

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

ANÁLISES FISIOLÓGICAS E HISTOPATOLÓGICAS DA INTERAÇÃO
ENTRE OS FITOPATÓGENOS *Fusarium equiseti* E *Diaporthe ueckerae* EM
PLANTAS DE *Gossypium hirsutum*

Autor: Matheus Mendonça de Souza Marques
Orientador: Dr.^a Luciana Cristina Vitorino

RIO VERDE – GO

Agosto – 2022

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

ANÁLISES FISIOLÓGICAS E HISTOPATOLÓGICAS DA INTERAÇÃO
ENTRE OS FITOPATÓGENOS *Fusarium equiseti* E *Diaporthe ueckerae* EM
PLANTAS DE *Gossypium hirsutum*

Autor: Matheus Mendonça de Souza Marques
Orientadora: Dr.^a Luciana Cristina Vitorino

Dissertação apresentada como parte das exigências para
obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO no Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio
Verde - Área de Concentração: Conservação dos Recursos
Naturais.

RIO VERDE – GO

Agosto – 2022

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

ANÁLISES FISIOLÓGICAS E HISTOPATOLÓGICAS DA INTERAÇÃO
ENTRE OS FITOPATÓGENOS *Fusarium equiseti* E *Diaporthe ueckerae* EM
PLANTAS DE *Gossypium hirsutum*

Autor: Matheus Mendonça de Souza Marques
Orientador: Dr.^a Luciana Cristina Vitorino

TITULAÇÃO: Mestre em Biodiversidade e Conservação – Área de
Concentração: Conservação dos Recursos Naturais

RIO VERDE – GO

Agosto – 2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

MM427a MARQUES, MATHEUS
ANÁLISES FISIOLÓGICAS E HISTOPATOLÓGICAS DA
INTERAÇÃO ENTRE OS FITOPATÓGENOS *Fusarium equiseti* E
Diaporthe ueckerae EM PLANTAS DE *Gossypium hirsutum*
/ MATHEUS MARQUES; orientadora Luciana Cristina
Vitorino; co-orientador Marcio Rosa. -- Rio Verde,
2022.
73 p.

Dissertação (Mestrado em Pós-Graduação em
Biodiversidade e Conservação) -- Instituto Federal
Goiano, Campus Rio Verde, 2022.

1. algodão. 2. conservação. 3. fitopatógeno. 4.
fisiologia. 5. doença. I. Cristina Vitorino, Luciana,
orient. II. Rosa, Marcio, co-orient. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Documentos 89/2022 - SREPG/CMPR/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

ANÁLISES FISIOLÓGICAS E HISTOPATOLÓGICAS ENVOLVENDO A INFECÇÃO DE *Gossypium hirsutum* L. PELOS FITOPATÓGENOS *Fusarium equiseti* E *Diaporthe ueckerae*

Autor: Matheus Mendonça de Souza Marques
Orientadora: Profª. Dra. Luciana Cristina Vitorino

TITULAÇÃO: Mestre em Biodiversidade e Conservação - Área de Concentração Conservação dos Recursos Naturais

APROVADA em 29 de agosto de 2022.

Profª. Dra. Cíntia Faria da Silva
Avaliadora Externa
IFGoiano/Rio Verde

Profª. Dra. Fabia Barbosa da Silva
Avaliadora externa
IFGoiano/Rio Verde

Profª. Dra. Luciana Cristina Vitorino
IFGoiano/Rio Verde

Documento assinado eletronicamente por:

- Fabia Barbosa da Silva, 2020202341360019 - Discente, em 31/08/2022 17:16:01.
- CINTIA FARIA DA SILVA, 2021202344060001 - Discente, em 30/08/2022 14:51:02.
- Luciana Cristina Vitorino, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 30/08/2022 14:40:09.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 01/08/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 411623
Código de Autenticação: 2b902b504f



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- | | |
|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado) | <input type="checkbox"/> Artigo científico |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação (mestrado) | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input type="checkbox"/> TCC (graduação) | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

☐ Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Matheus Mendonça de Souza Marques

Matrícula:

2020202310840060

Título do trabalho:

ANÁLISES FISIOLÓGICAS E HISTOPATOLÓGICAS DA INTERAÇÃO ENTRE OS FITOPATÓGENOS *Fusarium equiseti* E *Diaporthe ueckerae* EM PLANTAS DE *Gossypium hirsutum*

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: ☒ Não ☐ Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 22 /09 /2022

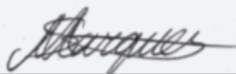
O documento está sujeito a registro de patente? ☐ Sim ☒ Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim ☒ Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.



Rio Verde

Local

22 /09 /2022

Data

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais



Ciente e de acordo:

Assinatura do(a) orientador(a)

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder a dádiva do amanhã.

Aos meus familiares que sempre trouxeram palavras de consolação.

À minha parceira de sempre.

Aos meus amigos que trago desde o ensino fundamental, médio e superior por momentos de alegria e ajuda, bem como aqueles que fiz amizade durante a pós.

À minha orientadora e coorientadores que sempre estiveram à disposição.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação (PPGBio), pela oportunidade oferecida, assim como subsídios para execução do projeto.

À equipe do Laboratório de Microbiologia Agrícola e do Laboratório de Metabolismo Vegetal.

À FAPEG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás) e à Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente favoreceram a execução deste trabalho.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Matheus Mendonça de Souza Marques, natural de Curitiba, Paraná, nascido em 1998, filho de Rosilene Mendonça de Souza e Oltair Ribeiro Marques. Concluiu o ensino médio em Rio Verde, Goiás, no Colégio Estadual Martins Borges (CEMB) em 2015. Deu início a formação acadêmica em 2016 no curso de Bacharelado em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde que foi finalizado em 2019, ingressando no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação em 2020 pelo Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, concluindo e defendendo seu projeto em 2022.

RESUMO

MARQUES, M. M. S. Análises fisiológicas e histopatológicas da interação entre os fitopatógenos *Fusarium equiseti* e *Diaporthe ueckerae* em plantas de *Gossypium hirsutum*. Dissertação apresentada como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde.

Alguns fungos isolados de folhas de espécimes de *Gossypium hirsutum* apresentaram sintomas de doenças já conhecidas, no entanto, quando identificados, não se tratava exatamente dos agentes etiológicos dessas doenças, mas sim das espécies *Fusarium equiseti* e *Diaporthe ueckerae*. A preocupação com doenças não descritas é preocupante, visto que o diagnóstico vetado por produtores que estão acostumados ao campo pode ser equivocado, gerando danos diretos ou indiretos em vários níveis do meio ambiente. Sendo assim, este projeto teve como objetivo a descrição de respostas fisiológicas e/ou anatômicas diante ao ataque pelos fitopatógenos identificados, visando compreender melhor as interações biológicas planta-patógeno e acumular informações para indiretamente potencializar o reconhecimento de doenças e diagnóstico para tomada de decisões mais eficazes, redução na letalidade das doenças e otimizar técnicas de manejo. Para isso, de modo a mensurar estresses e danos fisiológicos gerados em plantas acometidas pelos fitopatógenos em questão, foram feitas análises de forma a mensurar teores de pigmentos fotossintéticos, medição de parâmetros fluorescência da clorofila e análises para índices de trocas gasosas com auxílio de IRGA; microscopia eletrônica de varredura; análises estatísticas foram executadas em ANOVA e Tukey ($0,05 < P$). Diversas alterações fisiológicas foram observadas em plantas inoculadas por *Fusarium equiseti* e por *Diaporthe ueckerae*, principalmente em plantas inoculadas em parte radicular de plantas em fase fenológica caracterizada pela presença de frutos, seguidas das plantas em fase de botões florais.

Palavras-chave: algodão; conservação; fitopatógeno; fisiologia; doença.

ABSTRACT

MARQUES, M. M. S. Physiological and histopathological analyzes of the interaction between the phytopathogens *Fusarium equiseti* and *Diaporthe ueckerae* in *Gossypium hirsutum* plants. Dissertation presented as part of the requirements of the Graduate Program in Biodiversity and Conservation of the Federal Institute of Education, Science and Technology of Goiás – Campus Rio Verde.

Some fungi isolated from leaves of specimens of *Gossypium hirsutum* showed symptoms of already known diseases, however, when identified, they were not exactly the etiological agents of these diseases, but from the species *Fusarium equiseti* and *Diaporthe ueckerae*. The concern about undescribed diseases is worrisome, since the diagnosis vetoed by producers who are used to the field can be wrong, causing direct or indirect damage at various levels of the environment. Therefore, this project aimed to describe physiological and/or anatomical responses to attack by identified phytopathogens, aiming to better understand plant-pathogen biological interactions and accumulate information to indirectly enhance disease recognition and diagnosis for more effective decision-making, reduction in disease lethality and optimizing management techniques. For this, to measure stress and physiological damage generated in plants affected by these phytopathogens, analyzes were carried out to measure levels of photosynthetic pigments, measurement of chlorophyll fluorescence parameters and analyzes for gas exchange rates with the aid of IRGA; scanning electron microscopy; statistical analyzes were performed using ANOVA and Tukey ($0.05 < P$). Several physiological alterations were observed in plants inoculated by *Fusarium equiseti* and by *Diaporthe ueckerae*, mainly in plants inoculated in the root part of plants in the phenological phase characterized by the presence of fruits, followed by plants in the flower bud phase.

Keywords: cotton; conservation; phytopathogen; physiology; disease.

Lista de figuras

Figura 1 – Isolamento de fitopatógenos	23
Figura 2 – Disposição dos fragmentos miceliais	25
Figura 3 – Diferenças entre estádios fenológicos	25
Figura 4 – Análise de pigmentos fotossintéticos	26
Figura 5 – Coleta de dados de fluorescência	27
Figura 6 – Coleta de dados para trocas gasosas	28
Figura 7 – Árvore filogenética de <i>Fusarium</i> sp.	30
Figura 8 – Árvore filogenética de <i>Diaporthe</i> sp.	31
Figura 9 – Sintomas gerais	32
Figura 10 – Senescência de folhas durante a fase fenológica de "maçã"	32
Figura 11 – Concentração de clorofila <i>a</i> induzido por <i>Fusarium equiseti</i>	33
Figura 12 – Concentração de clorofila <i>a</i> induzido por <i>Diaporthe ueckerae</i>	34
Figura 13 – Concentração de clorofila <i>b</i> induzido por <i>Fusarium equiseti</i>	35
Figura 14 – Concentração de clorofila <i>b</i> induzido por <i>Diaporthe ueckerae</i>	35
Figura 15 – Concentração de carotenoides induzido por <i>Fusarium equiseti</i>	36
Figura 16 – Concentração de carotenoides induzido por <i>Diaporthe ueckerae</i>	37
Figura 17 – Fluxo de energia dissipada por centro de reação induzido por <i>Fusarium equiseti</i>	38
Figura 18 – Fluxo de energia dissipada por centro de reação induzido por <i>Diaporthe ueckerae</i>	38
Figura 19 – Desempenho baseado na absorção induzido por <i>Fusarium equiseti</i>	39
Figura 20 – Desempenho baseado na absorção induzido por <i>Diaporthe ueckerae</i>	40
Figura 21 – Fluxo de absorção por centro de reação induzido por <i>Fusarium equiseti</i>	41
Figura 22 – Fluxo de absorção por centro de reação induzido por <i>Diaporthe ueckerae</i>	41
Figura 23 – Taxa fotossintética induzida por <i>Fusarium equiseti</i>	42
Figura 24 – Taxa fotossintética induzida por <i>Diaporthe ueckerae</i>	43
Figura 25 – Taxa transpiratória induzida por <i>Fusarium equiseti</i>	43
Figura 26 – Taxa transpiratória induzida por <i>Diaporthe ueckerae</i>	44
Figura 27 – Concentração interna de CO ₂ induzida por <i>Fusarium equiseti</i>	45
Figura 28 – Concentração interna de CO ₂ induzida por <i>Diaporthe ueckerae</i>	45
Figura 29 – Eficiência do uso da água induzido por <i>Fusarium equiseti</i>	46

Figura 30 – Eficiência do uso da água induzido por <i>Diaporthe ueckerae</i>	47
Figura 31 – Condutância estomática induzida por <i>Fusarium equiseti</i>	48
Figura 32 – Condutância estomática induzida por <i>Diaporthe ueckerae</i>	48
Figura 33 – Eficiência de carboxilação induzida por <i>Fusarium equiseti</i>	49
Figura 34 – Eficiência de carboxilação induzida por <i>Diaporthe ueckerae</i>	50
Figura 35 - Imagens de MEV. Infecção por <i>Fusarium equiseti</i> em tecido foliar de <i>Gossypium hirsutum</i> em estágio de desenvolvimento vegetativo	51
Figura 36 - Imagens de MEV. Infecção por <i>Fusarium equiseti</i> em tecido foliar de <i>Gossypium hirsutum</i> em estágio de desenvolvimento de botões florais	52
Figura 37 - Imagens de MEV. Infecção por <i>Fusarium equiseti</i> em tecido foliar de <i>Gossypium hirsutum</i> em estágio de desenvolvimento de “maçãs”	53
Figura 38 - Imagens de MEV. Infecção por <i>Diaporthe ueckerae</i> em tecido foliar de <i>Gossypium hirsutum</i> em estágio de desenvolvimento vegetativo	54
Figura 39 - Imagens de MEV. Infecção por <i>Diaporthe ueckerae</i> em tecido foliar de <i>Gossypium hirsutum</i> em estágio de desenvolvimento de botões florais	55
Figura 40 - Imagens de MEV. Infecção por <i>Diaporthe ueckerae</i> em tecido foliar de <i>Gossypium hirsutum</i> em estágio de desenvolvimento de “maçãs”	56

Lista de tabelas

Tabela 1 - Lista de dados físico-químicos, contendo teores de elementos químicos de macro e micronutrientes, pH, matéria orgânica e dados de granulometria, apresentando as proporções de argila, areia e silte	24
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Lista de siglas e abreviações

Fase V – Fase fenológica em estágio vegetativo
Fase B – Fase fenológica em estágio de botões florais
Fase M – Fase fenológica em estágio de “maçã”
NI – Não inoculadas
IPA – Inoculadas em parte aérea
IPR – Inoculadas em parte radicular
PAR – Radiação fotossinteticamente ativa
ppm - Parte por milhão

CO₂ – Dióxido de carbono

DMSO - Dimetilsulfóxido

CaCO₃ – Carbonato de cálcio

PSI - Fotossistema I

PSII - Fotossistema II

μmol - Micromol

mmol - Milimol

Fv – Fluorescência variável

F0 – Fluorescência mínima

Fm – Fluorescência máxima

% - Porcentagem

°C – Temperatura em graus Celsius

mm - Milímetros

ITS - Espaçadora Transcrita Interna

NPQ – Coeficiente de extinção não-fotoquímico

DI_0/RC - Fluxo de energia dissipada por centro de reação

PI_{ABS} - Índice de desempenho fotoquímico

ABS/RC - Fluxo de absorção por centro de reação

A – Taxa fotossintética

E – Taxa transpiratória

g_s – Condutância estomática

C_i – Concentração interna de CO₂

EUA – Eficiência no uso da água

A/C_i – Eficiência instantânea de carboxilação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
2.1. Geral	18
2.2. Específicos	18
3. REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1. Algodão	18
3.2. Ciclo e fenologia do algodoeiro	19
3.3. Características gerais de plantio	20
3.4. Doenças microbianas comuns de algodoeiro	21
4. METODOLOGIA	22
4.1. Preparo do material vegetal e inóculos	24
4.2. Concentração de pigmentos fotossintéticos	26
4.3. Fluorescência da clorofila	26
4.4. Índices de trocas gasosas	27
4.5. Delineamento experimental e análise estatística	28
4.6. Microscopia eletrônica de varredura	29
5. RESULTADOS	29
5.1. Concentração de pigmentos fotossintéticos	33
5.2. Fluorescência da clorofila	37
5.3. Índices de trocas gasosas	42
5.4. Microscopia eletrônica de varredura	50
6. DISCUSSÃO	57
7. CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

1. INTRODUÇÃO

Plantas conhecidas como quiabo, cacau e hibisco são representantes populares da família de plantas denominada Malvaceae, assim como o algodão, com destaque para espécie *Gossypium hirsutum*, espécie caracterizada como subarbusto não endêmico do Brasil, no entanto participando de mais de 90% da produção mundial de fibras provenientes de espécies de algodoeiro (ZHANG, WANG e CHEE, 2008).

Esta espécie, empregada na cotonicultura, destaca-se entre os principais produtos agrícolas comerciais, tanto por suas fibras na área têxtil por sua utilização em indústrias de confecções (ALVES; SOUZA; BORGES, 2020), como na extração de óleo e da fabricação de farelo a partir de sua semente (MALERBO e COUTO, 1990). A literatura etnofarmacológica menciona ainda o uso de suas folhas para o tratamento de complicações no sistema urinário e com potencial cicatrizante (LORENZI; MATOS, 2002).

Embora essa espécie gere produtos importantes, a cultura do algodão também é acometida por pragas durante seu cultivo, seja por insetos e suas larvas, seja por micro-organismos, desses últimos, as fitopatologias são causadas principalmente por fungos (BÉLOT e VILELA, 2020), que surgem de interações ecológicas interespecíficas desarmônicas entre planta e micro-organismo.

Essas fitopatologias, ao contrário de micro-organismos benéficos, provocam desvantagens desde parâmetros fisiológicos de alta responsividade como, por exemplo, alterações na fluorescência da clorofila, a danos anatômicos de difícil reversão. Um exemplo disso, é a espécie *Fusarium oxysporum* que, embora esteja presente em todos os solos e colonizem superfícies radiculares sem gerar danos, há relatos de podridão radicular, murcha generalizada, amarelecimento e morte da planta, sendo que respostas como essas são comuns em plantas acometidas por fungos (ALABOUVETTE, 2001).

Chitarra (2014) expõe que doenças provocadas por fungos se tornam grande impasse para o desenvolvimento da cotonicultura, visto a dificuldade na identificação de respostas geradas por agentes etiológicos das principais doenças do algodoeiro, e no caso de micro-organismos o processo inclui a propensa confusão de respostas anatômicas e fisiológicas provenientes de patógenos com danos provocados por fatores abióticos (CHITARRA, 2014; GOMES et al., 2016).

Esta confusão em tempos de diagnósticos, consequentemente pode gerar prejuízos no ambiente, como a falta de rotatividade de culturas e manejo agrícola mal planejado, criando condições ideais para proliferação de agentes fitopatogênicos, tornando surtos epidêmicos um

risco real, com posterior necessidade do uso de agrotóxicos para tratamento das plantas.

O uso de fungicidas afeta desfavoravelmente a microbiota de toda a cadeia produtiva (BÉLOT e VILELA, 2020), levando a pressões seletivas na microbiota local, desequilibrando grupos da cadeia trófica, alterando processos bioquímicos do solo que dependem de sua composição e sobre os próprios fitopatógenos, possibilitando reincidências mais intensificadas desses ataques (SYLVIA, 2005).

Embora muitos organismos fitopatogênicos conhecidos e descritos possam ser diagnosticados com informações dispostas na literatura, doenças desconhecidas podem gerar tomada de decisões equivocadas, tornando necessária a aplicação da sintomatologia.

O estudo das respostas, nesse caso, gerado pelo parasitismo entre planta e fungo requer a observação de sintomas associados a um agente etiológico, de modo a entender estratégias anatômicas ou fisiológicas utilizadas por ambos os organismos, tornando importante para resolução de problemas através de alternativas de controle.

A identificação desses mecanismos biológicos pode também ajudar no desenvolvimento de técnicas de manejo, bem como no desenvolvimento de técnicas biotecnológicas aplicadas à prevenção e ou controle das doenças, além de entender possíveis padrões de ataques bióticos provenientes de micro-organismos de diferentes grupos.

A partir desse contexto, a estruturação de dados se faz necessária para a identificação de mecanismos biológicos associados a ataques de fungos fitopatogênicos, gerando a possibilidade de exercer diagnósticos (CHITARRA, 2014), e indiretamente melhorar o manejo de doenças, de maneira a reduzir danos ambientais causados pelo uso imprudente de agrotóxicos e cortar gastos com insumos.

Para a composição de dados sobre algodão, patógenos pouco descritos na literatura foram recentemente isolados e identificados como *Fusarium equiseti* e *Diaporthe ueckerae*, apresentando sintomas que afetavam drasticamente estruturas vegetativas e reprodutivas.

Em outras espécies vegetais acometidas por esses fitopatógenos, por exemplo, o *Fusarium equiseti*, foi observado em espécies como *Triticum aestivum* L. (trigo) e *Aptenia cordifolia* (planta ornamental) lesões necróticas progressivas a partir de raízes, causando a morte de indivíduos mais jovens, além de causar a murcha e diferenças anatômicas na planta, quando feitas comparações com mudas de controle (LAHUF *et al.*, 2018).

Há também relatos de danos em *Zea mays* L. (milho) como causador de podridão em caules, causando danos indiretos nas partes reprodutivas do vegetal, além de causar o tombamento e colapso prematuro de plantas contaminadas (SHAN *et al.*, 2017; SWAMY *et al.*, 2020).

Em *Brassica oleracea* var. *botrytis* L. (couve-flor) o *Fusarium equiseti* gerou sintomas como murcha foliar, início de podridão em caules e podridão radicular, com a morte de plantas infectadas dentro de 60 dias (LI *et al.*, 2017).

No caso do *Diaporthe ueckerae*, há relatos de podridão caulinar em *Mangifera indica* L. (manga), *Glycine max* (soja) e *Camellia sinensis* (chá-da-índia) (GAO, LIU e CAI, 2016). Lim, Mohd e Zakaria (2019) relatam que se trata de uma espécie oportunista, causando danos principalmente em organismos que apresentam defesas imunológicas baixas.

Em Udayanga *et al.*, (2015), foi observado o apodrecimento de sementes, vagens e caules de soja por *D. ueckerae* que também gerou danos em *Cucumis melo* L. (melão). Sessa *et al.*, (2017) ainda relatam diversas espécies do gênero gerando danos em caules de maçã, pera e pêssgo, como necrose interna, necroses pretas e avermelhadas, cancro, morte, alterações morfológicas em meristemas apicais, gomamose e ferrugem.

No entanto, por mais que se tenha relatos desses patógenos acometendo outras espécies vegetais, isto pode desencadear equívocos no que já se sabe sobre o manejo e contenção de doenças, frente a ausência de descrição de processos biológicos e possíveis sintomas associados à interação entre os fitopatógenos *Fusarium equiseti* e *Diaporthe ueckerae* e as diferentes etapas de desenvolvimento de *Gossypium hirsutum*.

Embora os trabalhos citados acima tragam o aspecto anatômico das doenças, antes mesmo desses sintomas, existem alterações em parâmetros fisiológicos capazes de responder rapidamente a estresses bióticos e abióticos, parâmetros esses envolvendo aspectos de fotoquímica, fluorescência e trocas gasosas.

Por exemplo, em boa parte dos casos, patógenos conseguem atingir a fotossíntese a partir de danos em cloroplastos (LEITE e PASCHOLATI, 1995), e pode afetar o aproveitamento da energia luminosa, no entanto Muller, Li e Niyogi (2001), explicam sobre a presença de mecanismos fotoprotetores em plantas, atuando principalmente na dissipação do excesso de energia luminosa em forma de energia térmica de maneira a evitar o aparecimento de espécies reativas de oxigênio.

Desta forma, o desenvolvimento deste projeto se justifica pela necessidade iminente de detalhamento de respostas biológicas geradas pela presença dos fitopatógenos oportunistas *Fusarium equiseti* e *Diaporthe ueckerae* nos tecidos de *Gossypium hirsutum*, durante as diferentes fases fenológicas. O trabalho prevê a geração de conhecimento biológico acerca da associação desta planta com micro-organismos fitopatogênicos e o estímulo ao acúmulo de informações acerca da cultura em questão.

Embora pesquisas sugiram que esses gêneros de fungos possuam estratégias de

sobrevivência no sentido do oportunismo (CONRADO et al, 2021; LIM, MOHD, ZAKARIA, 2019), entende-se que respostas fisiológicas apresentem maior sensibilidade quanto a infecção por patógenos, o que poderá ajudar a entender melhor essas interações.

Diante disso, presumiu-se que plantas inoculadas com os fitopatógenos gerassem respostas fisiológicas mediante a infecção.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar as respostas fisiológicas de plantas de algodão (*Gossypium hirsutum*), em diferentes estádios fenológicos ao ataque dos fitopatógenos oportunistas *Fusarium equiseti* e *Diaporthe ueckerae*.

2.2. Específicos

Descrever os sintomas induzidos pela inoculação dos fitopatógenos *Fusarium equiseti* e *Diaporthe ueckerae* em plantas de algodão (*Gossypium hirsutum*) em diferentes estádios de desenvolvimento;

Avaliar estatisticamente os danos gerados pelos fitopatógenos (*Fusarium equiseti* e *Diaporthe ueckerae*) em plantas de algodão (*Gossypium hirsutum*) em diferentes estádios de desenvolvimento;

Definir os estádios fenológicos em que plantas de algodão (*Gossypium hirsutum*) apresentem maior susceptibilidade aos fitopatógenos em questão.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Algodão

Das quatro principais espécies de algodão cultivadas (*Gossypium hirsutum*, *G. barbadense*, *G. herbaceum* e *G. arboreum*), *G. hirsutum* possui ampla dispersão nacional, geralmente em ambientes semiáridos em três macrorregiões: Norte-Nordeste, Centro-Oeste e Sul Sudeste, onde os sistemas de produção variam desde pequenos plantios em agricultura familiar a commodities (FUZATTO et al., 2014).

Esta espécie corresponde a mais de 90% da produção mundial de algodão, com destaque na produção de fibras com características ideais para utilização em indústrias de confecções. A extração de óleo e fabricação de farelo a partir e sua semente também são

formas de beneficiamento dessa planta (MALERBO e COUTO, 1990; BELTRÃO e DE ARAÚJO, 2013; ALVES, SOUZA e BORGES, 2020), São explorados comercialmente para a produção de cosméticos, sabão e margarinas, seu caroço é empregado a alimentação animal por conta do teor proteico (40% a 45%), o tegumento da semente é explorado para síntese de plásticos e borracha, ainda há penugem fina em torno do caroço denominada fabrilha, utilizada em indústrias químicas para produção de explosivos (BELTRÃO e DE ARAÚJO, 2013).

Se trata de uma espécie exigente, não apenas pela qualidade do solo no que se trata de acidez ou baixo teor nutritivo, mas solos extremamente úmidos ou sujeitos a encharcamento como os solos rasos e compactados não favorecem muito bem o desenvolvimento da espécie (FUZATTO *et al.*, 2014).

Em relação a condições climáticas, segundo Oosterhuis (1990) a temperatura é um fator de influência considerável no crescimento do algodoeiro, esta que pode variar de 21 a 37°C com o ideal próximo a 35°C (LOKA e OOSTERHUIS, 2010); além disto o algodão é tipo C3, apresentando alta taxa de fotorrespiração (38% da fotossíntese) e ponto de compensação de CO₂ alto, sendo particularmente sensível a ausência de luz (ROSOLEM, 2001).

3.2. Ciclo e fenologia do algodoeiro

O algodoeiro é uma planta de crescimento vegetativo indeterminado, por isto, esta planta possui morfologias mais complexas entre outras plantas cultivadas, sendo que diferentes cultivares de algodoeiro podem apresentar ciclos mais precoces ou tardios (130 dias a 170 dias ou mais). Por motivos como estes, a estruturação de uma única escala de desenvolvimento enfrentando diversas condições e variantes de plantio existentes pode ser confusa (MARUR e RUANO, 2004; RITCHIE *et al.*, 2007).

Sendo repleto de eventos que ocorrem simultaneamente, como o crescimento vegetativo, surgimento de gemas reprodutivas, florescência e desenvolvimento dos frutos, cada evento tem sua importância para produção final, porém devem ocorrer em equilíbrio, isto é, a competição interna por biomassa deve ser minimamente afetada (MUNGER *et al.*, 1998; ROSOLEM, 2001).

Em relação a possíveis manejos, segundo Marur e Ruano (2004), normalmente se diz que as observações ocorrem em épocas específicas. Porém, devido à inexistência de uma escala única para o algodão, a caracterização das fases fenológicas através do parâmetro temporal acaba gerando equívocos consideráveis diante ao real estágio de desenvolvimento.

A cotonicultura demanda de monitoramento constante para diagnósticos de pragas e

doenças, fertilização e aplicação de maturadores e desfolhantes, por isto em 2004, Marur e Ruano publicaram a “Escala do Algodão” que se trata da fenologia do algodoeiro de modo a facilitar a identificação dos estádios de crescimento da planta em questão.

A codificação das etapas nas fases, tem-se como a primeira a fase vegetativa, codificada pela letra V, e a etapa V0 concerne à emergência da plântula até o comprimento da nervura principal da primeira folha alcançar 2,5 centímetros; V1 também em relação ao comprimento da nervura principal atingindo 2,5 centímetros, porém se trata da segunda folha; a partir disto (V1 a Vn) o critério é o mesmo (MARUR e RUANO, 2004; BÉLOT e VILELA, 2020).

A segunda fase, codificada pela letra B, é quando há a formação dos botões florais; a etapa B1 corresponde ao surgimento do primeiro botão floral visível; a etapa B2 se refere ao primeiro botão floral visível, no segundo ramo frutífero; B3 a Bn o critério é o mesmo, sendo que o florescimento do primeiro botão floral do primeiro ramo frutífero é o que determina o final dessa segunda fase e o início da terceira fase (MARUR e RUANO, 2004; BÉLOT e VILELA, 2020).

A terceira fase, codificada pela letra F, é caracterizada pelo florescimento, a etapa F1 se refere ao primeiro botão floral do primeiro ramo que floresce; bem como na etapa F1, a F2 trata do primeiro botão floral florescendo no segundo ramo; F3 a Fn segue o mesmo critério que as demais, consequentemente o desenvolvimento da primeira “maçã” do algodoeiro marca o final da fase F e a transição para a última fase (MARUR e RUANO, 2004; BÉLOT e VILELA, 2020).

A última fase, codificada pela letra C, caracteriza-se pela abertura e transformação das “maçãs” em capulhos, e C1 se refere a abertura da maçã do primeiro ramo; C2, abertura da primeira maçã do segundo ramo; C3 a Cn seguindo os mesmos critérios (MARUR e RUANO, 2004; BÉLOT e VILELA, 2020).

3.3. Características gerais de plantio

A semeadura deve ser feita acima de 5 centímetros de profundidade, com emergência estimada entre 4 e 9 dias, neste período, caso o solo não esteja extremamente seco, o fator que mais influencia a velocidade de embebição da semente e emissão da radícula é a temperatura, com o ideal girando próximo de 37°C (ROSOLEM, 2001; RITCHIE *et al.*, 2007; FUZATTO *et al.*, 2014).

Para emergência do hipocótilo a temperatura deve estar entre 21 e 34°C; nesta fase, em condições ideais, a raiz pode crescer de 1,2 a 5 centímetros por dia, neste sentido quando a

parte aérea atingir algo próximo a 35 centímetros de altura a raiz terá 90 centímetros de profundidade, partindo da fase vegetativa o primeiro botão floral aparece entre o quinto e o sexto nó (ROSOLEM, 2001; RITCHIE *et al.*, 2007).

Do botão floral à primeira flor o desenvolvimento vegetativo é essencial para produção de muitas posições frutíferas, nessa etapa a exigência hídrica quadruplica, a falta de água neste período resultará em planta menor e com menos posições florais, estacionando o crescimento, porém passível de recuperação (KERBY e HAKE, 1996; ROSOLEM, 2001).

A última fase, determinada pelo início de abertura dos capulhos, dura cerca de 4 a 6 semanas, variando de acordo com temperatura, disponibilidade hídrica e nutrientes. Nessa fase ocorre a translocação de nutrientes, por isso, é comum que o crescimento vegetativo seja inibido, pela grande quantidade de maçãs se desenvolvendo. A atividade de raízes e folhas é reduzida, afetando a obtenção de água e a fotossíntese, consequentemente outros processos serão influenciados, além disso, caso ocorra estresses durante esse processo, o desenvolvimento final pode ser prejudicado (ROSOLEM, 2001).

Ainda que todas as condições ideais sejam dispostas a planta, a queda de até 60% das estruturas reprodutivas é um fenômeno natural, que pode ser amenizado pelo aumento de irrigações e uso de fósforo, incrementando a quantidade de capulhos por planta além da produtividade de fibras, estas quedas são controladas pelo balanço de açúcares nos tecidos e teores de etileno, que participa diretamente do envelhecimento da planta, também sendo comum observar a queda excessiva de estruturas vegetativas (OOSTERHUIS, 1990; MUNGER *et al.*, 1998; ROSOLEM, 2001; AQUINO *et al.*, 2012).

3.4. Doenças microbianas comuns de algodoeiro

Micro-organismos são capazes de interagir com seus hospedeiros de diferentes maneiras, oferecendo vantagens ou não, como por exemplo, potencializando o desenvolvimento do vegetal ou gerando resistência contra patógenos e déficit de nutrientes, no entanto, dependendo do micro-organismo, ele pode definhir ou necrosar partes da planta, bem como interferir negativamente na obtenção de nutrientes (GOMES *et al.*, 2016; BÉLOT e VILELA, 2020).

Dentre as principais doenças do algodão provenientes de micro-organismos, tem: a ferrugem tropical, mancha de alternária, mancha de stemphylium, mancha de mirotécio, murcha de fusarium, murcha de verticillium, mofo branco, pinta preta, ramulária, ramulose, mancha-angular, mosaico das nervuras do algodoeiro, mosaico comum, vermelhão e outras causadas por nematoides (ZAMBIASI, TONETTI e AZEVEDO, 2017; CHITARRA, 2014).

Dessas doenças citadas, tem-se que algumas possuem afinidades por determinadas fases e tecidos das plantas, por exemplo, os três principais micro-organismos que atacam as raízes são os causadores de tombamento, murcha de verticillium e murcha de fusarium, capazes de apresentar sintomas indiretos em caules e folhas, afetando principalmente o estabelecimento da planta e a fase vegetativa (SARAN, 2018).

Outras doenças como mosaico comum, mosaico de nervuras, vermelhão, mofo branco, pinta preta, mancha de mirotécio, mancha angular, ferrugem do algodoeiro, são capazes de apresentar sintomas diretos ou indiretos em diferentes tecidos da planta, e pode confundir a identificação de doenças, além disso essas doenças podem estar presentes em todas as fases de desenvolvimento do algodoeiro, por tempo indeterminado (CHITARRA, 2014; SARAN, 2018).

4. METODOLOGIA

Os experimentos foram executados utilizando isolados fúngicos pertencentes à coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Agrícola do IF Goiano – Campus Rio Verde. Esses fitopatógenos foram previamente isolados de folhas sintomáticas de *Gossypium hirsutum*, apresentando sintomas de necrose e murcha foliar, essas folhas foram acondicionadas em sacos plásticos assépticos e conduzidas para o laboratório para assepsia superficial para remoção de epifíticos.

Para assepsia o material foi imerso em uma solução Tween 80 a 2% e posto sobre agitação durante 5 minutos a 150 rpm, os fragmentos foram lavados com água e desinfetados com álcool 70% por 1 minuto, hipoclorito de sódio por 3 minutos e novamente álcool 70% por 30 segundos.

Para obtenção de endofíticos, fragmentos de 1x1 cm do tecido foliar foram cortados e depositados em meio BDA sólido em placas de Petri e essas placas foram incubadas em 35°C por 7 dias, os fungos que apareceram foram isolados e purificados em BDA para posterior identificação (Figura 1).

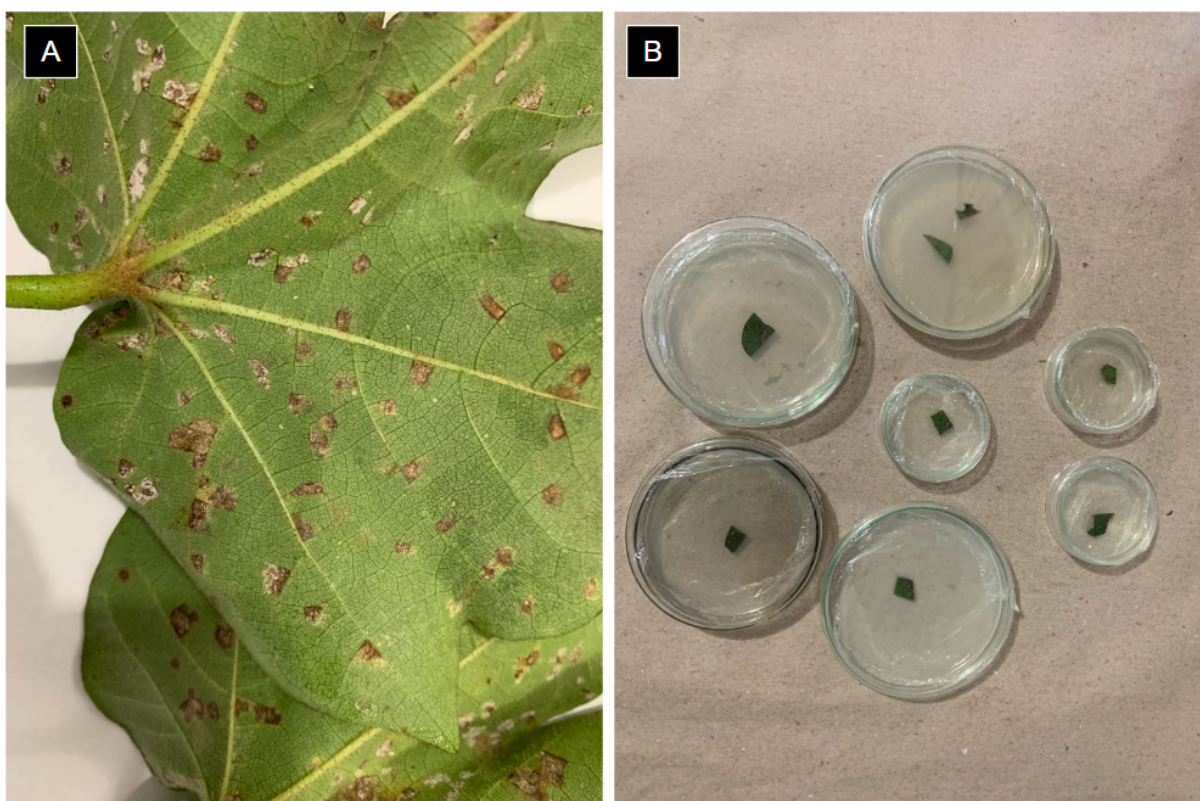


Figura 1. Isolamento de fitopatógenos. Tecido foliar sintomático apresentando pontos de necrose (A); placas de Petri com meio de cultura BDA sólido inoculadas com fragmentos de tecido vegetal infectado para obtenção de endofíticos (B).

Para identificação, os isolados fúngicos foram enviados ao Instituto Biológico de São Paulo, o DNA genômico fúngico foi extraído conforme a metodologia de Cheng e Jiang (2006) cada morfotipo teve um representante utilizado para extração de DNA genômico, realizado com kit de extração Minirep (Axygen biosciences, USA) conforme orientações do fabricante. O marcador molecular IRAP-PCR (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphisms), com os oligos CL IRAP1 e CL IRAP4 (Santos *et al.*, 2012), foram utilizados para diferenciação de linhagens.

A identificação foi executada mediante o sequenciamento parcial do ITS (Internal Transcribed Spacer) no rDNA através dos oligonucleotídeos ITS 4 e ITS 5 (White *et al.*, 1990), Calmodulina (CaM), β -tubulina (TUB) amplificados e purificados (Dunn e Blattner, 1987) foram sequenciados pelo método de Sanger e as sequências foram pareadas com sequências do GenBank por similaridade via Blastn (Altschul *et al.*, 1990) com homologia superior a 97%.

4.1. Preparo do material vegetal e inóculos

As sementes foram cultivadas em vasos de 5 litros com aproximadamente 7,5 quilogramas de solo em cada vaso. Através da análise do solo (Tabela 1), atributos químicos e nutricionais foram corrigidos com macro e micronutrientes conforme a quinta aproximação de Goiás (EMGOPA, 1988), antes do plantio.

Tabela 1. Lista de dados físico-químicos, contendo teores de elementos químicos de macro e micronutrientes, pH, matéria orgânica e dados de granulometria, apresentando as proporções de argila, areia e silte.

Macronutrientes			Matéria orgânica		
Ca	<i>cmolc/dm³</i>	2.5	Mat. Org.	%	1.2
Mg	<i>cmolc/dm³</i>	0.7	Mat. Org.	<i>g/kg</i>	12.0
Ca+Mg	<i>cmolc/dm³</i>	3.2	Sat. Al (M%)	%	0
Al	<i>cmolc/dm³</i>	0.00	Sat. Base (V%)	%	58
H+Al	<i>cmolc/dm³</i>	2.4	Ca/Mg	-	3.6
CTC	<i>cmolc/dm³</i>	5.78	Ca/CTC	%	43.1
P (Mehlich I)	<i>mg/dm³</i>	1.2	Mg/CTC	%	12.1
K	<i>cmolc/dm³</i>	179	(H+Al)/CTC	%	41.4
K	<i>mg/dm³</i>	70	K/CTC	%	3.1
Na	<i>mg/dm³</i>	1			
Micronutrientes e pH			Granulometria		
S	<i>mg/dm³</i>	5	Argila	%	50
B	<i>mg/dm³</i>	0.26	Argila	<i>g/kg</i>	500.00
Cu	<i>mg/dm³</i>	5.0	Silte	%	10
Fe	<i>mg/dm³</i>	250	Silte	<i>g/kg</i>	100.00
Mn	<i>mg/dm³</i>	29	Areia	%	40
Zn	<i>mg/dm³</i>	0.6	Areia	<i>g/kg</i>	400.00
pH (CaCl₂)	<i>Un.</i>	5.0			

Foram cultivadas 2 mudas por vaso, mantidas em casa de vegetação com temperatura e umidade média medidas às 08h (28°C e 48%) e às 13h (36°C e 30%), e, também foi caracterizada a radiação fotossinteticamente ativa e a concentração de CO₂ respectivamente nos seguintes horários, às 08h (598 µm e 575 ppm), às 12h (1011 µm e 623 ppm) e às 16h (370 µm e 662 ppm). As plantas foram irrigadas diariamente, conforme necessidade.

Os micélios dos fungos fitopatogênicos foram cultivados em meio BDA (água batata dextrose) para *D. ueckerae* e em meio LB (Luria Bertani) para *F. equiseti*, por 7 dias a temperatura de 30°C. A inoculação ocorreu em conjunto, por meio de fragmentos miceliais de 5 mm, depositados diretamente nas folhas para tratamentos com inoculação em parte aérea, cinco folhas de cada repetição foram inoculadas cada uma com um fragmento, e quatro fragmentos por repetição em sulcos feitos próximos as raízes para tratamentos com inoculação em parte radicular (Figura 2).

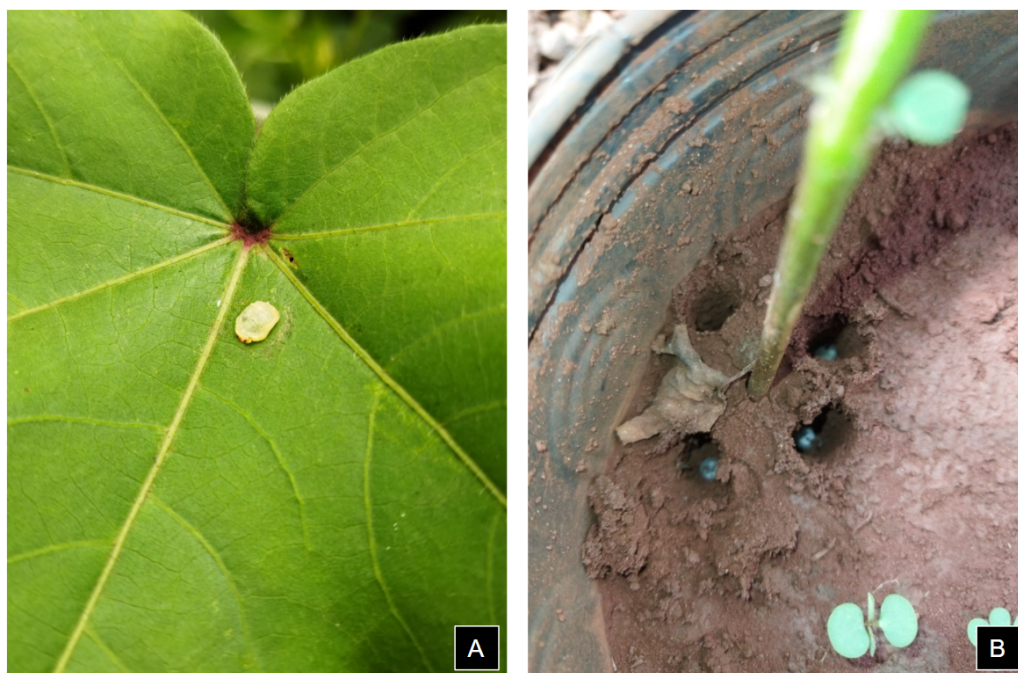


Figura 2. Disposição de fragmentos miceliais diferenciando os tipos de inoculação. Localização dos fragmentos miceliais para inoculação de plantas em parte aérea (A), localização dos fragmentos miceliais para inoculação de plantas na parte radicular (B).

O nível de colonização e apresentação de sintomas desses órgãos foram analisados anatômica e fisiologicamente após 7 dias em 3 diferentes estádios fenológicos dos algodoeiros (Figura 3) sendo a fase V, B e “M”, essa última considerada a etapa em que as plantas apresentam frutos em seus ramos.

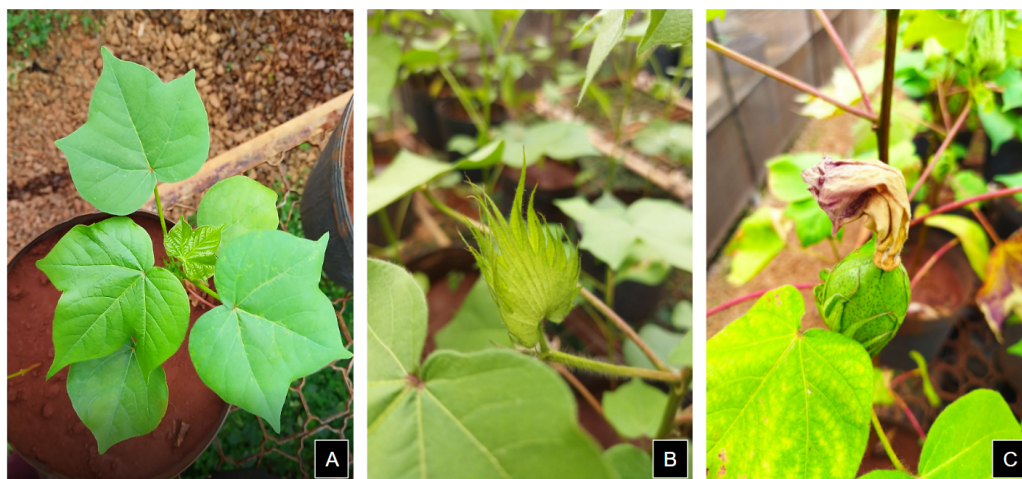


Figura 3. Algodoeiros em diferentes estádios fenológicos representando cada fase analisada. Fase vegetativa (A), fase de botões florais (B), fase de “maçãs” (C).

Os resultados foram comparados aos observados em plantas controle, não inoculadas, cada tratamento e controles contando com 5 repetições, totalizando 90 unidades experimentais, considerando os dois fitopatógenos.

4.2. Concentração de pigmentos fotossintéticos

Parâmetros relacionados a teores de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides) foram mensurados conforme Wellburn (1994), através de 3 discos foliares com 5 mm de diâmetro por tratamento (Figura 4).

Os discos foliares foram incubados em solução de DMSO (dimetilsulfóxido) saturada com CaCO_3 (carbonato de cálcio) em frascos âmbar e inseridos banho-maria com agitação (TECNAL, Banho Dubnoff, TE-053) a 65°C durante 8 horas a 30 rpm para extração dos pigmentos. A absorbância do extrato foi lida através de um espectrofotômetro (SHIMADZU, UV-Visible Spectrophotometer, UV-1800) por comprimentos de onda a 665, 649 e 480 nanômetros referentes a clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides respectivamente.



Figura 4. Análise de pigmentos fotossintéticos. Coleta de discos foliares para extração de pigmentos (A) e análise da extração com espectrofotômetro (B).

4.3. Fluorescência da clorofila

A fluorescência da clorofila foi determinada através de um fluorômetro portátil (Figura 4.A) FluorPen FP 100 (PSI - Photon Systems Instruments, Drasov, Czech Republi). As amostras foram adaptadas ao escuro através de pinças que são anexadas ao fluorômetro (Figura 5) e após 30 minutos, expostas à luz azul ($3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) emitida pelo equipamento, para fluorescência mínima (F_0) a medida foi a 50 μs quando os centros de reação PSII estavam fechados (etapa O), em seguida a 2 μs (etapa J) e depois 30 μs (etapa I),

a fluorescência máxima (F_m) e os centros de reação PSII estavam fechados (etapa P), tais valores foram utilizados de forma a estimar índices bioenergéticos do PSII segundo Strasser, Srivastava e Tsimilli-Michael (2000), isto é, DI_0/RC (fluxo de energia dissipada por centro de reação), PI_{ABS} (desempenho baseado na absorção) e ABS/RC (fluxo de absorção por centro de reação).



Figura 5. Coleta de dados de fluorescência da clorofila. Fluorômetro executando leitura dos dados (A) e área foliar da coleta de dados sendo adaptada ao escuro para análise (B).

4.4. Índices de trocas gasosas

As trocas gasosas foram avaliadas às 08h através de um analisador de gases infravermelho (IRGA modelo LI-68400XT, LI-COR Inc., Lincoln, EUA) (Figura 6). Os dados foram lidos considerando o terço superior da planta, padronizados através da terceira folha abaixo do meristema apical, tomando as medidas durante o período matutino pela radiação fotossinteticamente ativa (PAR, $1000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentração de CO_2 atmosférico ($400 \mu\text{mol mol}^{-1}$), temperatura a 25°C e umidade relativa em 50% na câmara de medição. De modo a evidenciar alterações nos seguintes parâmetros: taxa fotossintética (A), taxa transpiratória (E), condutância estomática (g_s), concentração interna de CO_2 (C_i), eficiência no uso da água (EUA) e eficiência instantânea de carboxilação (A/C_i).



Figura 6. Coleta de dados para índices de trocas gasosas realizada com o analisador de gás no infravermelho (IRGA).

4.5. Delineamento experimental e análise estatística

Os experimentos foram conduzidos em blocos ao acaso, considerando esquema fatorial duplo ($2 \times 3 + 1$), ou seja, duas formas de inoculação dos fitopatógenos (folhas e raízes), três fases de crescimento da fenologia do algodoeiro (V, B e “M”) e um tratamento controle constituído por plantas não inoculadas e observadas nas três fases de desenvolvimento em questão, cada tratamento foi avaliado em 5 repetições, sendo cada repetição, duas plantas por vaso.

Os dados observados para os diferentes parâmetros fisiológicos foram submetidos a teste de normalidade e ANOVA, e quando verificado efeito das variáveis exploratórias (local de infecção e fase do desenvolvimento), as médias foram comparadas por teste Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram conduzidas utilizando o software estatístico Sisvar (Versão 5.6; Build: 90) (FERREIRA, 2022) e RStudio (R CORE TEAM, 2022) (Versão 4.2.0; Build: 485).

4.6. Microscopia eletrônica de varredura

A análise de microscopia foi realizada de modo a evidenciar a infecção e mecanismos celulares envolvidos na penetração e colonização de folhas do algodão pelos fitopatógenos em questão. Fragmentos de tecido foliar de plantas de algodão de 1x1 cm foram segmentados e prefixados em solução Karnovsky para avaliação de microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram levadas a um secador com dióxido de carbono, revestidas com ouro através de jatos de íons para posterior observação sob MEV.

5. RESULTADOS

Após a identificação dos sequenciamentos genômicos foram confirmadas as espécies de fitopatógenos relatadas induzindo plantas de algodoeiro a expressar sintomas em suas partes vegetativas e reprodutivas (Figuras 7 e 8).

Sintomas anatômicos como manchas translúcidas, cor amarronzada na borda das folhas, machas de contaminação, folhas com nervura amarelada, manchas amarelas, pontos de necrose, manchas na face abaxial das folhas (Figura 9), foram observados em plantas inoculadas por *F. equiseti* e *D. ueckerae* e também em plantas não inoculadas; nenhum dos sintomas foi intenso o suficiente para debilitar as unidades amostrais, sendo assim, não houve sintomas comumente gerados por susceptibilidade vegetal como murcha, necrose e clorose, mas sintomas gerais de respostas vegetais mediante a estresses bióticos ou abióticos leves. Além disso, dados da fase de maçã demonstram que as plantas nessa fase possuem valores em parâmetros fisiológicos depreciados, não pelo estresse causado por patógenos, mas, sim pela realocação de biomassa para partes reprodutivas da planta, e pode afetar respirações de manutenção e crescimento causando a senescência de folhas (Figura 10).

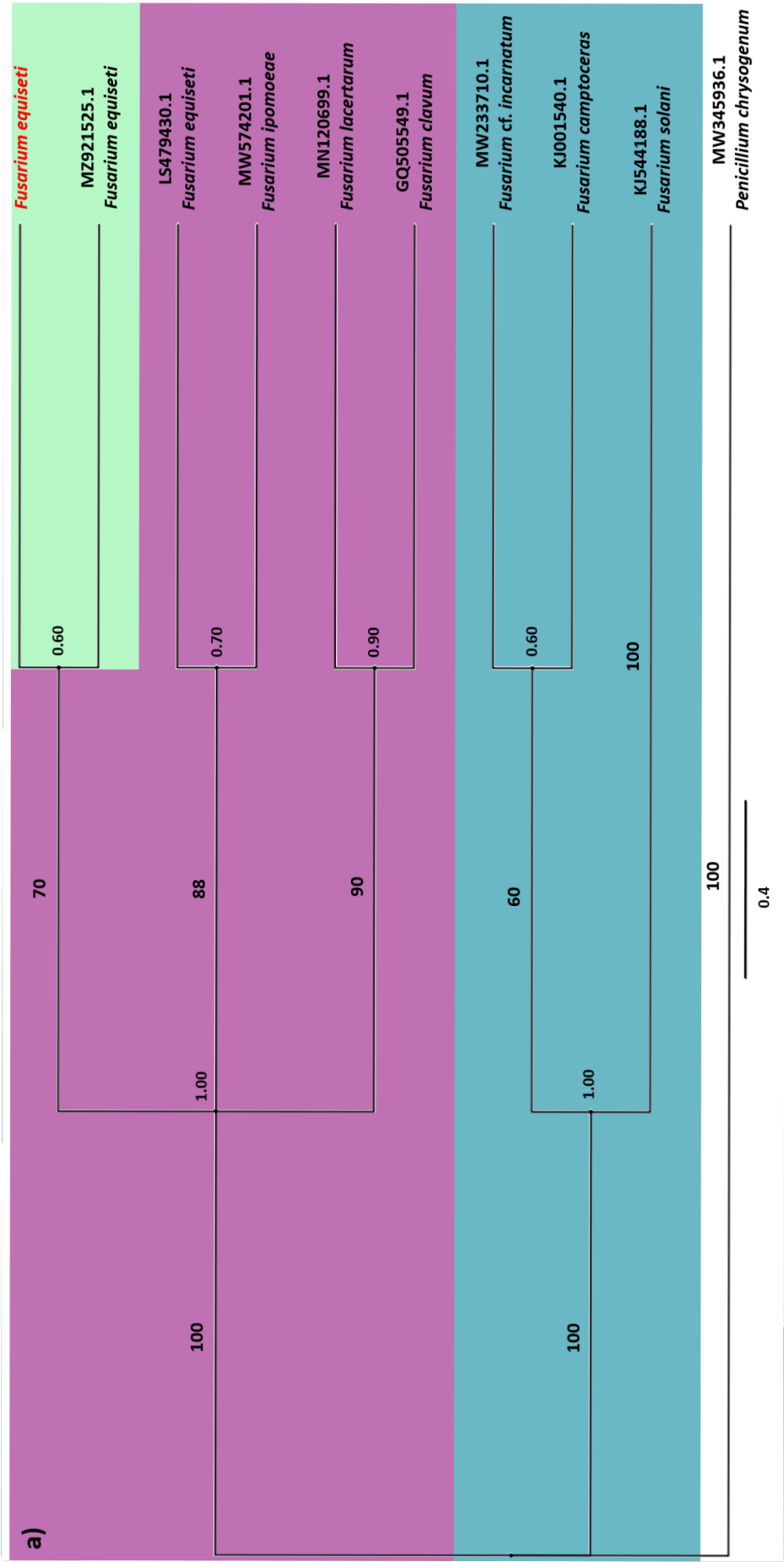


Figura 7. Árvore filogenética de *Fusarium* sp. gerada e analisada conforme sequenciamento parcial da região ITS (ITS 4 e ITS 5), Calmodulina (CaM) e β -tubulina (TUB). Sequências pareadas com seqüências do GenBank por similaridade via Blastn com homologia superior a 97%.

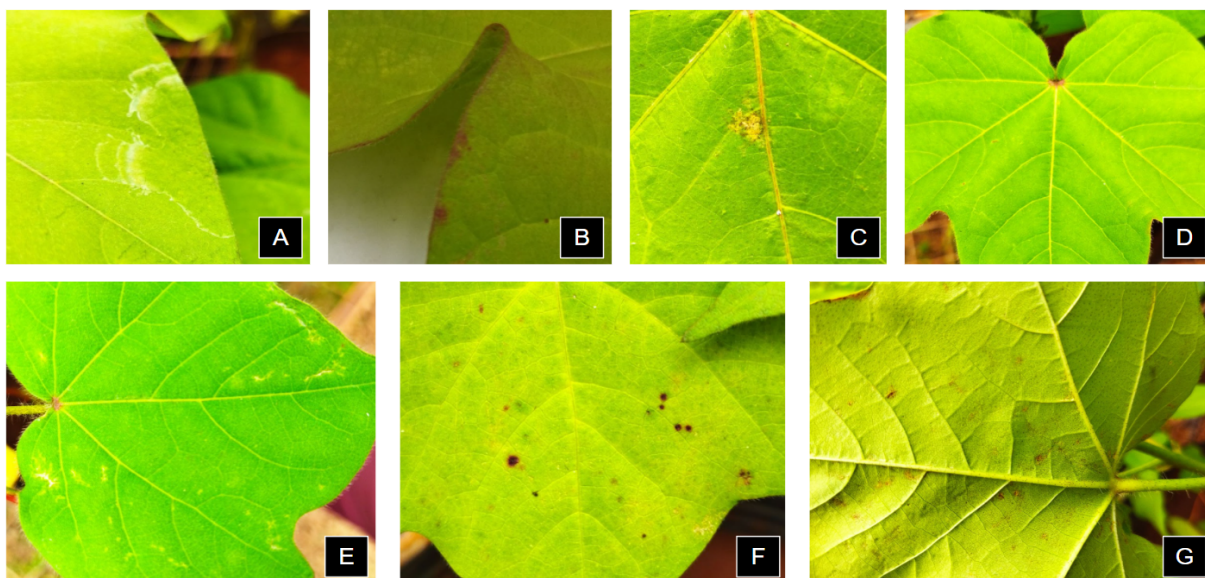


Figura 9. Sintomas gerais de respostas expressas por algodoeiros. Manchas translúcidas (A), cor amarronzada na borda das folhas (B), machas de contaminação (C), folhas com nervura amarelada (D), manchas amarelas (E), pontos de necrose (F), manchas na face abaxial das folhas (G).



Figura 10. Senescência de folhas durante a fase fenológica de "maçã", evidenciando a ausência de respiração de manutenção pela demanda energética de partes reprodutivas.

5.1. Concentração de pigmentos fotossintéticos

Dos parâmetros relacionados a pigmentos fotossintéticos, tem para clorofila *a* (Fig. 11 e Fig. 12), a fase M obteve menores parâmetros (14,53 e 15,89 $\mu\text{m cm}^{-2}$) em relação a fase V (45,06 e 43,67 $\mu\text{m cm}^{-2}$) e B (43,96 e 44,04 $\mu\text{m cm}^{-2}$), para *F. equiseti* e *D. ueckerae*, respectivamente, de modo que na fase V, embora plantas inoculadas com *F. equiseti* apresentaram apenas forte tendência, as inoculadas com *D. ueckerae* mostraram menores teores de clorofila *a* para plantas IPA (inoculadas em parte aérea; 37,18 $\mu\text{m cm}^{-2}$), seguido de plantas IPR (inoculadas em parte radicular; 44,24 $\mu\text{m cm}^{-2}$). Para fase B, foram observados menores teores de clorofila *a* em plantas IPR (36,71 e 40,55 $\mu\text{m cm}^{-2}$), seguidas por plantas IPA (45,68 e 42,07 $\mu\text{m cm}^{-2}$), para *F. equiseti* e *D. ueckerae*, respectivamente. A fase M, não apresentou diferenças estatísticas quanto ao tipo de inoculação.

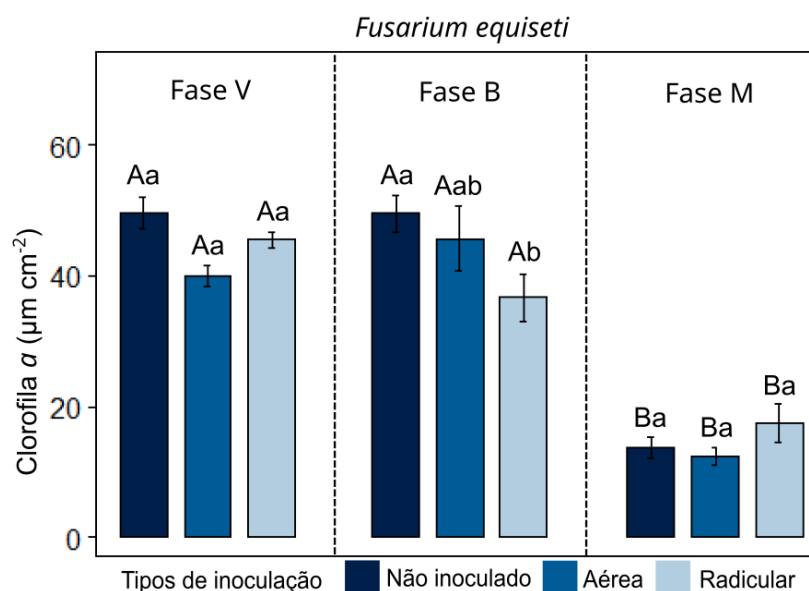


Figura 11. Clorofila *a*, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

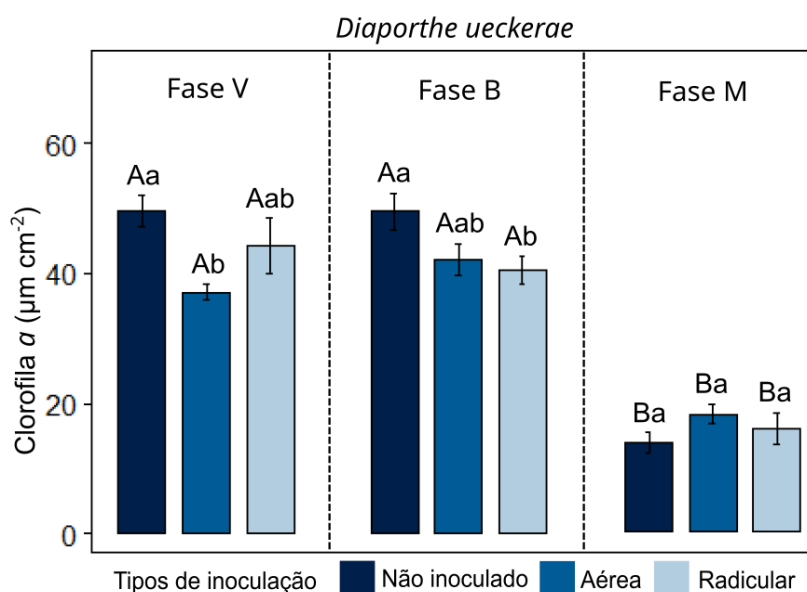


Figura 12. Clorofila *a*, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para clorofila *b* (Fig. 13 e Fig. 14), a fase M apresentou menores teores (4,93 e 5,65 $\mu\text{m cm}^{-2}$) quanto ao estresse gerado por *F. equiseti* e *D. ueckerae*, respectivamente. Quanto ao tipo de inoculação, a fase V e M não apresentaram diferenças, no entanto, para fase B, o estresse biótico causado pelos dois fungos avaliados resultou em redução nos teores de clorofila *b*, de modo que plantas IPR (21,06 e 21,23 $\mu\text{m cm}^{-2}$) apresentaram menores teores, seguidas de plantas IPA (24,11 e 22,92 $\mu\text{m cm}^{-2}$), respectivamente.

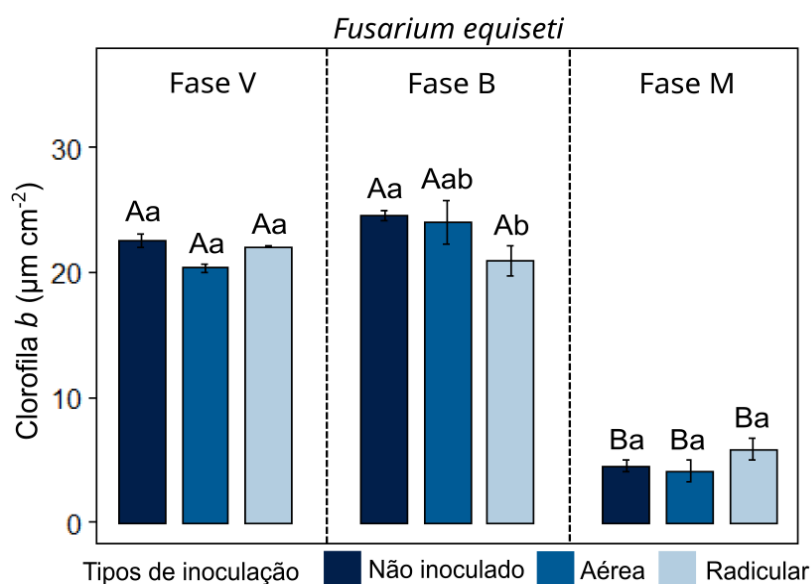


Figura 13. Clorofila *b*, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

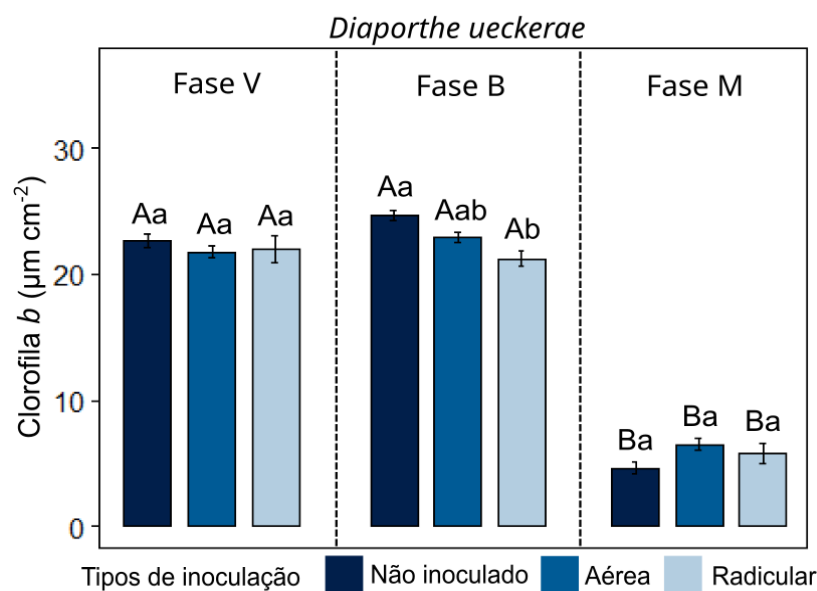


Figura 14. Clorofila *b*, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para o parâmetro de carotenoides (Fig. 15 e Fig. 16), referente ao fungo *F. equiseti* foi observado que a fase M foi mais susceptível ($4,93 \mu\text{m cm}^{-2}$) e quando comparados os tipos de inoculação, houve diferenças apenas para fase B, em que plantas IPR tiveram menores parâmetros ($12,62 \mu\text{m cm}^{-2}$). Para o fungo *D. ueckerae* plantas na fase B tiveram maiores parâmetros ($14,28 \mu\text{m cm}^{-2}$), seguida pela fase V ($13,27 \mu\text{m cm}^{-2}$) e M ($7,25 \mu\text{m cm}^{-2}$), respectivamente. Quanto aos tipos de inoculação, *D. ueckerae* não gerou estresses para que houvesse diferenças na fase M, no entanto na fase V (IPA: $12,13 \mu\text{m cm}^{-2}$; IPR: $12,72 \mu\text{m cm}^{-2}$) e B (IPA: $14,03 \mu\text{m cm}^{-2}$; IPR: $12,52 \mu\text{m cm}^{-2}$) foram estatisticamente menores em relação aos tratamentos não inoculados ($16,29 \mu\text{m cm}^{-2}$).

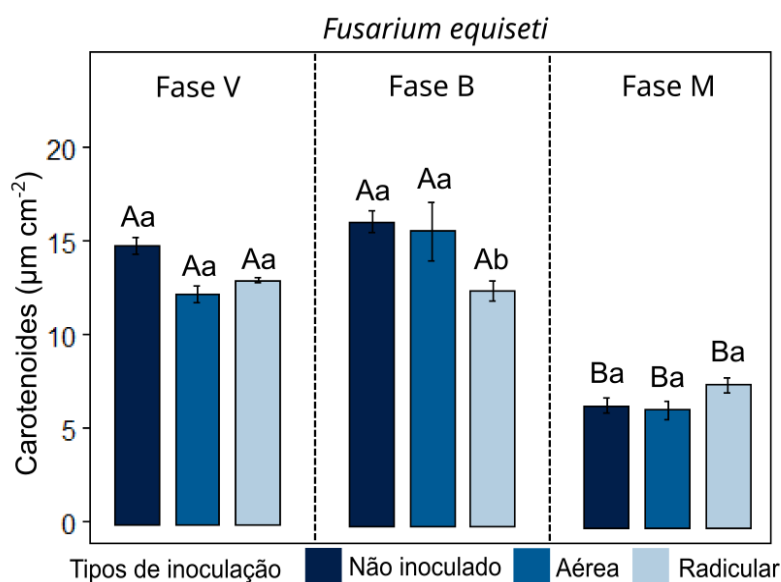


Figura 15. Teor de carotenoides, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

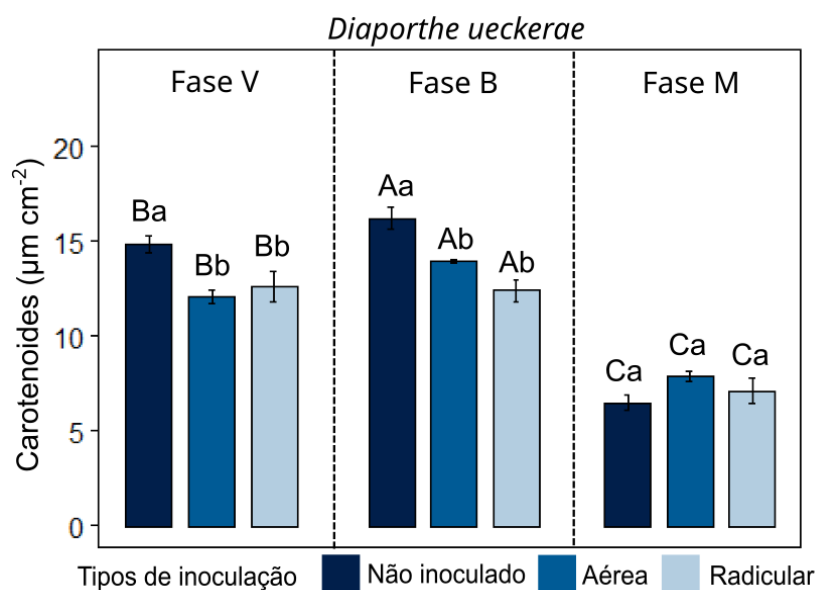


Figura 16. Teor de carotenoides, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Num aspecto geral foi visto dentro dos parâmetros de pigmentos fotossintéticos que, a fase M apresentou menores teores, no entanto a fase B teve maiores variações quanto ao tipo de inoculação, sendo possível constatar respostas de estresse biótico mais intensas em plantas IPR, exceto para clorofila *a* na fase V, em que plantas IPA apresentaram menores teores diante o estresse causado por patógenos.

5.2. Fluorescência da clorofila

Para os parâmetros de fluorescência, tem que em DI_0/RC (Fig. 17 e Fig. 18), *F. equiseti* induziu estresses de modo a gerar menores valores para fase B (0,652), com diferenças no tipo de inoculação para fase B e plantas não inoculadas tiveram maiores valores (0,763), seguidas nas plantas IPA (0,608) e plantas IPR (0,586), na fase M, plantas não inoculadas (NI) tiveram menores valores (0,738). *D. ueckerae* através dos estresses gerados, induziu maiores valores em plantas nas fases B (1,019), M (0,972) e V (0,966) respectivamente, para fase B plantas não inoculadas tiveram menores valores (0,763), seguido das plantas IPR (1,037) e plantas IPA (1,256), na fase M plantas IPR tiveram maiores valores (1,092) em comparação aos outros tratamentos.

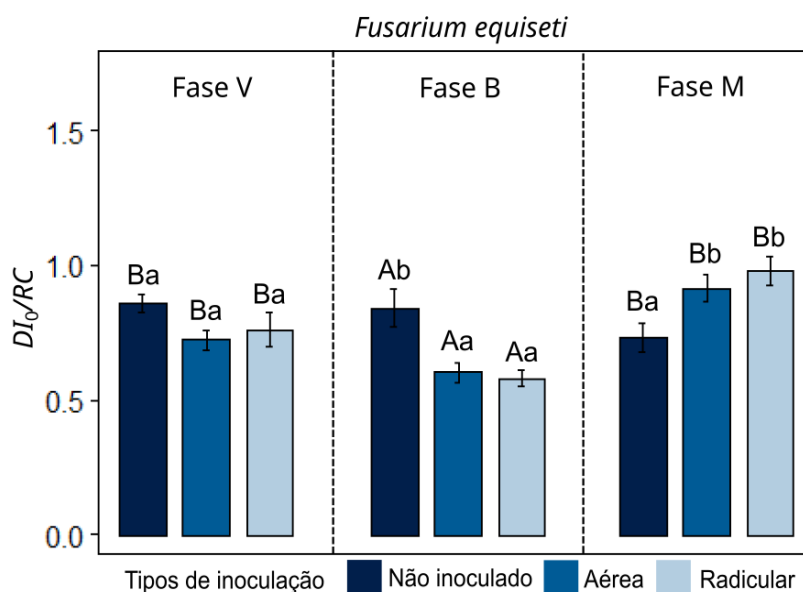


Figura 17. Fluxo de energia dissipada por centro de reação [$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$], comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

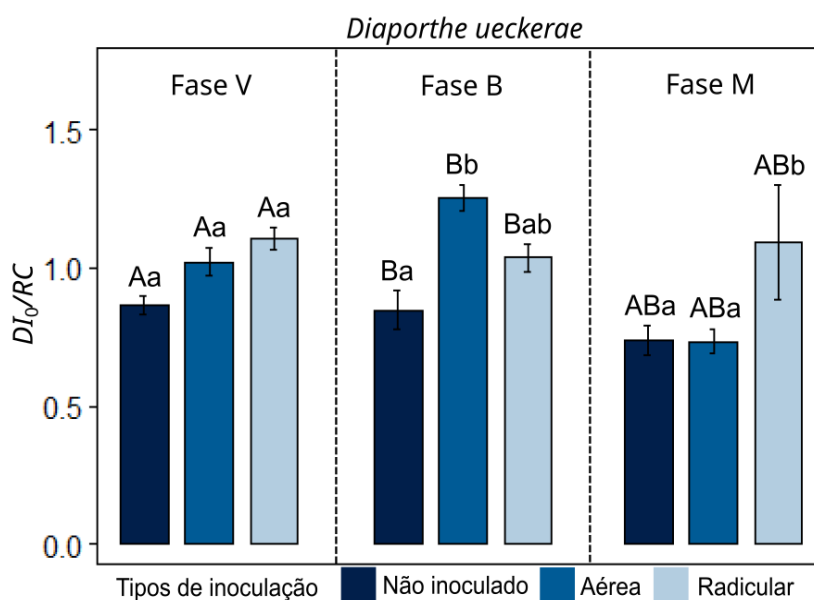


Figura 18. Fluxo de energia dissipada por centro de reação [$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$], comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para PI_{ABS} (Fig. 19 e Fig. 20), o fungo *F. equiseti* estressou as unidades amostrais de modo que a fase V apresentou os menores valores (0,579), com diferenças na fase B quanto aos tipos de inoculação, em que plantas inoculadas apresentaram maiores valores (IPA: 0,995; IPR: 0,926) em comparação as não inoculadas (0,524). *D. ueckerae* induziu estresses de modo a gerar maiores valores na fase M (0,798), que teve diferenças no tipo de inoculação e plantas IPR apresentaram menores valores (0,553) em comparação com os outros tipos de inoculação (NI: 1,073; IPA: 0,769).

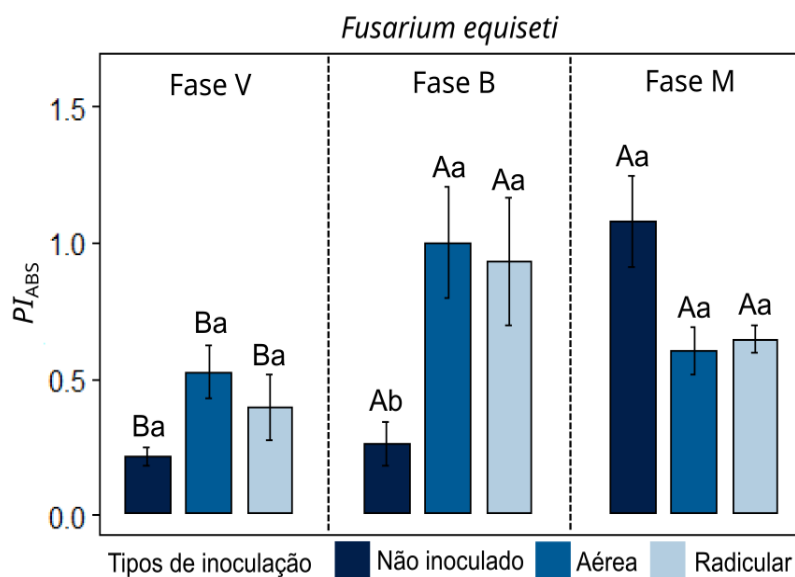


Figura 19. Desempenho baseado na absorção [$PI_{ABS} = RC/ABS \times \phi P_0/(1-\phi P_0) \times \psi E_0/(1-\psi E_0)$], comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

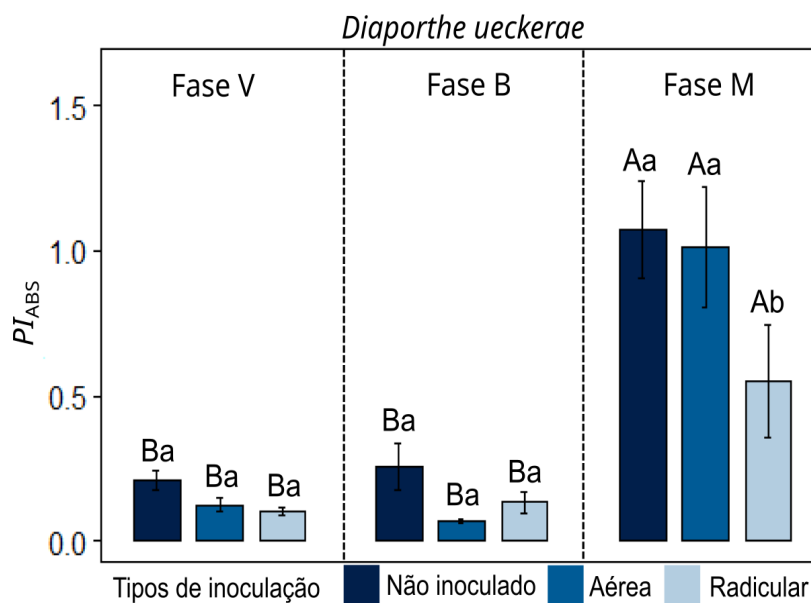


Figura 20. Desempenho baseado na absorção [$PI_{ABS} = RC/ABS \times \phi P_0/(1-\phi P_0) \times \psi E_0/(1-\psi E_0)$], comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para ABS/RC (Fig. 21 e Fig. 22), tanto o *F. equiseti* quanto o *D. ueckerae* geraram estresses bióticos de modo a gerar maiores valores para fase M (3,476 e 3,370, respectivamente), no entanto o estresse gerado por *F. equiseti* induziu em plantas na fase B menores valores (IPA: 2,357; IPR: 2,324) em comparação as NI (2,542), na fase M as plantas NI tiveram menores valores (3,164) em comparação aos outros tratamentos (IPA: 3,594; IPR: 3,670). O patógeno *D. ueckerae* estressou as plantas na fase B, de modo que plantas NI tivessem menores valores (2,542), seguidas de plantas IPR (2,885), já na fase M, plantas NI tiveram valores menores (3,164), seguidas de plantas IPA (3,450).

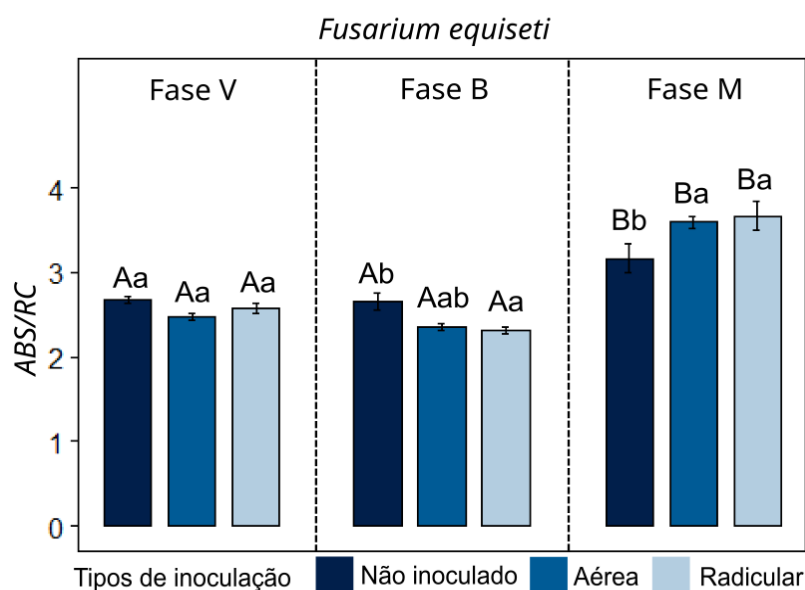


Figura 21. Fluxo de absorção por centro de reação [$ABS/RC = M_0 \times (1/V_j) \times (1/\phi P_0)$], comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

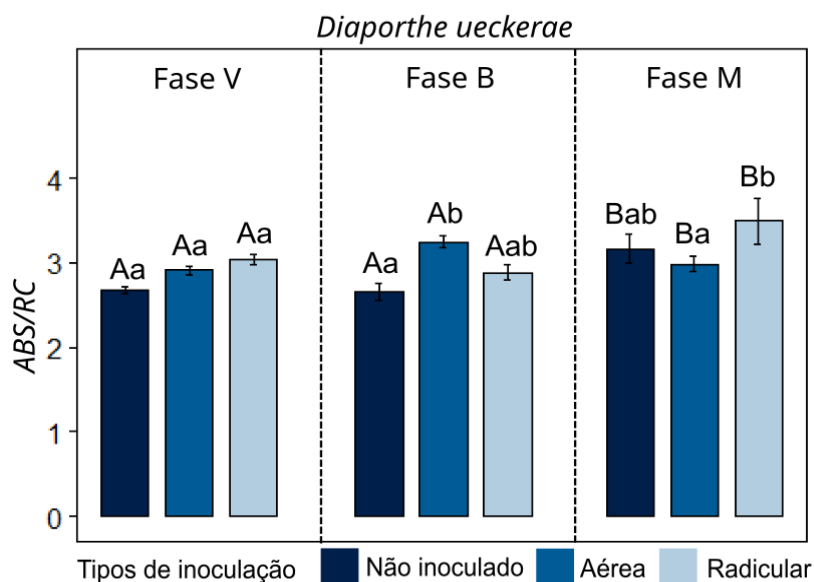


Figura 22. Fluxo de absorção por centro de reação [$ABS/RC = M_0 \times (1/V_j) \times (1/\phi P_0)$], comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Numa visão geral sobre os parâmetros de fluorescência observados, é possível observar que as maiores variações nos valores aconteceram na fase fenológica de botões florais, seguida da fase de “maçãs” que, embora teve valores menores quando comparada a outras fases, também apresentou variações quanto ao tipo de inoculação.

5.3. Índices de trocas gasosas

Para taxas fotossintéticas (Fig. 23 e Fig. 24) foram observados menores valores para fase M pelo estresse gerado por *F. equiseti* e *D. ueckerae* (5,10 e 5,88 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente), no entanto sem diferenças para os tipos de inoculação em todas as fases.

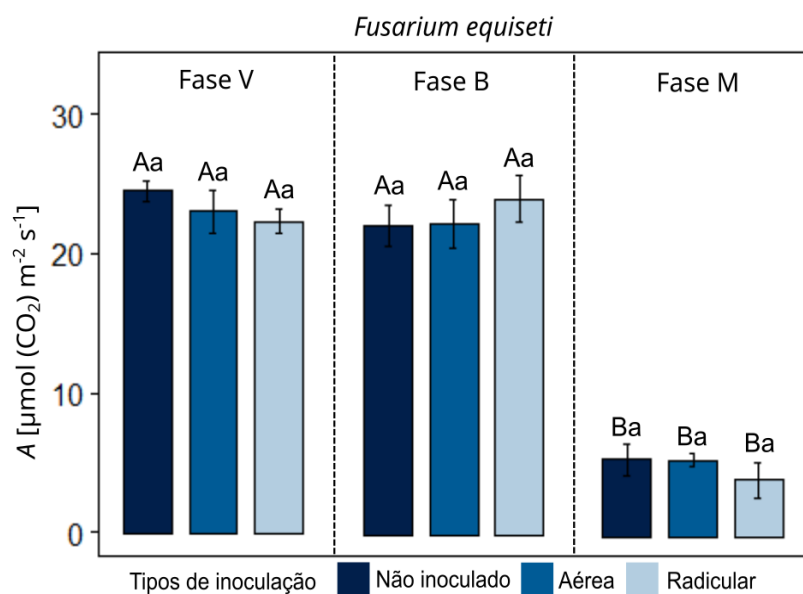


Figura 23. Taxa fotossintética, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

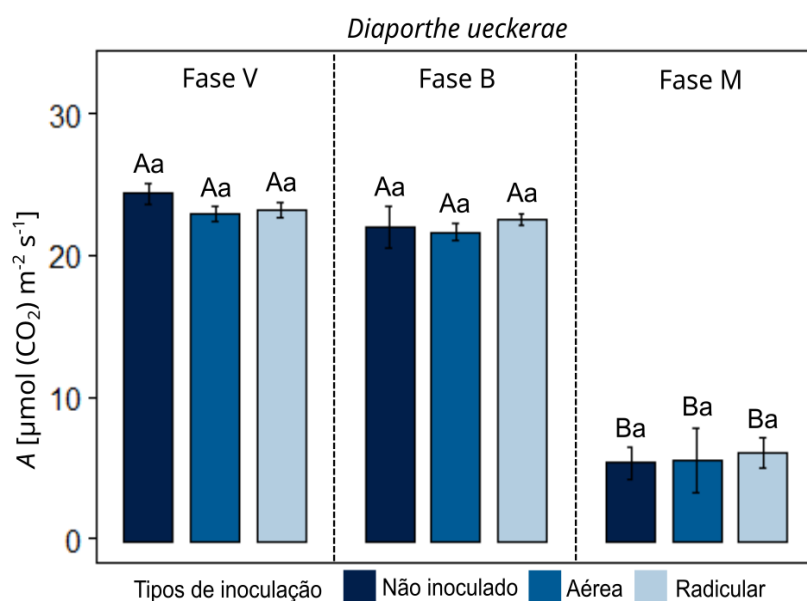


Figura 24. Taxa fotossintética, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para taxas transpiratórias (Fig. 25 e Fig. 26), foi visto que *F. equiseti* induziu maiores estresses nas fases M ($3,51 \text{ mmol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), B ($14,48 \text{ mmol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e V ($16,77 \text{ mmol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) respectivamente, enquanto *D. ueckerae* induziu estresses apenas para fase M ($2,86 \text{ mmol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Não foram observadas diferenças quando considerados os tipos de inoculação.

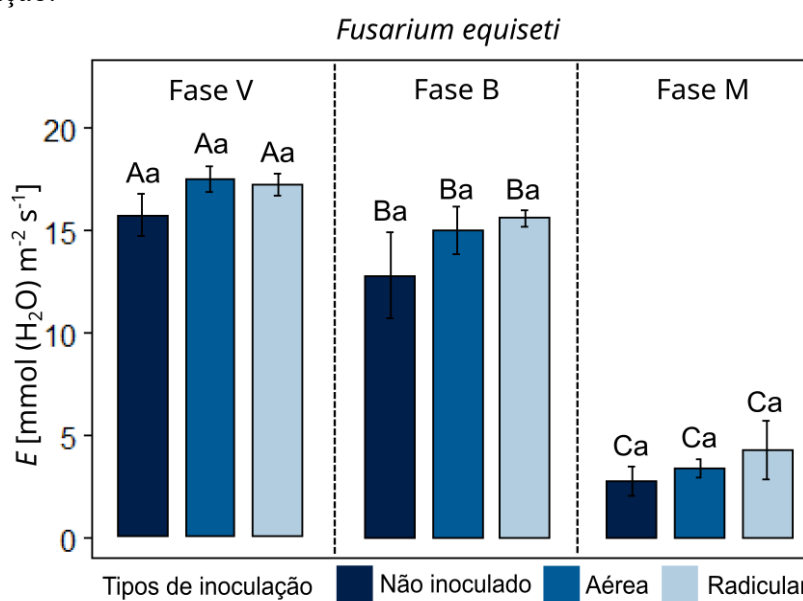


Figura 25. Taxa transpiratória, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados a fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

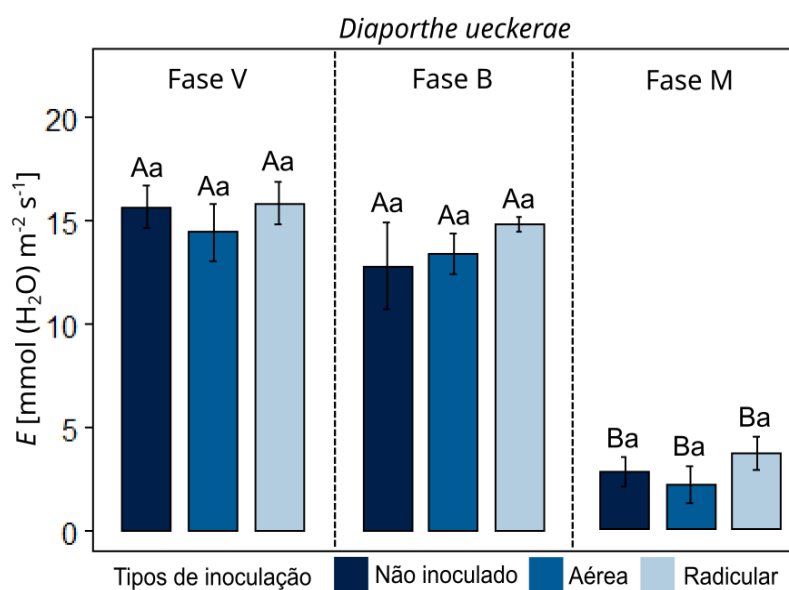


Figura 26. Taxa transpiratória, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para concentração interna de CO₂ (Fig. 27 e Fig. 28), *F. equiseti* induziu maiores estresses nas fases M (329,02 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$), B (335,68 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$) e V (344,93 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$) respectivamente, com diferenças no tipo de inoculação apenas na fase M, e plantas IPR obtiveram maiores valores (353,98 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$). *D. ueckerae* induziu estresses de modo que plantas na fase M tiveram menores valores (305,69 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$), com diferenças no tipo de inoculação, sendo que as plantas IPR tiveram maiores valores (318,40 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$), seguidas de plantas NI (308,08 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) mol}^{-1}$).

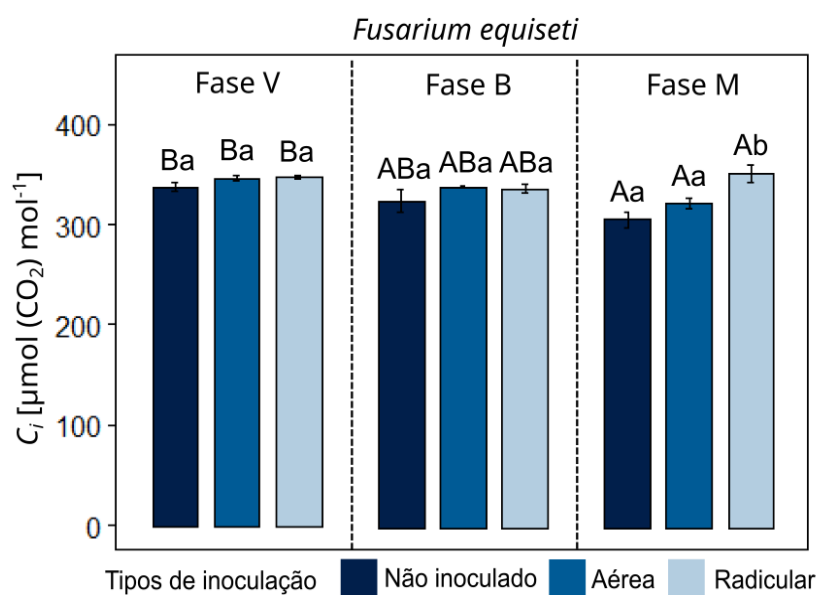


Figura 27. Concentração interna de CO₂, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados a fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

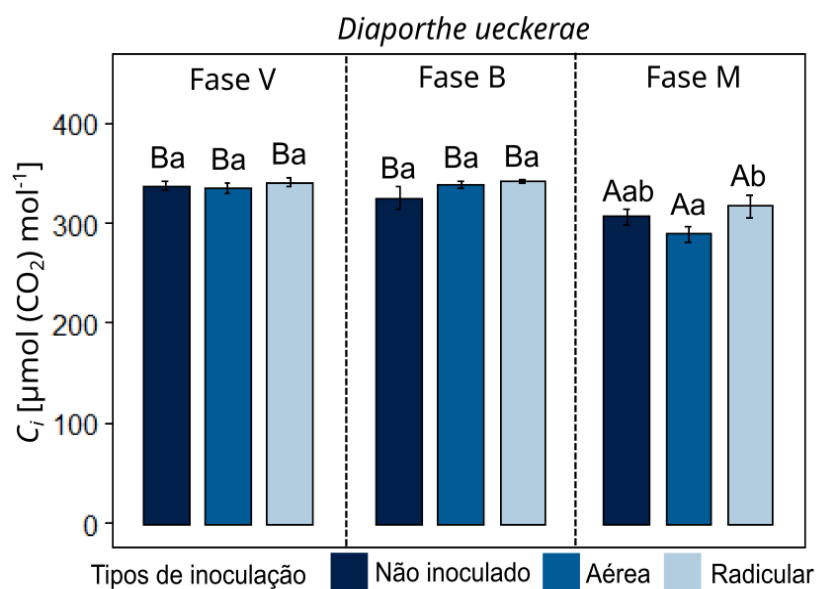


Figura 28. Concentração interna de CO₂, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados a fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para eficiência do uso da água (Fig. 29 e Fig. 30), o fungo *F. equiseti* não induziu estresse suficiente para gerar diferenças nos parâmetros entre fases fenológicas, mas o tipo de inoculação na fase M demonstrou menores valores para plantas IPR ($0,82 \mu\text{mol (CO}_2\text{) mmol (H}_2\text{O)}^{-1}$). *D. ueckerae* foi capaz de induzir estresses suficientes para gerar diferenças entre fases, e a fase M obteve maiores valores ($2,24 \mu\text{mol (CO}_2\text{) mmol (H}_2\text{O)}^{-1}$), além disso para os tipos de inoculação, plantas IPA tiveram maiores valores ($2,70 \mu\text{mol (CO}_2\text{) mmol (H}_2\text{O)}^{-1}$), seguidas nas plantas NI ($2,20 \mu\text{mol (CO}_2\text{) mmol (H}_2\text{O)}^{-1}$) e por fim as plantas IPR ($1,84 \mu\text{mol (CO}_2\text{) mmol (H}_2\text{O)}^{-1}$).

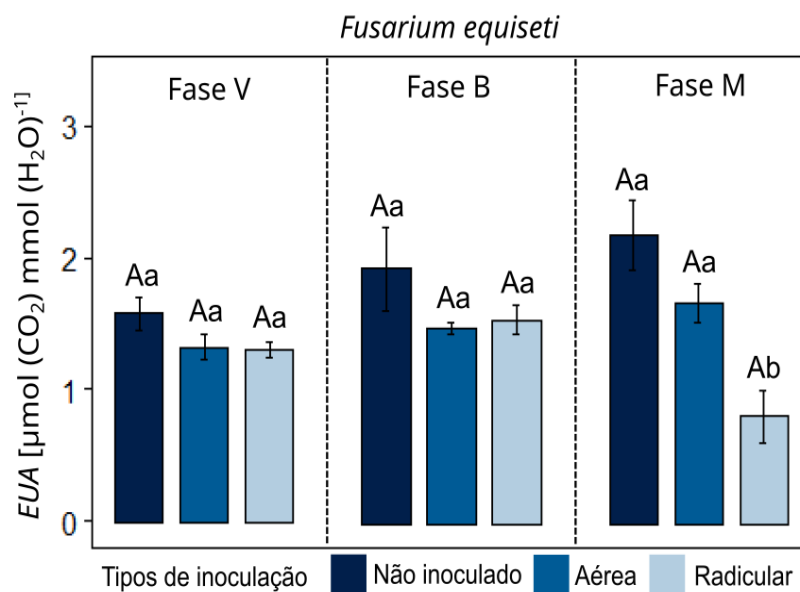


Figura 29. Eficiência do uso da água, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

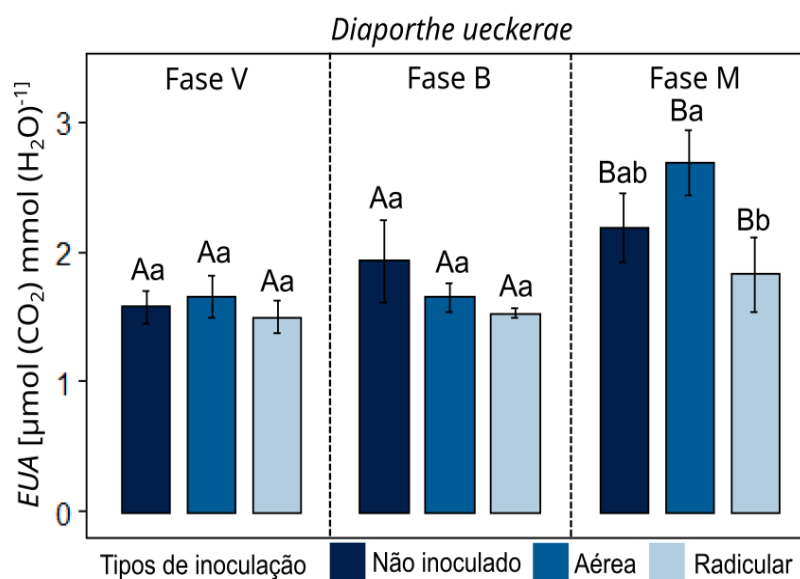


Figura 30. Eficiência do uso da água, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para condutância estomática (Fig. 31 e Fig. 32), o estresse biótico gerado por *F. equiseti* induziu nas plantas inoculadas, maiores valores na fase V ($1,213 \text{ mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), B ($0,978 \text{ mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e M ($0,184 \text{ mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) respectivamente, no entanto sem diferenças para os tipos de inoculação. O patógeno *D. ueckerae* induziu estresses de modo que plantas na fase M tiveram menores valores ($0,150 \text{ mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), mas sem diferenças estatísticas entre as fases V ($1,077 \text{ mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e B ($0,956 \text{ mol (H}_2\text{O) m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), além disso não houve diferenças entre os tipos de inoculação.

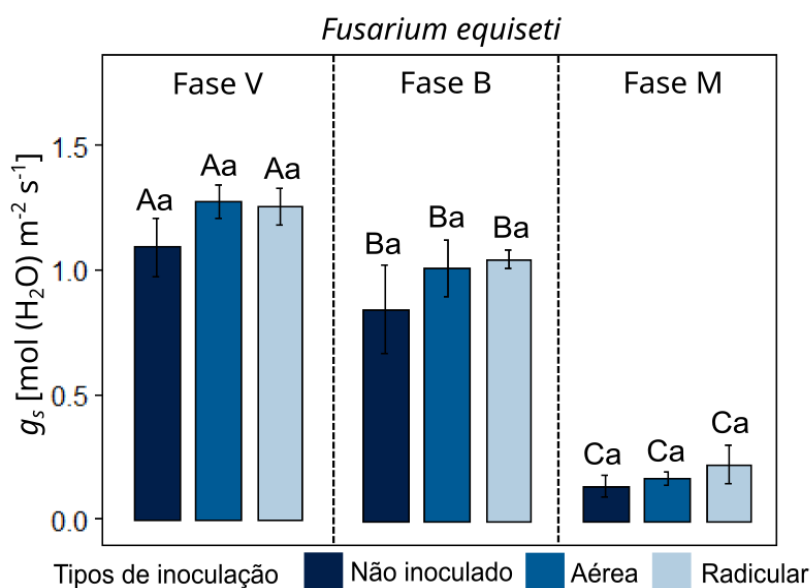


Figura 31. Condutância estomática, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados a fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

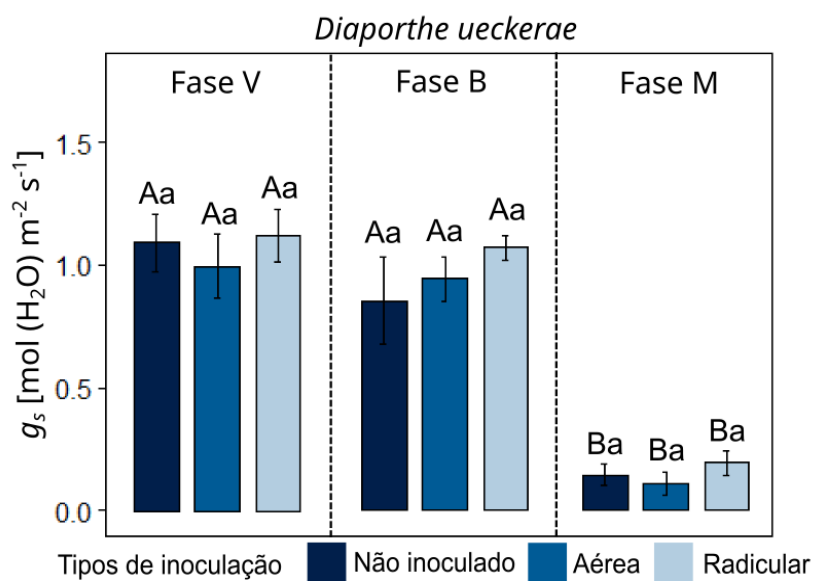


Figura 32. Condutância estomática, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

Para eficiência de carboxilação da Rubisco (taxa de assimilação de CO_2 sobre a concentração de CO_2 subestomática (Fig. 33 e Fig. 34), não foram observadas diferenças entre os tipos de inoculação no contexto de estresses bióticos gerado por *F. equiseti* e *D. ueckerae*, mas a fase M, isoladamente, apresentou menores valores (0,016 e 0,019, respectivamente).

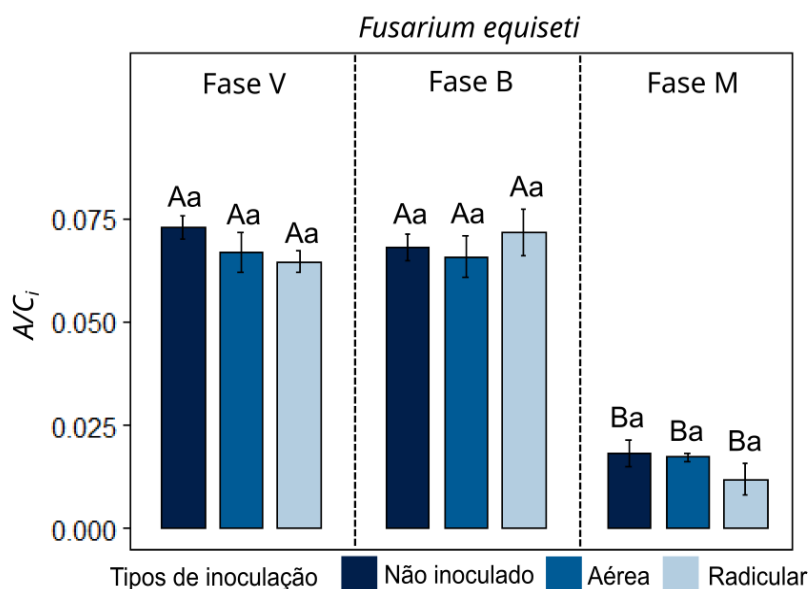


Figura 33. Taxa de assimilação de CO_2 sobre a concentração de CO_2 subestomática, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Fusarium equiseti*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

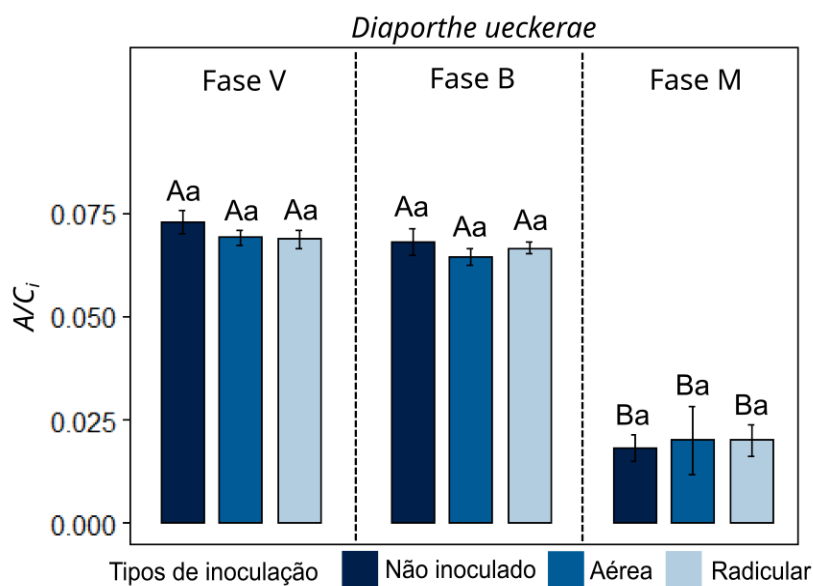


Figura 34. Taxa de assimilação de CO₂ sobre a concentração de CO₂ subestomática, comparando fases fenológicas e tipos de inoculação em plantas infectadas por *Diaporthe ueckerae*. Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$), e caracteres maiúsculos estão ligados à fase fenológica e caracteres minúsculos estão ligados ao tipo de inoculação.

De modo geral, as principais diferenças foram observadas quanto aos valores apresentados na fase fenológica de “maçã”, embora tendências possam ser observadas novamente em comparação com plantas inoculadas ou não.

5.4. Microscopia eletrônica de varredura

Para as análises de MEV, foram observadas respostas de fechamento estomático mediante a infecção das plantas por ambos patógenos, bem como o desenvolvimento de hifas a partir de estruturas de resistência, aparentemente esse processo se deu, principalmente em torno de tricomas glandulares gerando danos a integridade dessas estruturas e em células adjacentes as células estomáticas.

Para *F. equiseti*, nas figuras 35, 36 e 37 é possível observar um desenvolvimento de hifas mais profuso a adjacências de estômatos e tricomas glandulares, causando necrose, além de respostas de fechamento estomático frente a infecção.

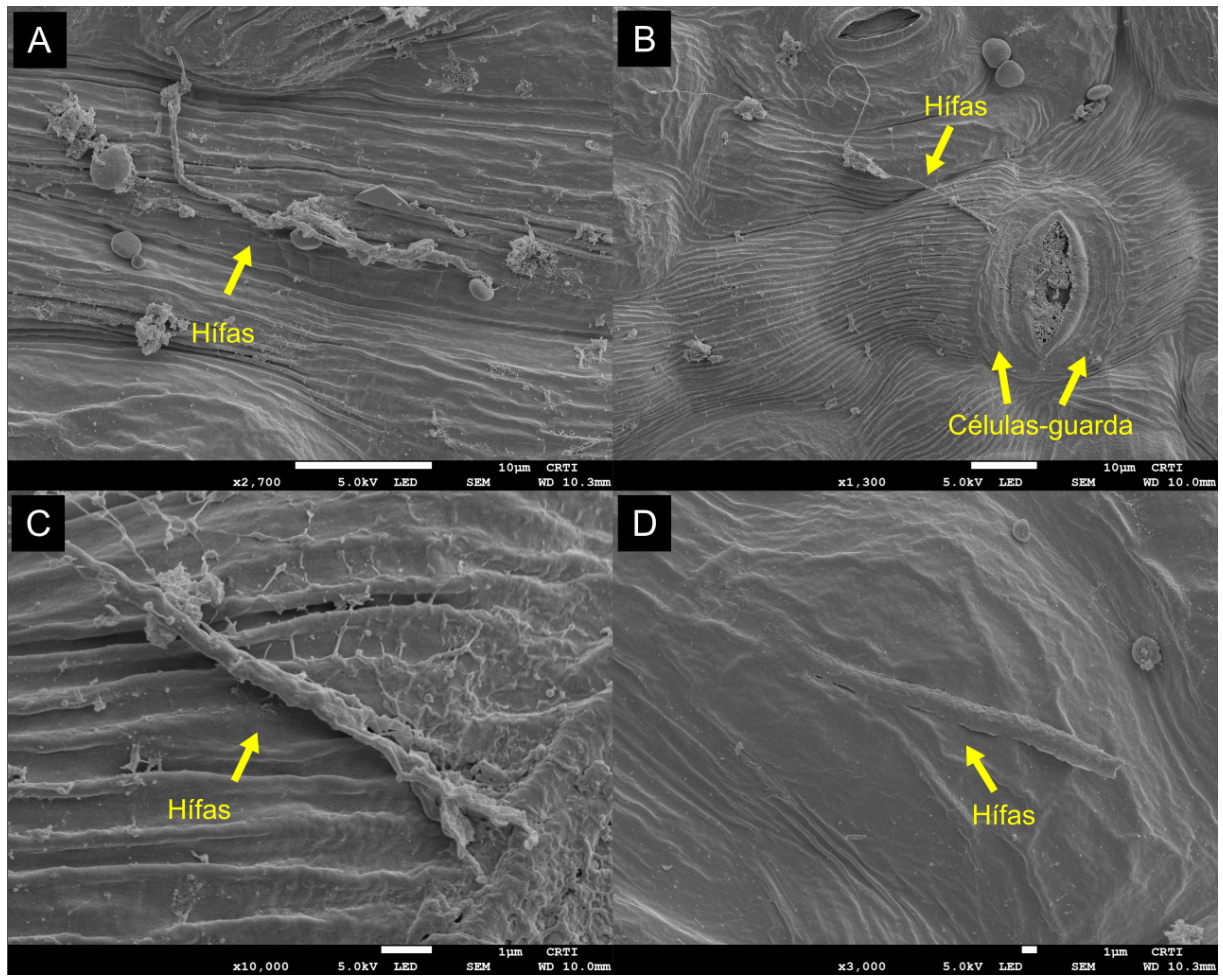


Figura 35. Imagens de MEV. Infecção por *Fusarium equiseti* em tecido foliar (visão da face adaxial) de *Gossypium hirsutum* em estágio de desenvolvimento vegetativo. Desenvolvimento de hifa (A); hifas se desenvolvendo nas proximidades dos estômatos (B); Projeção de hifas com pontas mais finas (C); encontro de hifa com células estomáticas, penetração tecidual (D).

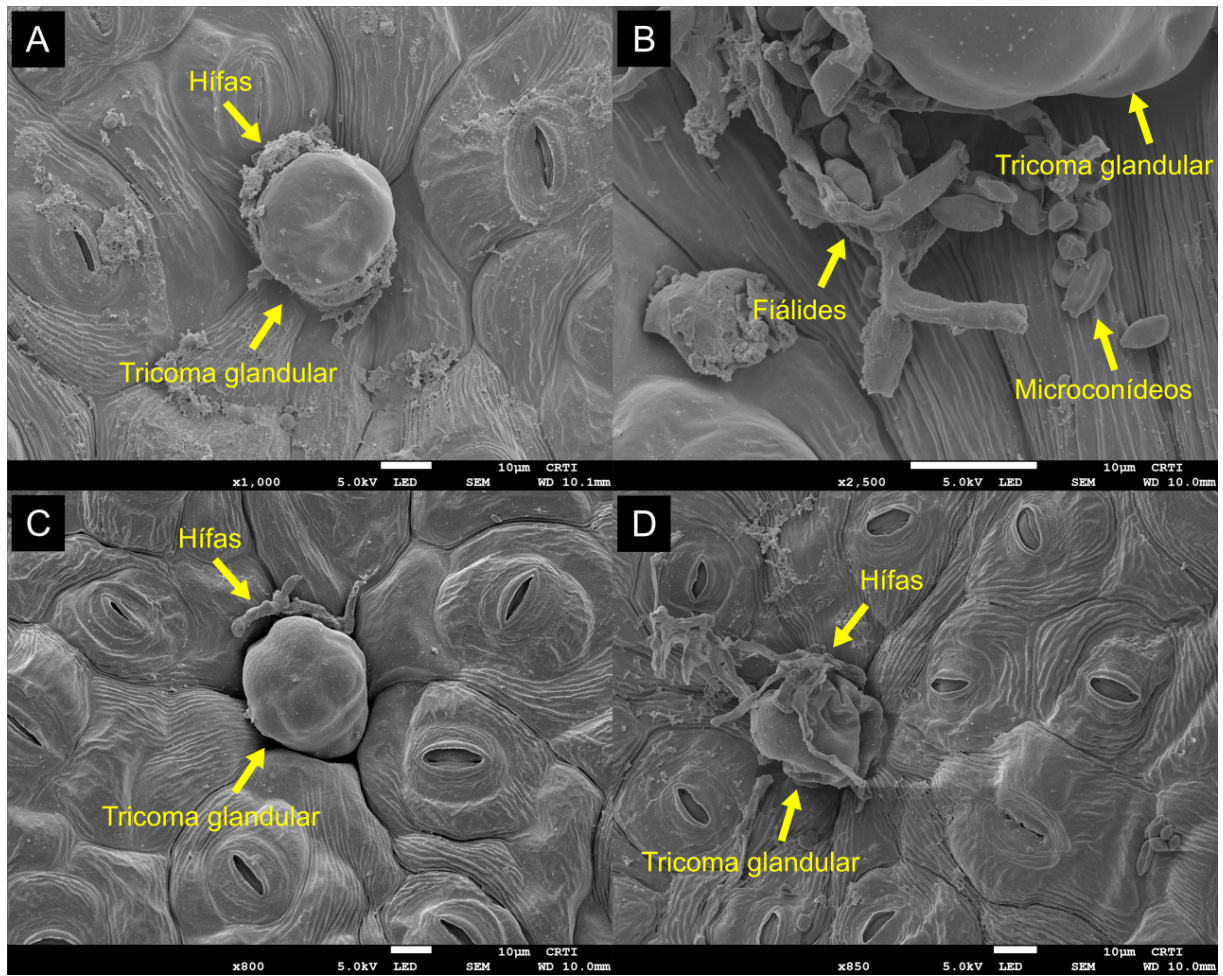


Figura 36. Imagens de MEV. Infecção por *Fusarium equiseti* em tecido foliar (visão da face adaxial) de *Gossypium hirsutum* em estágio de desenvolvimento de botões florais. Hifas em torno de um tricoma glandular (A); estruturas de resistência em torno de tricoma glandular (B); desenvolvimento de hifa em torno de tricoma glandular (C); tricoma glandular deteriorado devido ao desenvolvimento de hifas (D).

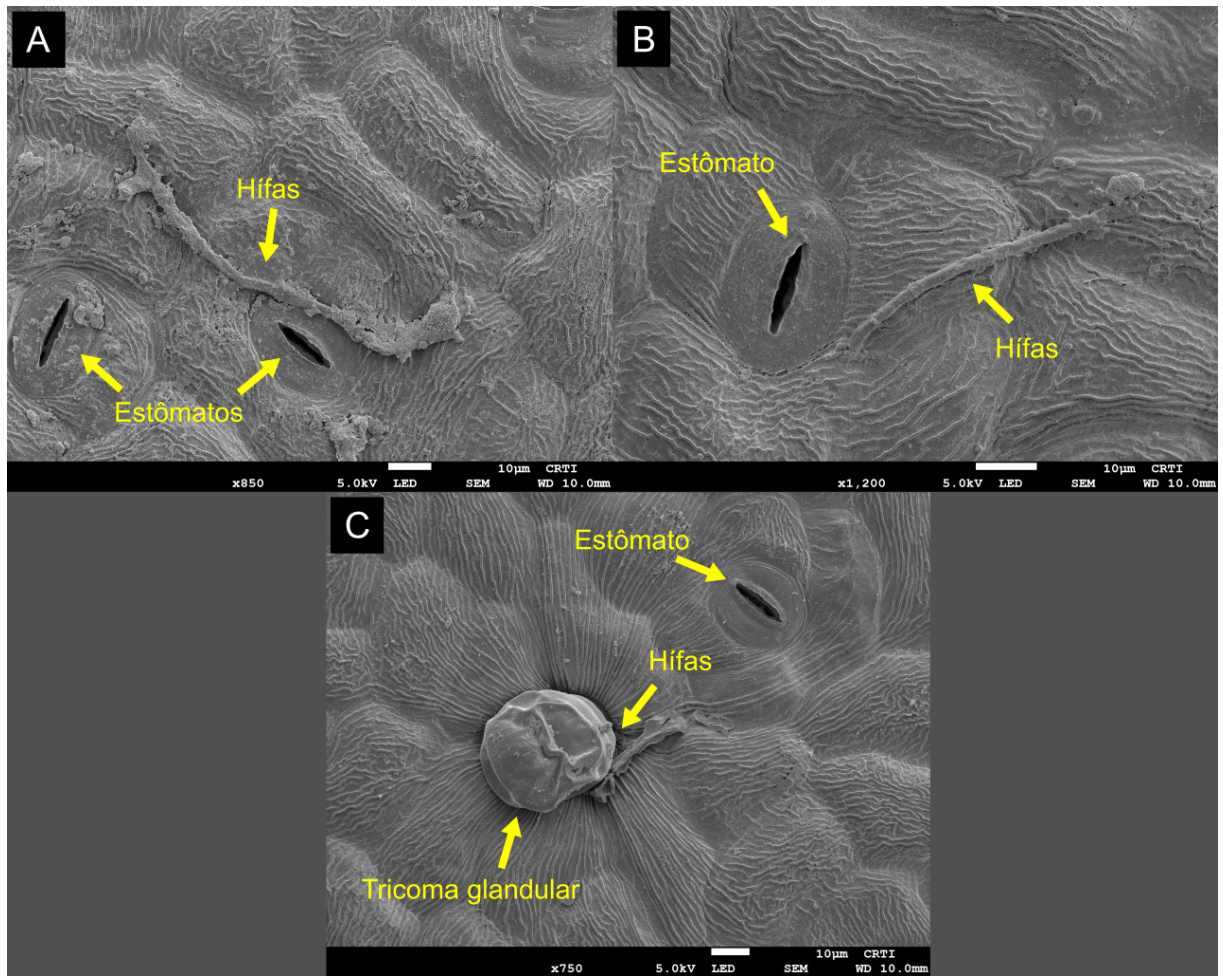


Figura 37. Imagens de MEV. Infecção por *Fusarium equiseti* em tecido foliar (visão da face adaxial) de *Gossypium hirsutum* em estágio de desenvolvimento de "maçãs". Penetração tecidual por hifas em células adjacentes aos estômatos (A e B); desenvolvimento de hifa para penetração em tricoma glandular (C).

Na figura 38 podem observar *D. ueckerae* se desenvolvendo a partir de conídios e circundando estômatos, além de deteriorar tricomas glandulares, durante o estágio de desenvolvimento vegetativo do algodoeiro. Para o estágio de botões florais podem observar o mesmo padrão (Figura 39), no entanto na figura 40, é possível observar cobertura de hifas mais intensa sobre e em torno a um estômato, bem como associações a vasos condutores.

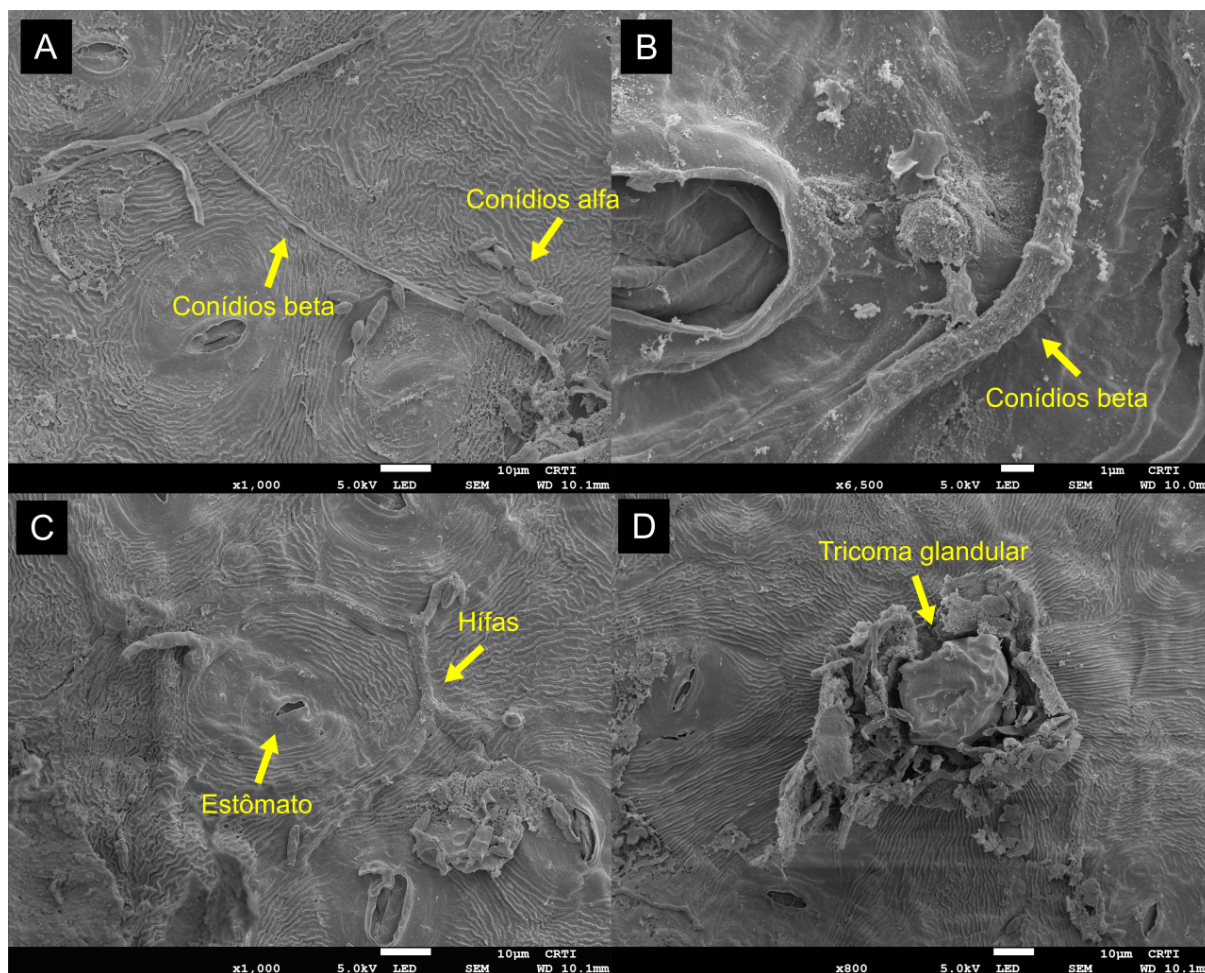


Figura 38. Imagens de MEV. Infecção por *Diaporthe ueckerae* em tecido foliar (visão da face adaxial) de *Gossypium hirsutum* em estágio de desenvolvimento vegetativo. Conídios beta e alfa (A e B); resposta de fechamento estomático mediante o desenvolvimento de hifas (C); deterioração de tricoma glandular infectado por hifas (D).

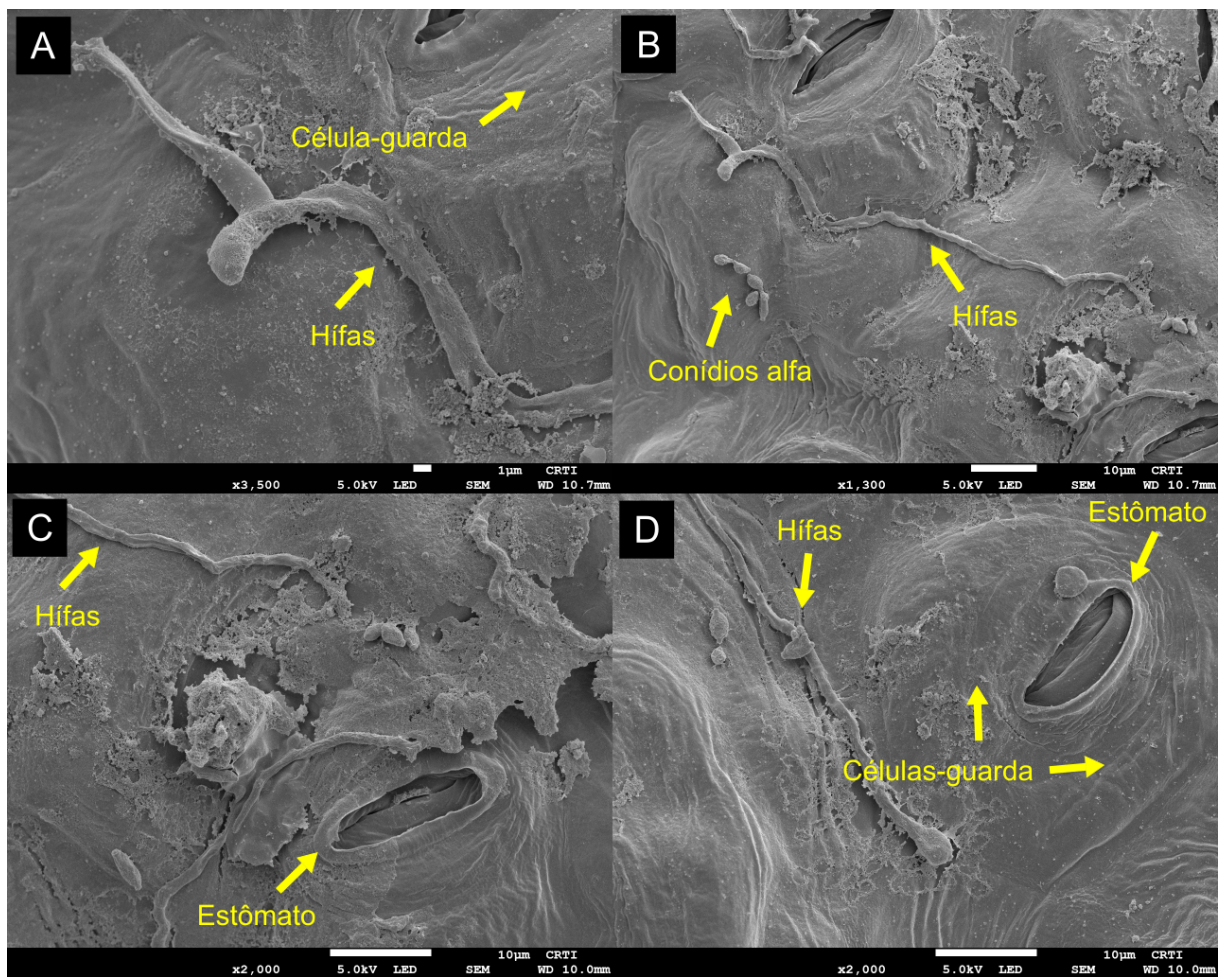


Figura 39. Imagens de MEV. Infecção por *Diaporthe ueckerae* em tecido foliar (visão da face adaxial) de *Gossypium hirsutum* em estágio de desenvolvimento de botões florais. Hifas se desenvolvendo nas proximidades dos estômatos (A, B, C e D); hifas penetrando estômatos (B); resposta de fechamento estomático mediante o desenvolvimento de hifas (B, C e D).

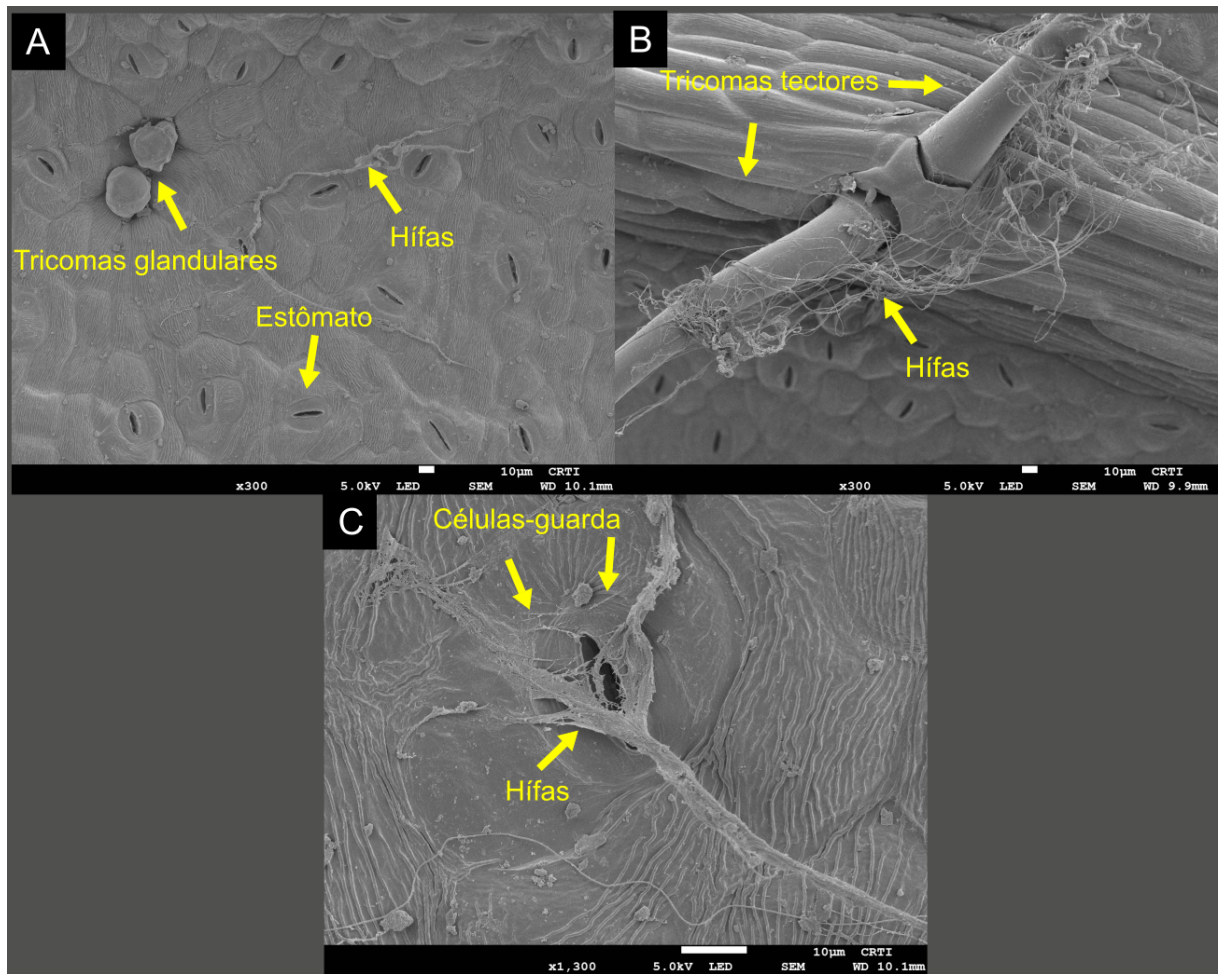


Figura 40. Imagens de MEV. Infecção por *Diaporthe ueckerae* em tecido foliar (visão da face adaxial) de *Gossypium hirsutum* em estágio de desenvolvimento de "maçãs". Hifas contornando estômatos colonizando preferencialmente células-guarda (A); hifas se desenvolvendo associadas a tricomas tectores (B); hifas penetrando estômatos e se espalhando por células adjacentes (C).

6. DISCUSSÃO

Tratando de danos visuais, há plantas hospedeiras que podem ser de fato acometidas por patógenos, pois a partir de uma compatibilidade básica gerada por alterações na expressão de genes ao longo do tempo, ocorre a possibilidade de que os patógenos burlam os sistemas de defesas dessas plantas hospedeiras e cresçam eficientemente, significando que esses patógenos de uma espécie hospedeira estão adaptados para essas defesas (OH *et al.*, 2006; FALEIRO, DE ANDRADE e DOS REIS JUNIOR, 2011).

Pelo contrário, o potencial dos patógenos não adaptados a determinadas espécies não hospedeiras acaba simplesmente na tentativa de penetrar os tecidos vegetais, por se tratar de resistências multigênicas, não significa que a inativação de algum de seus componentes pode deixar a planta suscetível (OH *et al.*, 2006; FALEIRO, DE ANDRADE e DOS REIS JUNIOR, 2011).

A diferença entre respostas de plantas hospedeiras e não hospedeiras está ligada à ativação de genes. No caso de plantas hospedeiras existem genes únicos que atuam direta ou indiretamente aos genes dos patógenos. Já para plantas não hospedeiras, as respostas são mais abrangentes, por exemplo, mecanismos de defesa passivos, induzíveis ou pré-formados, componentes de sinalização para defesas também atuam durante esse tipo de defesa e genes de resistência mais generalistas (HEATH, 2000; MYSORE e RYU, 2004).

No padrão de ataque por ambos os patógenos, mediante defesas da planta hospedeira em questão, foi observado nas análises de microscopia eletrônica de varredura que, tanto *F. equiseti*, quanto *D. ueckerae* aderiram estratégias que consistiam em penetrar células adjacentes a células estomáticas e tricomas glandulares, evitando entrar diretamente nas cavidades de estômatos, mesmo que parcialmente abertos.

Conforme Pacheco, Lazzarini e Alvarenga (2021), a parede ventral dos estômatos, sendo essa região a que circunda o poro estomático, é mais espessa podendo chegar a 5 µm de espessura dependendo da espécie vegetal, em comparação, células epidérmicas típicas alcançam no máximo 2 µm, sendo que elas representam a porção de células adjacentes ao estômato.

Tratando de tricomas glandulares, Bicalho *et al.*, (2005) explicam que assim como tricomas secretores, tricomas glandulares podem possuir óleos essenciais em seu interior, tendo em vista que tricomas desse tipo apresentam regiões intercelulares maiores, com vacúolos grandes (WANG *et al.*, 2021), sendo que suas bases possuem espessura celular ainda mais finas do que células epidérmicas comuns, como visto no trabalho de Argyropoulou *et al.*

(2010), o que também pode ser considerado um atrativo para micro-organismos, utilizado inicialmente como mecanismo de defesa pré-formado.

No entanto, plantas de algodão cultivadas sob estresse biótico induzido tiveram seu metabolismo alterado, podendo ser evidenciado com o uso de parâmetros fisiológicas como, a fotoquímica, a fluorescência da clorofila e trocas gasosas, e foi possível constatar alterações mais sensíveis e discretas, independentes do aparecimento de sintomas visuais.

Embora nenhum sintoma anatômico tenha sido observado, Malcolm *et al.*, (2013) explicam que patógenos podem apresentar traços de interações como infecção e colonização sem induzir danos visíveis, além disso podem se comportar inicialmente como micro-organismos simbiotes, mas diante a estresses, tornam-se patógenos oportunistas (STERGIOPOULOS e GORDON, 2014), e respostas fisiológicas podem margear essas estratégias.

Todos os sintomas foram considerados leves, sintomas mais severos como clorose, necrose, murcha, podridão em caules e raízes não estiveram presentes durante as análises, isso provavelmente pode estar ligado a característica dos gêneros dos patógenos que se tratam de micro-organismos oportunistas (CONRADO et al, 2021; LIM, MOHD, ZAKARIA, 2019), levando em consideração o desenvolvimento das plantas em condições ideais, pode-se dizer que isso favoreceu a imunidade do hospedeiro de modo que a contaminação não surtiu maiores efeitos, se não por alterações metabólicas.

Fungos desse gênero ocorrem em diversas espécies vegetais, segundo Gao *et al.*, (2016) trata-se de um micro-organismo ubíquo, isto é, naturalmente está presente no hospedeiro, sendo capaz de causar sintomas mediante a oportunidades de ataque que o hospedeiro pode oferecer quando está com algum tipo de estresse abiótico ou biótico, o que também faz do patógeno em questão um micro-organismo oportunista. tratando de um experimento em casa de vegetação, naturalmente espera-se que as plantas não tenham tido contato inicial durante a germinação com os patógenos em questão, podendo de certa forma surtir efeito abrupto em funções metabólicas durante o período de pós de inoculação.

As notáveis diferenças nos parâmetros fisiológicos aqui observados, entre plantas durante as fases fenológicas correspondentes a etapas vegetativas e de botões florais comparadas às plantas na fase de “maçã” é de simples entendimento, visto que a realocação de biomassa para os frutos é intensa quando comparada a realocação de biomassa para partes reprodutivas presente nas outras fases, e pode aumentar a susceptibilidade das plantas durante esse estágio fenológico.

Tanto as plantas inoculadas com *F. equiseti* quanto as inoculadas com *D. ueckerae*

apresentaram variações em análises de pigmentos fotossintéticos, no entanto, principalmente na fase B em plantas inoculadas em parte radicular, em que se pode observar decréscimo em teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides, com certo destaque para *D. ueckerae*, que também causou danos durante a fase V.

A clorofila *a* é o principal pigmento para mensuração de alterações na fluorescência, tendo em vista que ela tem grande importância na dissipação de energia nos centros de reação do PSII, com a clorofila *b* participando do PSI como pigmento acessório que auxilia na proteção do PSII, somado a presença de carotenoides (DAUTERMANN e LOHR, 2017), que auxiliam na expansão de comprimentos de onda absorvidos pelas clorofilas.

Portanto, quando ocorre a captação da energia luminosa por pigmentos fotossintéticos, essa energia é transferida a um centro de reação que desencadeia a perda de elétrons, que são repostos através da oxidação da molécula de água, gerando o transporte de elétrons. Se a quantidade de energia que chega é maior do que a capacidade de mover elétrons do centro de reação, ocorre a reemissão da energia absorvida, que é chamada de fluorescência (MAXWELL e JOHNSON, 2000).

Sendo assim, a fluorescência é uma via de dissipação da energia luminosa absorvida, que não foi utilizada na produção de NADPH e ATP nas reações primárias de fotossíntese que ocorrem no PSI e PSII, pois fatores de estresse bióticos podem afetar o ciclo de Calvin de modo que o acúmulo de moléculas não utilizadas na carboxilação pode comprometer a etapa fotoquímica, forçando o metabolismo a reemitir essa energia em vez de usá-la para respirações de crescimento e manutenção.

O desequilíbrio nessa etapa fotoquímica pode interferir diretamente na síntese de pigmentos fotossintéticos e levar a foto destruição destes, também incidindo na integridade funcional dos centros de reação do PSII, desequilibrando a fixação de carbono que interfere em reações fotoquímicas e bioquímicas.

Esse desequilíbrio na fixação do carbono pode ser gerado por estresses bióticos que podem gerar sintomas diversos que comprometem desde a absorção de energia luminosa a estruturas anatômicas. Ao contrário de micro-organismos promotores de crescimento que geram benefícios para plantas, patógenos podem, por exemplo, reduzir concentrações de pigmentos fotossintetizantes e piorar parâmetros de trocas gasosas, refletindo, portanto, um baixo desempenho fotoquímico.

Traços de estresses bióticos observados em fungos pertencentes aos gêneros das espécies aqui estudadas estão relacionados a incidência em vasos condutores, alterando funções radiculares (LI *et al.*, 2017; SESSA *et al.*, 2017). Isso dificulta a absorção de água e

consequentemente nutrientes que poderiam vir com essa água, Chu *et al.*, (2018) explicam que o déficit nutricional pode causar quedas em taxas fotossintéticas, em vista que os nutrientes atuam na regulação estrutural foliar, transporte de elétrons e CO₂ e pode interferir em processos do ciclo de Calvin, consequentemente o déficit nutritivo pode diminuir a síntese de pigmentos fotossintéticos (VIÉGAS *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2013), diminuindo ainda mais a resistência de plantas aos patógenos (VAFADAR *et al.*, 2014), afetando o aparato fotossintético através de fotodestruição e fotoinibição (UARROTA *et al.*, 2018).

A susceptibilidade observada em plantas inoculadas em parte radicular pode ser explicada pelos traços de infecção dos fungos que causam sintomas de déficit hídrico, sendo que a desidratação de plantas afeta a síntese de pigmentos fotossintéticos (MEETA, MINI e REKHA, 2013), pois essa desidratação pode afetar o protoplasma e gerar problemas diretamente na fotossíntese. Além disso, patógenos possuem potencial para gerar em plantas, sintomas de déficit hídrico que pode afetar a atividade da rubisco, atrapalhando taxas de transporte de elétrons (PERDOMO *et al.*, 2017).

Claramente os parâmetros de fluorescência foram alterados, indicando a incidência dos patógenos sobre a capacidade fotossintética das plantas de algodão. Baghbani *et al.*, (2018), mostram que patógenos do gênero *Fusarium* sp. realmente conseguem afetar o sequenciamento do transporte de elétrons, e pode afetar a síntese e manutenção de clorofilas (BASSANEZI *et al.*, 2002).

Com base em avaliações de fluorescência em foco a encontrar causas relacionadas a fitopatogenicidade é possível ter um melhor entendimento quanto a interações planta-patógeno, identificando reações metabólicas quanto ao aparato fotossintético frente o desenvolvimento de organismos fitopatogênicos.

Embora não tendo alterações drásticas em taxas de fotossíntese não se pode dizer que esse parâmetro poderia afetar positivamente o crescimento primário das plantas, por causa da escassez de estudos nesse aspecto (GAGO *et al.*, 2016), porém, em vista ao que os índices de fluorescência indicam, possivelmente as taxas fotossintéticas poderiam sofrer alterações negativas quanto a eficiência.

A mensuração de parâmetros envolvendo F₀ e PSII são altamente representativos quanto a estresses (WEN *et al.*, 2011), assim como o aumento na dissipação não fotoquímica (NPQ) (NEVES *et al.*, 2009), que representa a dissipação de energia em forma de calor do PSII, de modo a evitar danos fotoquímicos no aparato fotossintético pela energia não utilizada.

Portanto, a redução na quantidade de centro de reação do PSII pode ser consequência

na redução nos teores de pigmentos fotossintéticos (FARNESE *et al.*, 2017). O F0 (fluorescência mínima) pode também ser afetado por lesões no PSII e desequilíbrios durante o transporte de energia do complexo antena para centros de reação (DE LIMA *et al.*, 2017), por isso é interessante entender melhor o que os processos fisiológicos podem dizer através de alterações fisiológicas na fluorescência.

No presente estudo, realmente foi observado variações quanto a fluorescência da clorofila, por causa dos danos de fotoinibição observados, após a inoculação de patógenos. Sabe-se que a presença de patógenos de fato reduz o desempenho fotossintético nos centros de reação, apresentando quedas na relação Fv/Fm, observado principalmente na fase M quando tratou dos dois patógenos dentro dos tipos de inoculação, no entanto, novamente o *D. ueckerae* se destaca por também causar variações na fase B, embora não tão severas quanto na fase M.

Por exemplo, a razão ABS/RC elevada indica menor quantidade de fótons aproveitados por centros de reação do que no PSII, isso pode ser mostrado por Urban *et al.*, (2017), explicando que a inativação de centros de reação ou a alteração no tamanho da antena compensam a dissipação de energia luminosa em energia térmica. Essa redução na quantidade de centros de reação ativos é vista como mecanismo foliar para evitar danos diante a absorção em excesso de energia luminosa (KALAJI *et al.*, 2018).

Valores baixos de ABS/RC e DI_0/RC indicam que o potencial das plantas de capturar fótons não foi reduzido, em vista que as plantas melhoram seu desempenho durante estresses equilibrando melhor essa distribuição de energia. Baixos valores de DI_0/RC indicam plantas com absorção de energia alta com baixa dissipação de energia não fotoquímica.

Já os valores de PI_{ABS} , por ser um índice mais sensível, é capaz de detectar e quantificar danos com maior precisão, visto que é possível relacionar a eficiência do PSII, oferecendo maior precisão na correlação entre estresses e transporte de elétrons (SAMPAIO *et al.*, 2012).

Altos valores de PI_{ABS} indicam vitalidade alta, consequente o aumento da quantidade de centros de reação da clorofila. Sendo esse parâmetro o refletor das funções adequadas do PSI e PSII (STRASSER *et al.*, 2004), podendo dizer sobre a síntese de pigmentos e o desempenho fotossintético. É esperado que a inoculação de plantas por fitopatógenos gere baixos valores de PI_{ABS} e altos valores de DI_0/RC , refletindo alterações metabólicas prejudiciais as plantas inoculadas, pois acabam se tornando centros de dissipação visando evitar danos foto oxidativos (DUTTA *et al.*, 2018).

Portanto, esses reajustes observados nos processos metabólicos são essenciais para as

plantas manterem por um tempo funções de homeostase e celulares (FARNESE *et al.*, 2017). Patógenos também tendem a induzir sintomas de seca na planta, que acarreta a redução na condutância estomática das plantas para resistir à ataques (URBAN *et al.*, 2017).

A condutância estomática é um parâmetro que está diretamente ligado a estratégias que auxiliam na captação de CO₂ e redução na perda de água, consequentemente esses aspectos refletem a capacidade da planta em regular sua eficiência do uso da água (BERTOLINO, CAINE e GRAY, 2019).

Quando a redução na condutância estomática é observada e a concentração interna de CO₂ se mantém estável, não se associa menores taxas fotossintéticas a isso, mas sim a eficiência de carboxilação (A/C_i), que se prejudicada, pode formar espécies reativas de oxigênio (LEITAO, GOULAS e JEAN-PHILIPPE, 2003).

Tratando de defesa é percebido que a plantas não sentiram maiores efeitos, em vista que a taxa de respiração se manteve, esta, responsável pela mobilização de ATP e esqueletos de carbono que atuam indiretamente na defesa da planta de modo a mitigar a demanda energética envolvida nesses processos. Quando ocorre a regulação nas taxas de respiração é vista a necessidade de equilibrar a eficiência da carboxilação, evitando a formação de espécies reativas de oxigênio.

Uma mudança considerável ausente em parâmetros de trocas gasosas pode indicar o vigor de plantas com ausência de estresses, considerando as estratégias de patogenicidade oportunista apresentada por esses patógenos (CONRADO *et al.*, 2021; LIM, MOHD, ZAKARIA, 2019), de modo que para gerarem prejuízos significativos ao hospedeiro, deveriam comprometer o aparato fotossintético de maneira mais severa, embora tenha sido possível observar alterações exclusivamente em plantas inoculadas em parte radicular durante a fase M para concentração interna de CO₂ e a eficiência do uso da água para ambos os patógenos.

7. CONCLUSÃO

Em plantas inoculadas por *Fusarium equiseti* e por *Diaporthe ueckerae*, as principais alterações em teores de pigmentos fotossintéticos, fluorescência da clorofila e índices de trocas gasosas foram observadas em plantas inoculadas em parte radicular de plantas em fase fenológica, caracterizada pela presença de frutos, seguidas das plantas em fase de botões florais. Portanto, é importante notar sensibilidade maior em plantas que deram início a fase de aspecto reprodutivo e principalmente em plantas que estão em estágio avançado de desenvolvimento de suas partes reprodutivas, levando em consideração a vulnerabilidade de tecidos radiculares de *Gossypium hirsutum* frente aos patógenos estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALABOUVETTE, C., EDEL, V., LEMANCEAU, P., OLIVAIN, C., RECORBET, G. & STEINBERG, C.; Diversity and interactions among strains of *fusarium oxysporum*: application to biological control. **Biotic interactions in plant-pathogen associations. CAB International, London, England**, p. 131-157, 2001.

ALTSCHUL, S. F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E. W., & LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **Journal of molecular biology**, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990.

ALVES, A. N.; SOUZA, W. S. R.; BORGES, D. L.; Cotton pests classification in field-based images using deep residual networks. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 174, p. 105488, 2020.

AQUINO, L. A. D., AQUINO, R. F., SILVA, T. C., SANTOS, D. F. D., & BERGER, P. G. Aplicação do fósforo e da irrigação na absorção e exportação de nutrientes pelo algodoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, p. 355-361, 2012.

ARGYROPOULOU, C., AKOUMIANAKI-IOANNIDOU, A., CHRISTODOULAKIS, N. S., & FASSEAS, C. Leaf anatomy and histochemistry of *Lippia citriodora* (Verbenaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 58, n. 5, p. 398-409, 2010.

BAGHBANI, F., LOTFI, R., MOHARRAMNEJAD, S., BANDEHAGH, A., ROOSTAEI, M., RASTOGI, A., & KALAJI, H. M.; Impact of *fusarium verticillioides* on chlorophyll fluorescence parameters of two maize lines. **European Journal of Plant Pathology**, v. 154, n. 2, p. 337-346, 2019.

BASSANEZI, R. B., AMORIM, L., FILHO, A. B., & BERGER, R. D.; Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. **Journal of Phytopathology**, v. 150, n. 1, p. 37-47, 2002.

BÉLOT, J. L.; VILELA, P. M. C. A.; Manual de boas práticas de manejo do algodoeiro em Mato Grosso. **Cuiabá: IMAmt**, 2020.

BELTRÃO, N. M.; DE ARAÚJO, A. E.; **Algodão: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2013., 2013.

BERTOLINO, L. T.; CAINE, R. S.; GRAY, J. E. Impact of stomatal density and morphology on water-use efficiency in a changing world. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 225, 2019.

BICALHO, G. O. D., CARDOSO, M. D. G., SILVA, V. D. F., MUNIZ, F. R., DE CASTRO, E. M., & GAVILANES, M. L. Estudo morfológico das folhas de *Bauhinia holophylla* Steud, **University of Toronto**, 2005.

CFSG-COMISSÃO, DE FERTILIDADE DE SOLOS; GOIÁS, D. E. Recomendações de corretivos e fertilizantes para Goiás: 5ª aproximação. **Goiânia: UFG: EMGOPA**, 1988.

CHENG, H.; JIANG, N.; Extremely rapid extraction of DNA from bacteria and yeasts. **Biotechnology letters**, v. 28, n. 1, p. 55-59, 2006.

CHITARRA, L. G. Identificação e controle das principais doenças do algodoeiro. **Embrapa Algodão-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2014.

CHU, S., LI, H., ZHANG, X., YU, K., CHAO, M., HAN, S., & ZHANG, D.; Physiological and proteomics analyses reveal low-phosphorus stress affected the regulation of photosynthesis in soybean. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 6, p. 1688, 2018.

CONRADO P. C.V., SAKITA K. M., ARITA G. S., GONÇALVES R. S., CESAR G. B., CAETANO W., HIOKA N., VOIDALESKI M. F., VICENTE V. A., SVIDZINSKI T. I. E., BONFIM-MENDONÇA P. S., KIOSHIMA E. S.; Hypericin-P123-photodynamic therapy in an ex vivo model as an alternative treatment approach for onychomycosis caused by *Fusarium* spp. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 35, p. 102414, 2021.

DAUTERMANN, O.; LOHR, M. A functional zeaxanthin epoxidase from red algae shedding light on the evolution of light-harvesting carotenoids and the xanthophyll cycle in photosynthetic eukaryotes. **The Plant Journal**, v. 92, n. 5, p. 879-891, 2017.

DE LIMA, D. A., MÜLLER, C., COSTA, A. C., BATISTA, P. F., DALVI, V. C., & DOMINGOS, M.; Morphoanatomical and physiological changes in *baubinia variegata* l. as indicators of herbicide diuron action. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 141, p. 242-250, 2017.

DOS SANTOS, L. V., DE QUEIROZ, M. V., SANTANA, M. F., SOARES, M. A., DE BARROS, E. G., DE ARAÚJO, E. F., & LANGIN, T.; Development of new molecular markers for the colletotrichum genus using retrocl1 sequences. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 3, p. 1087-1095, 2012.

DUN, I. S.; BLATTNER, F. R.; Charons 36 to 40: multi enzyme, high capacity, recombination deficient replacement vectors with polylinkers and ploystuffers. **Nucleic Acids Research**, v. 15, n. 6, p. 2677-2698, 1987.

DUTTA, S.; SUROVY M. Z.; GUPTA D. R.; MAHMUD N. U.; CHANCLUD E.; WIN J.; KAMOUN S. & ISLAM M. T.; Genomic analyses reveal that biocontrol of wheat blast by *Bacillus* spp. may be linked with production of antimicrobial compounds and induced systemic resistance in host plants. **Figshare**, v. 17, p. 48, 2018.

FALEIRO, F. G.; DE ANDRADE, S. R. M.; DOS REIS JUNIOR, F. B. Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. **Embrapa Cerrados-Livro técnico (INFOTECA-E)**, 2011.

FARNESE, F. S., OLIVEIRA, J. A., PAIVA, E. A., MENEZES-SILVA, P. E., DA SILVA, A. A., CAMPOS, F. V., & RIBEIRO, C.; The involvement of nitric oxide in integration of plant

physiological and ultrastructural adjustments in response to arsenic. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 516, 2017.

FERREIRA D. F. Sisvar versão 5.9 **Lavras: DEX/Ufla**, v. 79, 2022.

FORERO-REYES C. M., ALVARADO-FERNÁNDEZ A. M., CEBALLOS-ROJAS A. M., GONZÁLEZ-CARMONA L. C., LINARES-LINARES M. Y., CASTAÑEDA-SALAZAR R., PULIDO-VILLAMARÍN A., GÓNGORA-MEDINA M. E., CORTÉS-VECINO J. A., RODRÍGUEZ-BOCANEGRA M. X.; Evaluación de la capacidad patogénica de *Fusarium* spp. en modelos vegetal y murino. **Revista argentina de microbiología**, v. 50, n. 1, p. 90-96, 2018.

FUZATTO, M. G.; CIA, E.; CARVALHO, L. H.; KONDO, J. I. Algodão, *Gossypium hirsutum* L. **Boletim** 200, Instituto Agronômico (Iac), Campinas, São Paulo, v. 7, p. 11-14, jun. 2014.

GAGO, J., DALOSO, D. D. M., FIGUEROA, C. M., FLEXAS, J., FERNIE, A. R., & NIKOLOSKE, Z.; Relationships of leaf net photosynthesis, stomatal conductance, and mesophyll conductance to primary metabolism: a multispecies meta-analysis approach. **Plant physiology**, v. 171, n. 1, p. 265-279, 2016.

GAO, Y.; LIU, F.; CAI, L. Unravelling *Diaporthe* species associated with *Camellia*. **Systematics and Biodiversity**, v. 14, n. 1, p. 102-117, 2016.

GOMES, E. A., SILVA, U. D. C., OLIVEIRA-PAIVA, C. A., LANA, U. D. P., MARRIEL, I. E., & DOS SANTOS, V. L.; Microrganismos promotores do crescimento de plantas. **Embrapa Milho e Sorgo-Docmentos (INFOTECA-E)**, 2016.

HEATH, M. C. Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. **Current opinion in plant biology**, v. 3, n. 4, p. 315-319, 2000.

KALAJI, H. M., BAĞA, W., GEDIGA, K., GOLTSEV, V., SAMBORSKA, I. A., CETNER,

M. D., PISZCZ U., BIELECKI K., KARMOWSKA K. & KOMPALA-BABA, A.; Chlorophyll fluorescence as a tool for nutrient status identification in rapeseed plants. **Photosynthesis Research**, v. 136, n. 3, p. 329-343, 2018.

KERBY, T. A.; HAKE, K. D. Monitoring cotton's growth. **Cotton production manual'** (Eds SJ Hake, TA Kerby, KD Hake) pp, p. 335-355, 1996.

LAHUF, A. A., JAAFAR, O. H., AL-MOSOY, M., HAMEED, Z. L., & LI, J.; First record of the crown rot fungus *Fusarium equiseti* affecting *Triticum aestivum* L. and *Aptenia cordifolia* in Iraq. **AJAB. Asian J Agri & Biol**, v. 6, n. 4, p. 543-548, 2018.

LEITAO, L.; GOULAS, P. BIOLLEY, J.; Time-course of Rubisco oxidation in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to a long-term ozone stress. **Plant Science**, v. 165, n. 3, p. 613-620, 2003.

LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F.; Hospedreiro: alterações fisiológicas induzidas por fitopatógenos. **Manual de fitopatologia**, v. 1, p. 393-416, 1995.

LI, P. L., SHI, Y. X., GUO, M. Y., XIE, X. W., CHAI, A. L., & LI, B. J.; *Fusarium* wilt of cauliflower caused by *Fusarium equiseti* in China. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 39, n. 1, p. 77-82, 2017.

LIM, L.; MOHD, M. H.; ZAKARIA, L.; Identification and pathogenicity of Diaporthe species associated with stem-end rot of mango (*Mangifera indica* L.). **European Journal of Plant Pathology**, v. 155, n. 2, p. 687-696, 2019.

LOKA, D. A.; OOSTERHUIS, D. M. Effect of high night temperatures on cotton respiration, ATP levels and carbohydrate content. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, n. 3, p. 258-263, 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F. J.; **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2002.

MALCOLM, G. M., KULDAU, G. A., GUGINO, B. K., & JIMÉNEZ-GASCO, M. D. M.; Hidden host plant associations of soilborne fungal pathogens: an ecological perspective. **Phytopathology**, v. 103, n. 6, p. 538-544, 2013.

MALERBO, D. T. S.; COUTO, R. H. N.; Abelhas no algodão. **Revista Brasileira de Apicultura**, n.38, p.24-26,1990.

MARUR, C. J.; RUANO, O. Escala do algodão: um método para determinação de estádios de desenvolvimento do algodoeiro herbáceo. **Piracicaba: Potafós**, p. 3-4, 2004.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence a practical guide. **Journal of experimental botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MEETA, J.; MINI, M.; REKHA, G. Effect of PEG-6000 imposed water deficit on chlorophyll metabolism in maize leaves. **Journal of stress Physiology & biochemistry**, v. 9, n. 3, p. 262-271, 2013.

MULLER, P.; LI, X.; NIYOGI, K. K.; Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. **Plant physiology**, v. 125, n. 4, p. 1558-1566, 2001.

MUNGER, P., BLEIHOLDER, H., HACK, H., HESS, M., STAUSS, R., VAN DEN BOOM, T., & WEBER, E. Phenological growth stages of the cotton plant (*Gossypium hirsutum* L.): codification and description according to the BBCH Scale 1. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 180, n. 3, p. 143-149, 1998.

MYSORE, K. S., RYU, C. Nonhost resistance: how much do we know?. **Trends in plant science**, v. 9, n. 2, p. 97-104, 2004.

NEVES, N. R., OLIVA, M. A., DA CRUZ CENTENO, D., COSTA, A. C., RIBAS, R. F., & PEREIRA, E. G.; Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *eugenia*

uniflora l. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition: potential use in environmental risk assessment. **Science of the total environment**, v. 407, n. 12, p. 3740-3745, 2009.

OOSTERHUIS, D. M. Growth and development of a cotton plant. **Nitrogen nutrition of cotton: Practical issues**, p. 1-24, 1990.

OH, S. K., LEE, S., CHUNG, E., PARK, J. M., YU, S. H., RYU, C. M., & CHOI, D. Insight into Types I and II nonhost resistance using expression patterns of defense-related genes in tobacco. **Planta**, v. 223, n. 5, p. 1101-1107, 2006.

PACHECO, F.; LAZZARINI, L. Ed.; ALVARENGA, I. Metabolismo relacionado com a fisiologia dos estômatos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 18, n. 36, 2021.

PERDOMO, J. A., CAPÓ-BAUÇÀ, S., CARMO-SILVA, E., & GALMÉS, J.; Rubisco and rubisco activase play an important role in the biochemical limitations of photosynthesis in rice, wheat, and maize under high temperature and water deficit. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 490, 2017.

R CORE TEAM (2022). R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 30 mai. 2022.

RITCHIE, G. L., BEDNARZ, C. W., JOST, P. H., & BROWN, S. M. Cotton growth and development. **The University of Georgia**, 2007.

ROSOLEM, C. A.; Ecofisiologia e manejo da cultura do algodoeiro. **Informações Agronômicas**, v. 95, p. 1-9, 2001.

SAMPAIO, O. M., SILVA, M. F. D. G. F. D., VEIGA, T. A. M., KING-DÍAZ, B., &

LOTINA-HENNSSEN, B.; Evaluation of furocoumarins as photosynthetic inhibitor by chlorophyll a fluorescence assay. **Química Nova**, v. 35, p. 2115-2118, 2012.

SARAN, E. D. Manual de identificação das doenças do algodoeiro. Campinas, **FMC-Química do Brasil**, 2018.

SANTOS, E. F. D., ZANCHIM, B. J., CAMPOS, A. G. D., GARRONE, R. F., & LAVRES JUNIOR, J.; Taxa fotossintética, teor de clorofila e desenvolvimento inicial do pinhão-mansão cultivado com omissão de micronutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, n. 5, p. 1334-1342, 2013.

SESSA, L., ABREO, E., BETTUCCI, L., & SANDRA, L. U. P. O.; Diversity and virulence of diaporthes species associated with wood disease symptoms in deciduous fruit trees in Uruguay. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 56, n. 3, p. 431-444, 2017.

SHAN L. Y., CUI W. Y., ZHANG D. D., ZHANG J., MA N. N., BAO Y. M., DAI X. F., & GUO W.; First report of *Fusarium brachygibbosum* causing maize stalk rot in China. **Plant Disease**, v. 101, n. 5, p. 837, 2017.

STERGIOPOULOS, I. GORDON, T. R.; Cryptic fungal infections: the hidden agenda of plant pathogens. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 506, 2014.

STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. **Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation**, p. 445-483, 2000.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: **Chlorophyll a fluorescence**. Springer, Dordrecht, 2004. p. 321-362.

SWAMY S. D., MAHADEVAKUMAR S., HEMAREDDY H. B., AMRUTHESH K. N., MAMATHA S., KUNJETI S. G., SWAPNIL R., KUMAR T. V., LAKSHMIDEVI N.; First

report of *Fusarium equiseti* – the incitant of post flowering stalkrot of maize (*Zea mays* L.) in India. **Crop Protection**, v. 129, p. 105035, 2020.

SYLVIA, D. M., FUHRMANN, J. J., HARTEL, P. G., & ZUBERER, D. A.; **Principles and applications of soil microbiology**. Pearson, 2005.

UARROTA, V. G., STEFEN, D. L. V., LEOLATO, L. S., GINDRI, D. M., & NERLING, D.; Revisiting carotenoids and their role in plant stress responses: from biosynthesis to plant signaling mechanisms during stress. In: **Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants**. Springer, Cham, 2018. p. 207-232.

UDAYANGA, D., CASTLEBURY, L. A., ROSSMAN, A. Y., CHUKEATIROTE, E., & HYDE, K. D.; The *Diaporthe sojae* species complex: Phylogenetic re-assessment of pathogens associated with soybean, cucurbits and other field crops. **Fungal biology**, v. 119, n. 5, p. 383-407, 2015.

URBAN, L.; AARROUF, J.; BIDEL, L. Assessing the effects of water deficit on photosynthesis using parameters derived from measurements of leaf gas exchange and of chlorophyll a fluorescence. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 2068, 2017.

VAFADAR, F.; AMOOAGHAIE, R.; OTROSHY, M. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. **Journal of Plant Interactions**, v. 9, n. 1, p. 128-136, 2014.

VIÉGAS I. J. M., CORDEIRO R. A. M., ALMEIDA G. M., SILVA D. A. S., SILVA B. C., OKUMURA R. S., JÚNIOR M. L. S., SILVA S. P., FREITAS J. M. N.; Growth and visual symptoms of nutrients deficiency in mangosteens (*Garcinia mangostana* L.). **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 5, p. 1014-1028, 2018.

WANG, D. J., LU, M., LUDLOW, R. A., ZENG, J. W., MA, W. T., & AN, H. M. Comparative ultrastructure of trichomes on various organs of *Rosa roxburghii*. **Microscopy Research and Technique**, v. 84, n. 9, p. 2095-2103, 2021.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of plant physiology**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.

WEN, K., LIANG, C., WANG, L., HU, G., & ZHOU, Q.; Combined effects of lanthanum ion and acid rain on growth, photosynthesis and chloroplast ultrastructure in soybean seedlings. **Chemosphere**, v. 84, n. 5, p. 601-608, 2011.

WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. J. W. T., & TAYLOR, J.; Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal rna genes for phylogenetics. **PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990.

ZAMBIASI, T. C., TONETTI, E., AZEVEDO, J. N. Manejo de nematoides em algodão. **Cultivar Grandes Culturas**, v. 214, mar. 2017. Disponível em: <https://www.grupocultivar.com.br/artigos/manejo-de-nematoides-em-algodao>. Acesso em: 25 abr. 2021.

ZHANG, H. B., LI, Y., WANG, B., & CHEE, P. W. Recent advances in cotton genomics. **International Journal of plant genomics**, v. 2008, 2008.