wallis mostrou que a atividade da enzima SOD não diferiu significativamente entre os tratamentos ($p=0,1756$). Para o tratamento descoberto a mediana foi 10 UI $\mu\text{g Proteína}^{-1}$ com variação de 0 a 40 UI $\mu\text{g Proteína}^{-1}$. No mini túnel azul, a variação foi de 0 a 70 UI $\mu\text{g Proteína}^{-1}$, com mediana 5 UI $\mu\text{g Proteína}^{-1}$. Para o mini túnel branco a variação foi de 0 a 50 UI $\mu\text{g Proteína}^{-1}$ e a mediana no valor de 2 UI $\mu\text{g Proteína}^{-1}$ e o pé direito alto a variação estava entre 0 e 40 UI $\mu\text{g Proteína}^{-1}$ e mediana 9 UI $\mu\text{g Proteína}^{-1}$.

Figura 28 - Atividade da enzima SOD em relação aos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (minitúnel branco), PDA (pé direito alto) ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa à mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos

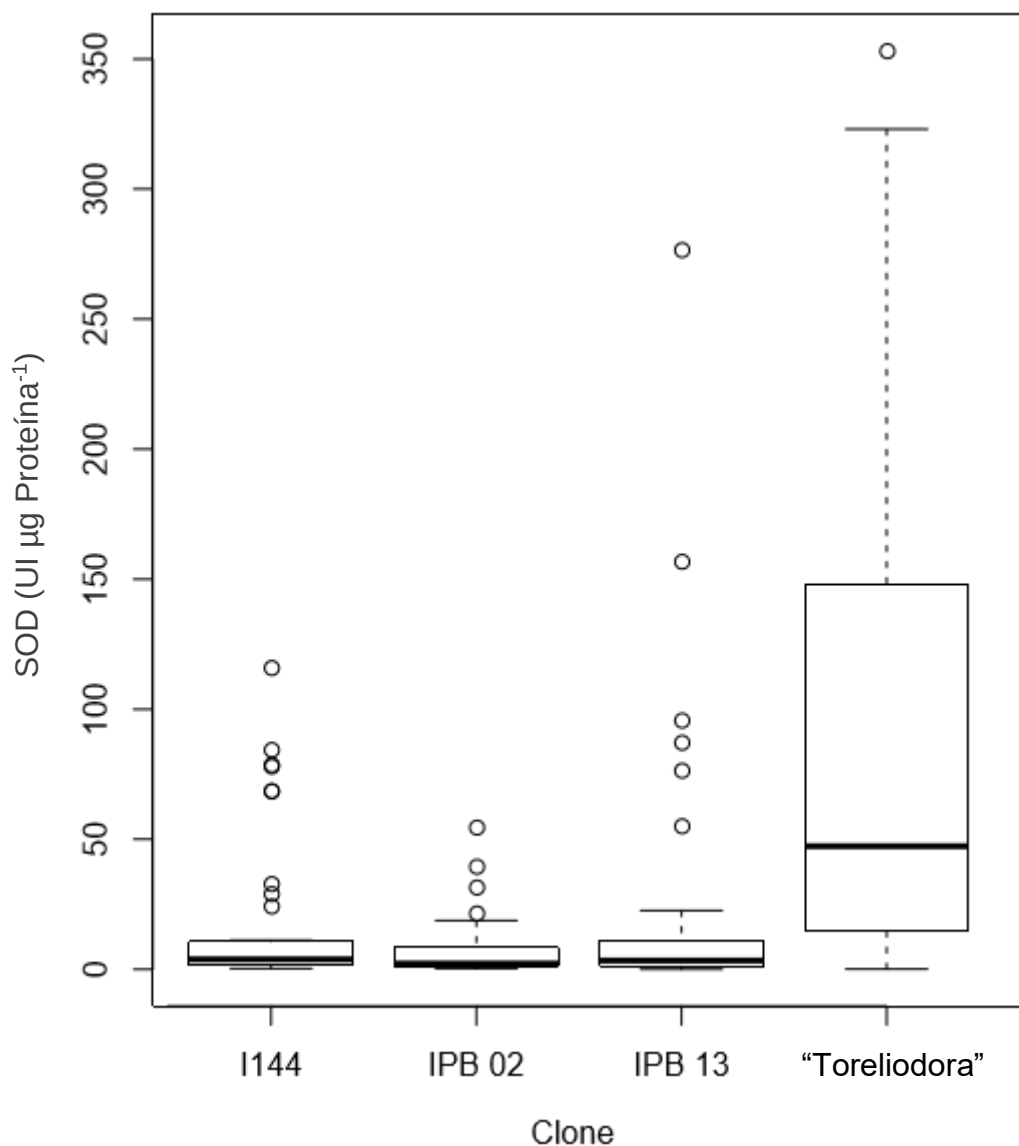


Fonte: RUIZ (2019)

Entre os clones, houve diferença na atividade da enzima SOD ($p=1,6 \times 10^{-13}$). O clone “Toreliodora” apresentou alta atividade dessa enzima, quando comparado com os outros clones avaliados (Figura 29).

O “Toreliodora” apresentou alta atividade enzimática, variando de 0 a 320 UI µg Proteína⁻¹ e mediana de 50 UI µg Proteína⁻¹. Os clones IPB 13 e IPB 02 variaram em torno de 0 a 25 UI µg Proteína⁻¹ e uma mediana, próximo de 1, e o clone I144 a variação foi de 0 a 10 UI µg Proteína⁻¹ e mediana próximo de 1 também.

Figura 29 - Atividade da enzima SOD em relação aos clones I144, IPB02, IPB13 e “Toreliodora” ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos



Fonte: RUIZ (2019)

Através do teste de comparações múltiplas foi possível observar que o clone “Toreliodora” diferiu estatisticamente de todos os outros clones (Tabela 12), sendo este o clone com maior atividade da enzima SOD.

Tabela 12 - Teste de comparações múltiplas realizadas entre os clones para a atividade da enzima SOD ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19)

Contrastes (clone)	Comparação múltipla
I144 - IPB02	Não
I144 - IPB13	Não
I144 - "Toreliodora"	Sim
IPB02 - IPB13	Não
IPB02 - "Toreliodora"	Sim
IPB13 - "Toreliodora"	Sim

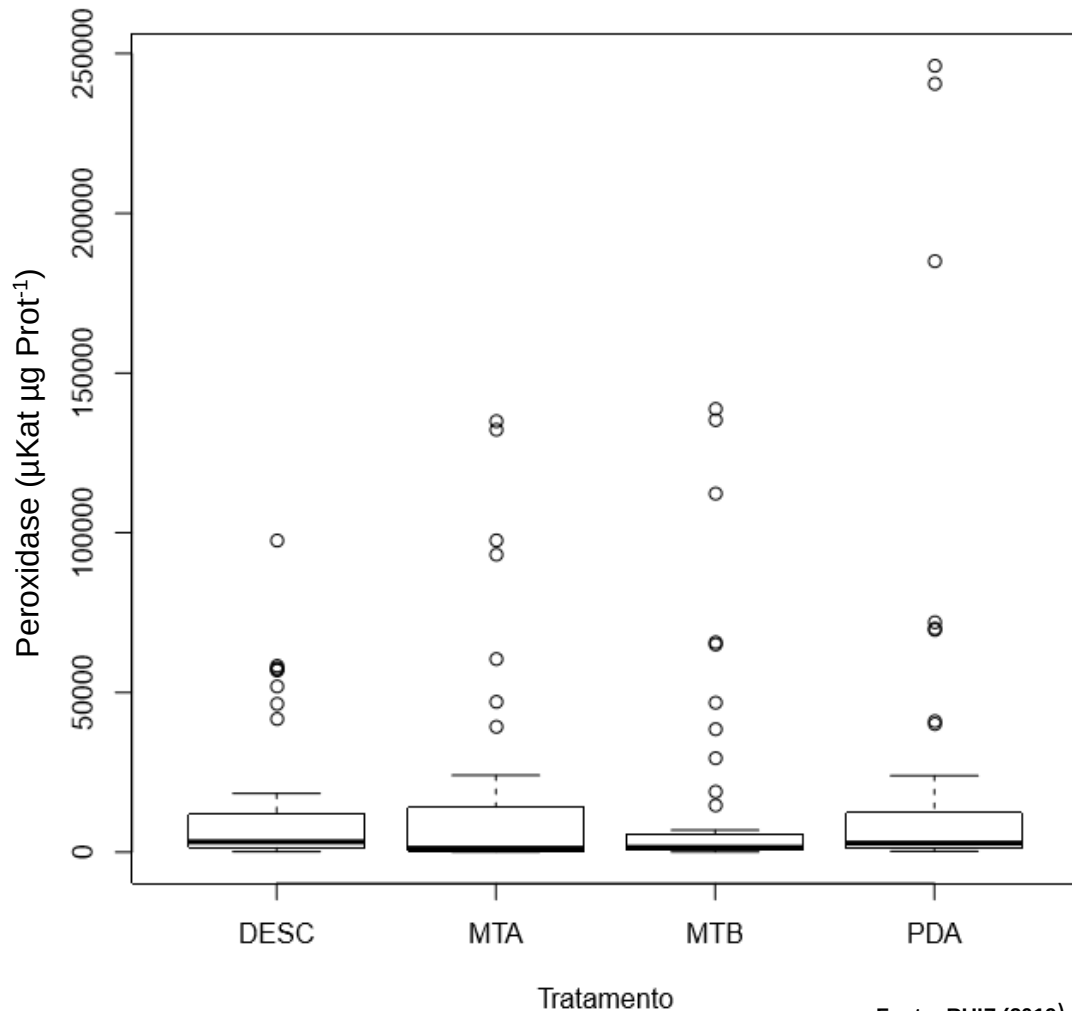
Sim: há diferença entre os clones; Não: não há diferença entre os clones

Fonte: RUIZ (2019)

Os boxplots mostram a atividade da enzima peroxidase para todos os tratamentos (Figura 30). O teste de Kruskal-Wallis mostra que a atividade da enzima peroxidase não diferiu entre os tratamentos ($p=0,05255$).

O mini túnel azul apresentou a maior variação da atividade enzimática, enquanto o mini túnel branco a menor variação. Em relação às medianas obtidas, o tratamento descoberto e pé direito alto exibiram as maiores médias.

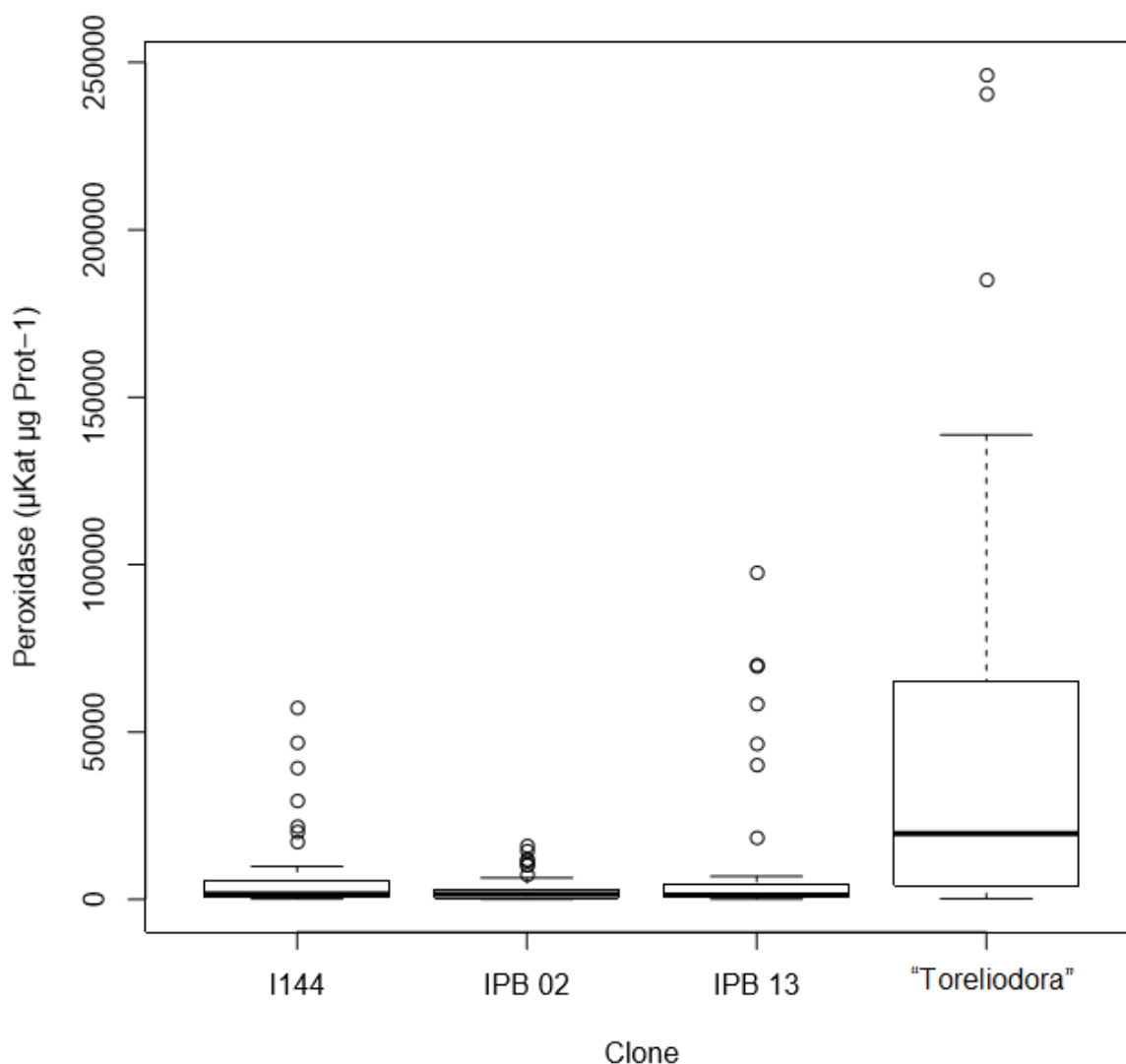
Figura 30 - Atividade da enzima peroxidase em relação aos tratamentos DESC (descoberto), MTA (mini túnel azul), MTB (minitúnel branco), PDA (pé direito alto) ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa à mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos



Fonte: RUIZ (2019)

Houve diferença significativa entre os clones para a atividade enzimática da peroxidase ($p=1,9 \times 10^{-9}$). A Figura 31 mostra a alta atividade enzimática do clone “Toreliodora” quando comparado com o restante dos clones estudados.

Figura 31 - Atividade da enzima peroxidase em relação aos clones I144, IPB02, IPB13 e “Toreliodora” ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19). Os boxplots representam os 50% centrais da distribuição. A linha contínua dentro do boxplot representa a mediana, e as linhas que saem da caixa representam valores mínimos e máximos. Os valores atípicos são representados com círculos



Fonte: RUIZ (2019)

O clone “Toreliodora” apresentou alta atividade enzimática, demonstrando a maior mediana e variação. Os clones IPB 13, IPB 02 e I144 apresentaram baixa variação e baixa mediana da enzima peroxidase.

O teste de comparações múltiplas mostra que o clone “Toreliodora” diferiu estatisticamente de todos os outros clones (Tabela 13), sendo o clone com maior atividade da enzima peroxidase.

Tabela 13 - Teste de comparações múltiplas realizado entre os clones para a atividade da enzima peroxidase ao longo do período de avaliação (mai/18 a abr/19)

Contrastes (clone)	Comparação múltipla
I144 - IPB02	Não
I144 - IPB13	Não
I144 - "Toreliodora"	Sim
IPB02 - IPB13	Não
IPB02 - "Toreliodora"	Sim
IPB13 - "Toreliodora"	Sim

Sim: há diferença entre os clones; Não: não há diferença entre os clones.

Fonte: RUIZ (2019)

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são subprodutos do metabolismo aeróbico e participam das vias de sinalização em plantas, em resposta a situações de estresse físico e biológico. O nível de EROs e a atividade de enzimas antioxidantes estão associados ao processo de defesa contra estresse, como temperaturas extremas, ataque de patógenos, déficit hídrico, entre outros (BARBOSA et al. 2014). A capacidade de acionar mecanismos de defesa antioxidantes pode prevenir o acúmulo de EROs e o estresse oxidativo extremo (BHATTACHARJEE, 2010). As enzimas antioxidantes, como a SOD e peroxidase, contribuem para o controle das EROs em plantas.

A enzima SOD tem ação intracelular e está propensa ao estresse oxidativo originado por EROs. A SOD remove radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) catalisando sua dismutação, sendo um O_2 reduzido a H_2O_2 e outro oxidado a O_2 (GILL e TUTEJA, 2010), sendo, geralmente, a enzima da primeira linha defesa ao estresse oxidativo. Shvaleva et al. (2005) ao comparar a ação de algumas enzimas em *Eucalyptus globulus* sob estresse hídrico concluíram que a SOD responde mais rapidamente que a catalase, por exemplo, sendo a SOD uma enzima importante na tolerância ao estresse de plantas por fornecer a primeira linha de defesa contra os efeitos tóxicos provocados pelo acúmulo de EROs. No presente estudo, a SOD respondeu ao

estresse da planta apenas para o material genético *Corymbia citriodora* x *Corymbia toreliana* (“Toreliodora”), em função do estabelecimento do patógeno *P. pannosa*.

Segundo Fiori (2011) observou que, a infecção por *Colletotrichum gloeosporioides* causou aumento da atividade de enzimas antioxidantes (SOD e peroxidase) em três clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*), indicando que existem mecanismos ativados para defesa frente a EROs geradas pelo fungo. O aumento da SOD também foi observado em feijão de corda (*Vigna unguiculata*) sob a ação de *Colletotrichum gloeosporioides* (BARRETO et al., 2005) e em trigo infectado por *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* (IVANOV et al, 2004).

As peroxidases utilizam o H_2O_2 como oxidante e composto de natureza fenólica como doadores de elétrons. Dessa maneira, o H_2O_2 formado pela ação da SOD também pode ser convertido a $H_2O + O_2$ pelas peroxidases ou catalases. Estas enzimas nas plantas estão envolvidas em uma série de processos celulares e são detectadas em diferentes isoformas. Algumas peroxidases são induzidas por estresses ambientais sendo que, conforme a atividade pode mostrar sintomas de estresse com diferentes intensidades (BARBOSA et al., 2014).

Boava et al. (2010a) estudaram a atividade de peroxidase e quitinase em dois clones de eucalipto híbridos das espécies *E. grandis* x *E. urophylla*. O aumento da atividade foi observado em ambos os clones previamente tratados com indutores, e 48 h após a inoculação com o fungo da ferrugem (*Puccinia psisii*). Igualmente, verificou-se no presente ensaio que houve aumento da atividade de peroxidases apenas para o clone *Toreliodora* em função de sua maior suscetibilidade ao fungo oídio.

Estudos de Boava et al. (2010b) constataram que quando dois clones de eucalipto foram inoculados com ferrugem, 72 h após a inoculação houve aumento da peroxidase e, entre os dois clones utilizados, o suscetível apresentou maior atividade da enzima. Entretanto, o incremento na atividade da enzima foi mais expressivo após a inoculação com o patógeno no clone resistente. Os autores concluíram que clones de eucalipto apresentam diferentes atividades enzimáticas sendo que aumento da atividade ocorreu após o processo de infecção. Os resultados obtidos no presente experimento corroboram com os estudos de Boava et al. (2010b), considerando-se que o clone “Toreliodora” é mais resistente que os demais, tendo sofrido menores impactos devido a infecção.

Ml'ickov' et al. (2004) observaram aumento da atividade da peroxidase sol'vel em folhas de *Lycopersicon chmielewskii* infectadas pelo *Oidium neolycopersici*, assim como observado neste estudo. Estudos de Li e Li (1998) mostraram que a atividade da peroxidase em folhas de diferentes cultivares de pepino (*Cucumis sativus* L.) infectadas com *Cladosporium cucumerinum* Ell. E Arth foi maior nas cultivares resistentes do que nas suscet'veis.

Conforme os resultados observou-se que o clone "Toreliodora" apresentou alta atividade das enzimas SOD e peroxidase. Ao mesmo tempo, o clone foi o qual apresentou menor severidade de o'idio. Assim, pode-se concluir que este clone ativou essas enzimas antioxidativas como estrat'gia de defesa em rea'ção à infec'ção por o'idio. Os clones podem apresentar diferentes capacidades antioxidantes ou vias de resist'ncia. Dessa forma essa capacidade inerente aos materiais pode explicar o motivo pelo que nem todos os clones estudados apresentaram capacidade de defesa.

Costa e Silva et al. (2009) avaliaram dois clones de *E. globulus* e concluíram que apenas um deles demonstrou aumento significativo da atividade de enzimas antioxidativas quando expostos a diferentes temperaturas, coincidindo com maior resist'ncia. Fiori (2011) ao comparar tr' clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*) observou maior atividade das enzimas SOD, peroxidase e GST (Glutathione S-Transferase) apenas em um dos clones (GT1) a partir de 144 horas de infec'ção do *C. gloerosporioides*. Gonzales (2011) avaliou a atividade de enzimas antioxidantes (SOD, peroxidase e GST) em tr' clones de *H. brasiliensis* ap'os a inocula'ção com o'idio (*Oidium heveae*) e observou maiores atividades dessas enzimas no clone RRIM600, tanto nas plantas sadias quanto nas inoculadas, comparada aos demais clones. Estes trabalhos mostram que uma mesma esp'cie, por' diferentes clones podem apresentar altera'ções na atividade enzim'tica, assim como observado no presente estudo.

N' h', contudo, um padr' universal de resposta: a atividade de enzimas espec'ficas pode estar correlacionada tanto positiva como negativamente com a infec'ção por pat'genos (DALIO e PASCHOLATI, 2018).

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- A escala diagramática proposta é adequada e confiável para avaliar a severidade de oídio em folhas de eucalipto, sendo possível sua utilização em pesquisas epidemiológicas;
- O tratamento pé direito alto foi o que apresentou maior infecção pelo patógeno *P. pannosa* nos clones de eucalipto estudados, seguido do descoberto. Enquanto os mini túneis azul e branco apresentaram baixa infecção pelo oídio, sendo os tratamentos mais eficientes para o controle deste patógeno em eucalipto. Não houve diferença significativa na severidade de oídio entre os clones de eucalipto e houve diferença entre os tratamentos, sendo os mini túneis branco e azul, àqueles que não apresentaram alta severidade;
- A PAR foi o fator que mais influenciou a severidade de oídio nos clones de eucalipto no tratamento descoberto; A temperatura foi o principal fator que influenciou a severidade de oídio nos tratamentos pé direito alto, mini túnel azul e mini túnel branco;
- Em relação ao teor de nitrogênio foliar, o tratamento descoberto apresentou diferença significativa com o mini túnel branco e azul, o restante dos contrastes não apresentaram diferença significativa; Os clones de eucalipto IPB 13 e “Toreliodora” apresentaram diferença significativa no teor de nitrogênio foliar, e o restante dos contrastes não diferiram.
- A atividade das enzimas SOD e peroxidase não diferiram entre os tratamentos; e entre os clones de eucalipto estudado, a atividade foi maior no “Toreliodora”, que diferiu de todos os outros clones.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5a Ed., Academic Press. 2005. 922p.
- AGROFIT - **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em 12 de jun 2019.
- AIMI, D.M. *et al.* Influência da radiação de onda longa incidente no fechamento do balanço de radiação no modelo SIB2: Estimativas para pastagem no bioma Pampa. **Ciência e Natura**, Santa Maria v.40, Edição Especial: X Workshop Brasileiro de Micrometeorologia, p. 235-240, 2018.
- ALFENAS, A.C. ZAUZA, E.A.V.; MAFIA, R.G.; ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 442p. Viçosa, MG: Editora UFV, 2009.
- ALMAGRO, L. *et al.* Class III peroxidases in plant defence reactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 377-390, 2009.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. v.1, 5 ed. Ouro Fino, MG, Agronômica Ceres, 2018. 573p.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. v. 1, 4 ed. Piracicaba; Agronômica Ceres, 2011.
- APERAM – Espaço - **Publicação para clientes, investidores, empregados e comunidade**, n.86, jun/jul 2015.
- ASSIS, T. F. Hybrids and mini-cutting: a powerful combination that has revolutionized the Eucalyptus clonal forestry. **BMC Proceedings**, n. 5 (Suppl 7): I18, 2011. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1753-6561/5/S7/I18>>. Acessado em 09 out. 2018.
- AUER, C.G.; DOS SANTOS, A.F.; FURTADO, E.L. Doenças do Eucalipto. *In*: AMORIM, L. *et al.* **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. v. 2, 5 ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2016.
- BARBOSA, M.R. *et al.* Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BARRETO, A.L.H. *et al.* Accumulation of Hydrogen Peroxide and Induction of Antioxidative Enzyme Activities Confer Resistance of Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] to the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. *In*: Reunião anual da sociedade brasileira de bioquímica e biologia molecular, 34. 2005, Águas de Lindóia. **Programa e índices...** Águas de Lindóia: SBBq, 2005.
- BECKMANN, M.Z. *et al.* Radiação solar em ambiente protegido cultivado com tomateiro nas estações verão-outono do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.36, n.1, 2006.
- BEDENDO, I.P.; AMORIM, L.; MATTOS-JR, D. Ambiente e doença. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. v.1, 5 ed. Ouro Fino, MG, Agronômica Ceres, 2018. p.93-102.

BEDENDO, I.P. Oídios. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. v. 1, 5 ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2018, p.351-355.

BEDENDO, I.P. Oídios. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. v. 1, 4 ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011.

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

BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. *In*: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2010. p.1-30.

BOAVA, L.P. *et al.* Efeito de indutores bióticos e abióticos na atividade de quitinase e peroxidase e no controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em eucalipto. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.2, p.168-172, 2010a.

BOAVA, L.P. *et al.* Atividade de quitinases e peroxidases em folhas de eucalipto em diferentes estágios de desenvolvimento após tratamento com acibenzolar-S-metil (ASM) e inoculação com *Puccinia psidii*. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n.2, p. 124-128, 2010b.

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

BOVOLINI, M.P. *et al.* Susceptibility of clonal seedlings of *Eucalyptus* spp. To powdery mildew disease. **Floresta e Ambiente**. v. 25, n. 3, 2018.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAHM, R.U.; UENO, B.; OLIVEIRA, R.P. Reação de cultivares de morangueiro ao oídio sob condições de casa de vegetação. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 2, p. 219-221, 2005.

BROETTO, F. **Métodos de trabalho em bioquímica vegetal e tecnologia de enzimas**. São Paulo: Editora UNESP Cultura Acadêmica, 2014. v. 1

BURLAKOTI, R.R.; ZANDSTRA, J. JACKSON, K. Comparison of epidemiology of gray mold, anthracnose fruit rot and powdery mildew in day-neutral strawberries in filed and high-tunnel conditions in Ontario. **International Journal of Fruit Science**, v. 13, p. 19-27, 2013.

CAFÉ FILHO, A. C.; COELHO, M. V. S.; SOUZA, V. L. Oídio em hortaliças. *In*: STANDNIK, M. J.; RIVERA, M. C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 285-302, 2001.

CAMARA, G., R. *et al.* Elaboration and validation of diagrammatic scale for lettuce powdery mildew. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 44, n. 2, p. 116-121, 2018.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Métodos alternativos de controle fitossanitário. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**. 2003.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 1990.

CHAVARRIA, G. *et al.* Incidência de doenças e necessidade de controle em cultivo protegido de videira. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 29, n. 3, p. 477-482, 2007.

CHO, S.E. *et al.* Occurrence of powdery mildew caused by *Podosphaera pannosa* on lemon eucalyptus. **Forest Pathology**, v. 46, n. 3, p. 264-266, 2016.

COSTA LAGE, D.A. *et al.* Standard area diagrams for assessment of powdery mildew severity on tomato leaves and leaflets. **Crop Protection**, v. 67, p. 26-34, 2015.

COSTA E SILVA, F. *et al.* Acclimation to short-term low temperatures in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought resistance. **Tree Physiology**, v. 29, 2009.

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

DALIO, R.J.D.; PASCHOLATE, S.F. Alterações fisiológicas em plantas doentes. *In*: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. v. 1, 5 ed. Ouro Fino, MG, Agronômica Ceres, 2018. p. 453-470.

DEL PONTE, E.M. *et al.* Standard area diagrams for aiding severity estimation: scientometrics, pathosystems and methodological trends in the last 25 years. **Phytopathology**. v. 107, n. 10, p. 1161-1174, 2017.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.1, p. 13-15, 1991.

EVANS, J.R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. **Oecologia**, v. 78, p.9-19, 1989.

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

FINCH, D. A. *et al.* Photosynthetically active radiation regimes in a southern African savanna environment. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 122, n. 3-4, p. 229–238, 2004.

FIORI, M.S. **Estresse oxidativo em clones de seringueira sob ataque de antracnose-das-folhas**. 2011. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal). Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

FONSECA, N.R. *et al.* Eucalypt powdery mildew caused by *Podosphaera pannosa* in Brazil. **Tropical plant pathology**, v. 42, p. 261, 2017.

FREIRE, F. C. O.; VIANA, F. M. P. Oídios de fruteiras Tropicais. *In*: STADNIK, M.J.; RIVERA, M. C. (Ed.). **Oídios**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2001, p. 323-334.

FRISINA, V.A.; ESCOBEDO, J.F.; GOMES, E.N. Estimativa da radiação fotossinteticamente ativa (PAR) em estufa de polietileno. *In*: **Encontro de energia no meio rural**, 2000.

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

FURTADO, E.L. *et al.* **Doenças em viveiros de *Eucalyptus* sp. Diagnóstico e Manejo** (Votorantim Celulose e Papel, Unidade Florestal - Boletim Técnico), 2001.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superóxido distumatses occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909-930, 2010.

GINERGAR Polystack Brasil. Filmes plásticos para cobertura de estufa agrícola. Disponível em: <<https://www.ginegar.com.br/produto&cod=15&nomTitulo=Suncover%C2%AE+Difuso+C655&it=P>> Acesso em: 2 set 2019.

GIRAUDOUX, P. pgirmess: **Spatial Analysis and Data Mining for Field Ecologists**. R package version 1.6.9. 2018. Disponível em <<https://CRAN.R-project.org/package=pgirmess>>. Acesso em: 5 maio 2019.

GONZALEZ, G.C. **Estresse oxidativo em clones de seringueira sob ataque de oídio**. 2011. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal). Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

GRIGOLETTI JR, A.; BIZI, R.M.; AUER, C.G., *Oidium* sp. em mudas de eucalipto. Comunicado Técnico 144, Colombo: **Embrapa Florestas**, 2005.

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

HEMMING, S. MOHAMMADKHANI, V.; DUECKE, T. Diffuse Greenhouse Covering Materials – Material Technology, Measurements and Evaluation of Optical Properties. **Acta Horticulturae**. n. 797, p. 469- 475, 2008a.

HEMMING, S.; DUEK, T.; JANSE, J. The Effect of Diffuse Light on Crops. **Acta Horticulturae**. n. 801, p. 1293-1300, 2008b.

- HIGASHI, E.N. *et al.* Efeito da aplicação de nitrogênio na concentração dos nutrientes na, produção e enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus* na condição de minijardim clonal. *In: Reunião Brasileira de fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas*, 25, Santa Maria, 2000.
- HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. Pathometry: the measurement of plant disease. *In: HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. (Eds.) Plant disease: an advanced treatise – how disease develops in populations*. New York: Academic Press, 1978. v.2, p.119-136.
- HUAWEI L., DONG JIANG, B. W., TINGBO DAI, W. C., Effects of shading on morphology, physiology and grain yield of winter wheat. **European Journal of Agronomy**, v. 33, n. 4, p. 267-275, 2010.
- IBÁ. 2017. Relatório, **Indústria Brasileira de Árvores**. Disponível em: <https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf> Acesso em 2 ago. 2018.
- IBÁ. 2018. **Sumário executivo**. Disponível em <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/digital-sumarioexecutivo-2018.pdf>> Acesso em 10 jun 2019.
- IVANOV, S. *et al.* Alterations in some oxidative parameters in susceptible and resistant wheat plants infected with *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 162, p. 275-279, 2004.
- JACOB, D. *et al.* Conditions for development of powdery mildew of tomato caused by *Oidium neolycopersici*. **Phytopathology** v. 98, p. 270-281, 2008.
- KHOSHNEVISAN, B.; RAFIEE, S.; MOUSAZADEH, H., Environmental impact assessment of open field and greenhouse strawberry production. **European Journal of Agronomy**, v. 50, p. 29-37, 2013.
- KIRK P.M., Species Fungorum (version Oct 2017). *In: ROSKOV Y. et al. (eds). Species 2000 & Itis Catalogue of Life*. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands, 2019.
- KOWATA, L.G.; MAY-DE-MIO, L.L.; DALLA-PRIA, M.; SANTOS, H.A.A. Escala diagramática para avaliar severidade de míldio na soja. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.9, n.1, p.105-110, 2008.
- KRANZ, J. Measuring plant disease. *In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (eds.). Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology*. Springer-Verlag. Heidelberg: Germany. 1998, p. 35-50.
- KRUGNER, T. L.; AUER, C. G. Doenças dos eucaliptos. *In: KIMATI, H. et al. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. 4.ed. São Paulo: Agronômica CERES, 2005. p. 319-332.
- LI, B. J.; LI, F. Y. Changes in activities and electrophoretic patterns of peroxidase and polyphenoloxidases in cucumbers during infection with *Cladosporium cucumerinum*. **Scientia Agricultura Sinica**, Beijing, v. 31, p. 86-88, 1998.

LI, T. *et al.* Enhancement of crop photosynthesis by diffuse light: quantifying the contributing factors. **Annals of Botany**, n. 114, p. 145–156, 2014.

LIMA, J.S. *et al.* Escala diagramática para avaliação da severidade do oídio em castanhas de caju. **Summa phytopathologica**, v. 44, n. 3, p. 252-260, 2018.

LONGO, O. T. D. *et al.* Antioxidant Defences under Hyperoxygenic and Hyperosmotic Conditions in Leaves of Two Lines of Maize with Differential Sensitivity to Drought. **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 7, p. 1023–1028, 1993.

LUKASIK, I.; GOLAWSKA, S.; WÓJCICKA, A. Effect of cereal aphid infestation on ascorbate content and ascorbate peroxidase activity in triticales. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 21, p. 1937-1941, 2012.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 3ed. London, Elsevier, 2012.

MARTINS, N.S.; SILVEIRA, R.L.V.A. Aperam realiza reunião técnica para apresentar novos clones de eucalipto. In: **Addubare**. RR Agroflorestal, Piracicaba, SP, jan-jun 2014. Disponível em: <www.rragroflorestal.com.br> Acessando em 4 de jan. 2019.

MICHEREFF, S.J. **Epidemiologia de doenças de plantas**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2015.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MLÍCKOVÁ, K. *et al.* Reactive oxygen species generation and peroxidase activity during *Oidium neolycopersici* infection on *Lycopersicon* species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 753–761, 2004.

MONTERO, J.I. *et al.* Climate under plastic in the Almeria area. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 170, p. 227-234, 1985.

NOGUEIRA, E.M.C. *et al.* **Doenças fúngicas da videira: sintomas e manejo**. Instituto Biológico. Documento técnico 32, p. 1-21, 2017.

PASCHOLATI, S.F. *et al.* **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, v. 13, 2008.

PEIXOTO, H.P.P. *et al.* Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzyme of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, 3 ed, p. 137-43, 1999.

PEREIRA, R.B.; PINHEIRO, J.B.; CARVALHO, A.D.F. **Manejo do oídio em pimentão: um desafio em cultivo protegido**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013.

PRYOR, L. **Biology of Eucalyptus**. London: Edward Arnold, 1976.

R Core Team. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em <https://www.R-project.org/> Acesso em: 2 mai 2019.

SANTANA, C.V.S. *et al.* Severidade do oídio em feijão-caupi sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 1931-1936, 2012.

SANTOS, A. F.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JR. A. Doenças do eucalipto no sul do Brasil: identificação e controle. Circular técnica 45. Colombo: **Embrapa Florestas**, 2001.

SANTOS, P. H. D. *et al.* Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade de oídio em folhas de mamoeiro. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 4, p. 215-217, dez. 2011.

SCHNATHORST, W.C. Environmental relationships in the powdery mildews. University of California. **Annual Review Phytopathology**. v. 3, p. 343-366, 1965.

SGANZERLA, E. **Nova agricultura: a fascinante arte de cultivar com plásticos**. 5 ed. Guaíba: Agropecuária, 1995.

SHVALEVA, A L. *et al.* Metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought sensitivity. **Tree physiology**, Madrid v. 26, n. 2, p. 239-248, 2006.

SILVA, J.C. Cresce presença do eucalipto no Brasil. **Revista da Madeira**, n.92, p. 61-66, 2005. Disponível em:
<http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=803&subject=Eucalipto&title=Cresce> Acesso em: 14 de jun. 2018.

SILVEIRA, R.L.V.A.; HIGASHI, E.N. **Aspectos nutricionais envolvidos na ocorrência de doenças com ênfase para eucalipto**. Circular Técnica (IPEF), n.200, p.1-13, 2003.

SILVEIRA, R.L.V.A. *et al.* Avaliação do estado nutricional do *Eucalyptus*: diagnose visual foliar e suas interpretações. In: GONÇALVES, J.L.M.; BENEDETTI, V., ed. **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000. p.79-104.

SIVAPLAN, A. Effects of impacting rain drops on the growth and development of powdery mildew fungi. **Plant Pathology**, v. 42, n. 2, p. 256-263, 1993.

SOUSA, W.B. *et al.* **Influência de diferentes condições de ambiente na severidade do oídio em mudas de eucalipto**. In: XXI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XVII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VII Encontro de Iniciação à Docência, 2017 – Universidade do Vale do Paraíba.

STADNIK, M. J.; RIVERA, M. C. (Ed.). Oídios. Jaguariúna: **Embrapa Meio Ambiente**, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 5ed, 2013. 918 p.

VALE, A.B. *et al.* **Eucaliptocultura no Brasil: Silvicultura, Manejo e Ambiência**. Viçosa: SIF, 2014.

VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.I.; LIBERATO, J.R. Quant: a software plant disease severity assessment. Christchurch New Zealand: **Plant Pathology Society**, 2003. p.105.

VALERIANO, R.; POZZA, E.A.; SANTOS, L.A.; CHAVES, E.; BARBOSA JR, M.P.; FERREIRA, M.A. Escala diagramática e reação diferencial de clones para oídio do eucalipto. **Scientia Florestales**, v. 43, n.105, p.51-61, 2015.

VENTURIN, N. *et al.* Histórico. In: BARTOLOMEU DO VALE, A., et al **Eucaliptocultura no Brasil: Silvicultura, Manejo e Ambiência**. Viçosa, MG: SIF, 2014, cap 1. p. 17-36.

WILLIAMS, D.W. *et al.* Identification of Candida species by PCR and restriction fragment length polymorphism analysis of intergenic spacer regions of ribosomal DNA. **Journal of Clinical Microbiololgy**, v. 33, n.9, p. 2476-2479, 1995.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. da. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: Editora UFV, 2009.

XIAO, C.L. *et al.* Comparison of Epidemics of Botrytis Fruit Rot and Powdery Mildew of Strawberry in Large Plastic Tunnel and Field Production Systems. **Plant Disease**. v. 85, p.901-909, 2001.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VALE, F.X.R. Efeito da nutrição mineral sobre doenças de plantas causadas por patógenos do solo. In: Zambolim, L. (Ed.) **Manejo integrado, fitossanidade, cultivo protegido, pivô central e plantio direto**. Viçosa: Suprema gráfica e Editora Ltda. 2001. p.347-408.