

MÁRCIA INDYANARA LOPES SANTIAGO

**DETECÇÃO PRECOCE DA MURCHA-DE-CERATOCYSTIS EM EUCALIPTO POR
MEIO DA ESPECTROSCOPIA FOLIAR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Rafael Ferreira Alfenas

Coorientadora: Cibele Hummel do Amaral

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S235d
2022 Santiago, Márcia Indyanara Lopes, 1986-
Detecção precoce da murcha-de-ceratocystis em eucalipto
por meio da espectroscopia foliar / Márcia Indyanara Lopes
Santiago. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (55 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Rafael Ferreira Alfenas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Fitopatologia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 51-55.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.005>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Fungos fitopatogênicos. 2. *Ceratocystis fimbriata*.
3. Eucalipto - Doenças e pragas. 4. Murchas. 5. Análise foliar -
Espectros. I. Alfenas, Rafael Ferreira, 1983-. II. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Fitopatologia. Programa de
Pós-Graduação em Fitopatologia. III. Título.

CDD 22. ed. 632.465

MÁRCIA INDYANARA LOPES SANTIAGO

**DETECÇÃO PRECOCE DA MURCHA-DE-CERATOCYSTIS EM EUCALIPTO POR
MEIO DA ESPECTROSCOPIA FOLIAR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADO: 14 de outubro de 2022.

Assinatura:


Márcia Indyanara Lopes Santiago
Autora


Rafael Ferreira Alfenas
Orientador

Dedico este trabalho à minha
mãe, Maria e à minha avó,
Balbina, grandes exemplos de
força e dedicação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, “pois o Senhor é quem dá sabedoria; de sua boca procedem o conhecimento e o discernimento” (Provérbios 2:6).

Aos meus pais, Edson e Maria, pelo amor incondicional, apoio, dedicação e por sempre acreditarem em mim.

Aos meus amados filhos, Ana Luísa e Ravi, mesmo tão pequenos são duas fontes inesgotáveis de amor e carinho.

Ao meu esposo, pelo companheirismo e paciência.

Aos meus irmãos, Jefferson e Edson Jr. pela união, cuidado e amizade.

Aos meus avós, João e Balbina, pelo amor, incentivo, cuidado e pelo aconchego da acolhida, sempre.

Aos meus tios, José e Ana Maria, pelo incentivo, exemplo e por estarem sempre presentes.

Aos meus primos, Ricardo e Ravena, pela amizade e fraternidade.

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, por oferecer uma educação de qualidade e contribuir com minha formação profissional.

A CAPEs, CNPq e FAPEMIG pelo financiamento desta pesquisa e pelo auxílio financeiro concedido durante o mestrado.

Aos meus orientadores, Rafael Alfenas e Cibele Hummel, os quais tenho imensa admiração por serem exemplos de profissionais e grandes pessoas. Agradeço a oportunidade, confiança, paciência, amizade e por todo aprendizado.

Ao Prof. Acelino Alfenas pelos ensinamentos e por ser exemplo de competência e dedicação. Minha gratidão e respeito!

Agradeço ao Dr. Marston Franceschini, pelo apoio com o trabalho, paciência e incentivo.

Ao professor Sárvio Valente, pelo direcionamento e esclarecimentos durante as análises dos dados deste trabalho e pelo pronto atendimento sempre que precisei.

Ao professor João Meira do Laboratório de Ecologia e Evolução de Plantas, pela disponibilização do equipamento FieldSpec 4, essencial ao desenvolvimento deste trabalho e ao Célsio por ser sempre solícito e gentil.

À Bárbara Picanço pelo apoio com as análises de fluorescência e pelos importantes esclarecimentos sobre fisiologia vegetal.

À Camila Bonjour, pela ajuda e dedicação durante a fase de experimento e coleta das amostras.

À Clonar Resistência a Doenças Florestais pela disponibilização do material vegetal e insumos utilizados durante o experimento. Em especial, ao Paulo Sinei, Davi, Felipe Bastos e Andressa pela prestatividade, ensinamentos e profissionalismo.

A todos do Laboratório de Patologia Florestal, pela acolhida, amizade e leveza no convívio ao longo desses dois anos. Em especial, à Márcia Brandão (Marcinha), pela dedicação e prestatividade, à Mara, pelo exemplo de profissional e ser humano, à Elenice, pela amizade e hombridade, à Rosiane pela grande ajuda durante a fase de experimento, pelos ensinamentos e agradável convívio e ao Fernando por todo conhecimento compartilhado e boas risadas.

Às amigas da Fitopatologia, Nívia e Iolanda, que conheci no período remoto e posteriormente tive o privilégio de dividir bons momentos em Viçosa.

E por fim, agradeço imensamente a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho. Gratidão.

*“Um dia, quando não estiveres, serás aquilo que
fizeste.”*
(Autor desconhecido)

ABSTRACT

SANTIAGO, Márcia Indyanara Lopes, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2022. **Early Detection of Ceratocystis wilt on Eucalyptus using leaf Spectroscopy.** Advisor: Rafael Ferreira Alfenas. Co-advisor: Cibele Hummel do Amaral.

Ceratocystis wilt, caused by the fungus *Ceratocystis fimbriata*, is a lethal disease in eucalypt that can cause large economic losses, especially when widespread by asymptomatic infected plants. Therefore, early detection of ceratocystis wilt is vital to minimize the risk to spread of the disease to the field and the dispersal of the pathogen to areas where the disease is not present. Although molecular methods can be applied to detect the disease on asymptomatic plants, they are destructible, sampling dependent and costly. However, the detection of diseases in the asymptomatic period through hyperspectral reflectance is being widely used in agriculture. In this way, this work sought to differentiate inoculated and non-inoculated plants through leaf reflectance spectra associated with vegetation indices related to the content of photosynthetic pigments, nitrogen, cellulose, lignin, water and vegetation stress. Leaf samples were collected from the apical, middle and basal thirds to measure the spectra with ASD *FieldSpec4*® spectroradiometer. Evaluations were performed at 0, 12, 24, 48 and 72 hours after inoculation (hai), as well as 30 and 40 days after inoculation (dai). At 12 hai it was possible to observe differences in spectral behavior between uninoculated (NI) and inoculated (I) individuals. In the first hours of evaluation, the leaves of the middle and basal thirds were more representative in the distinction of inoculated and non-inoculated individuals, while the leaves of the apical third were more representative in the distinction of plants with and without visual symptoms. Visible (VIS; 400 – 700 nm) and Near-infrared (NIR; 700 – 1300 nm) spectral data were more sensitive to physiological changes at the beginning of pathogen infection and Short-wave infrared (SWIR; 1300 – 4500 nm) was representative in the distinction of individuals at all times evaluated, mainly in the spectral region involved in energy absorption by proteins. The indices related to the content of nitrogen, chlorophylls, carotenoids, biomass and water content showed significant values in the distinction between treatments in the different evaluation periods. Through the results obtained in this work, it is possible to discriminate inoculated and non-inoculated individuals

through leaf reflectance as well as to apply this methodology in the monitoring of plant diseases in the asymptomatic period of the disease.

Keywords: vascular wilt, leaf reflectance, *Ceratocystis fimbriata*, vegetation indices.

RESUMO

SANTIAGO, Márcia Indyanara Lopes, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2022. **Detecção precoce da murcha-de-ceratocystis em eucalipto por meio da espectroscopia foliar.** Orientador: Rafael Ferreira Alfenas. Coorientadora: Cibele Hummel do Amaral.

A murcha-de-ceratocystis em eucalipto causada pelo fungo *Ceratocystis fimbriata*, é uma doença letal que pode causar grandes prejuízos econômicos, especialmente quando a disseminação ocorre através do plantio de plantas infectadas mas assintomáticas. Portanto, a detecção precoce da doença é vital para minimizar o risco de disseminação da doença para o campo e a dispersão do patógeno para áreas onde o patógeno não está presente. Embora métodos moleculares possam ser aplicados para detectar a doença em plantas assintomáticas, são destrutíveis, dependentes de amostragem e envolvem um custo elevado. A detecção de doenças no período assintomático através da reflectância hiperespectral estão sendo amplamente utilizadas na agricultura. Nesse sentido, este trabalho buscou diferenciar plantas inoculadas e não inoculadas por meio de espectros foliares de reflectância associados aos índices de vegetação relacionados ao conteúdo de pigmentos fotossintéticos, nitrogênio, celulose, lignina, água e estresse da vegetação. Foram coletadas amostras foliares do terço apical, médio e basal para medição dos espectros com espectrorradiômetro ASD *FieldSpec4*[®]. As avaliações foram realizadas 0, 12, 24, 48 e 72 horas após a inoculação (hai), assim como 30 e 40 dias após a inoculação (dai). Às 12 hai foi possível observar diferenças no comportamento espectral entre indivíduos não inoculados (NI) e inoculados (I). Nas primeiras horas de avaliação as folhas do terço mediano e basal apresentaram maior representatividade na discriminação de indivíduos inoculados e não inoculados, enquanto as folhas do terço apical tiveram maior representatividade na diferenciação de plantas com e sem sintomas visuais. Os dados espectrais do visível (VIS; 400 – 700 nm) e infra-vermelho próximo (NIR; 700 – 1300 nm) foram mais sensíveis as alterações fisiológicas no início da infecção pelo patógeno e o infra-vermelho de ondas curtas (SWIR; 1300 – 4500 nm) foi representativo na diferenciação de indivíduos em todos os tempos avaliados, principalmente da região espectral envolvida na absorção de energia pelas proteínas. Os índices relacionados ao conteúdo de nitrogênio, clorofilas, carotenóides, biomassa e conteúdo de água apresentaram valores significativos na diferenciação entre os

tratamentos nos diferentes períodos de avaliação. Por meio dos resultados obtidos neste trabalho, é possível discriminar indivíduos inoculados e não inoculados através da reflectância foliar bem como aplicar essa metodologia no monitoramento de doenças de plantas no período assintomático da doença.

Palavras-chave: murcha-vascular, reflectância foliar, *Ceratocystis fimbriata*, índices de vegetação.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. MATERIAL E MÉTODOS	14
2.1 Material vegetal.....	14
2.2 Delineamento experimental	15
2.3 Produção de inóculo e inoculação do fungo <i>Ceratocystis fimbriata</i>	15
2.4 Avaliação da murcha-de-ceratocystis	16
2.4.1 <i>Sintomas internos e externos</i>	16
2.4.2 <i>Medições dos espectros foliares</i>	16
2.4.3 Imagem de fluorescência da Chl a	17
2.4.4 Índices de vegetação	17
2.5 Análises estatísticas.....	20
3. RESULTADOS	21
3.1 Sintomas da murcha-de-ceratocystis.....	21
3.2 Comportamento espectral.....	22
3.3 Índices de vegetação	36
3.4 Análise de fluorescência da Chl a.....	42
4. DISCUSSÃO	43
CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	51

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* é a maior fonte de matéria-prima para a indústria brasileira de madeira, celulose, papeis e derivados. Na última década, o aumento global de produtos derivados do eucalipto impulsionou a expansão em área plantada para diversas regiões do país (SERRAT DE SOUZA et al., 2021). No entanto, mesmo com o avanço do conhecimento sobre os tratamentos silviculturais e desenvolvimento de novos clones, têm-se observado uma oscilação na produtividade média de eucalipto no Brasil. Em 2010, a produtividade média brasileira era de 41,3 m³/ha/ano, passando para 35,3 m³/ha/ano em 2017, 36 m³/ha/ano em 2018, 38,6 m³/ha/ano em 2019, 36,8 m³/ha/ano em 2020 e 38,9 m³/ha em 2020 (INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES, 2022). Dentre os fatores que têm contribuído para essa queda de produtividade, destacam-se as oscilações climáticas, adaptação a novas áreas sob condições de estresse e o aumento na incidência e severidade de pragas e doenças (ALFENAS et al., 2004).

Em relação às doenças do eucalipto de origem biótica, podemos destacar a murcha-de-ceratocystis, causada pelo fungo *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst., por ser uma doença vascular, letal, causada por um patógeno que possui capacidade de sobrevivência no solo por um longo período além de possuir uma ampla distribuição geográfica e gama de hospedeiro (ALFENAS et al., 2009; FERREIRA; MAFIA; ALFENAS, 2018; MAFIA et al., 2013). O fungo *C. fimbriata* reside no solo, infecta a planta através de raízes e ferimentos e colonizam os vasos do xilema, impedindo o transporte de água e sais minerais (YADETA; THOMMA, 2013). Como consequência, ocorre a murcha e morte da planta dependendo do nível de suscetibilidade do genótipo e da agressividade do patógeno.

Os principais sintomas da murcha-de-ceratocystis são o cancro, escurecimento radial do lenho a partir da medula, “die-back”, murcha e morte da planta (FERREIRA et al., 2006).

Há diversas maneiras de disseminação da doença, como por exemplo o contato de raízes, ação de insetos que podem carregar em seu corpo estruturas do patógeno, uso de ferramentas de poda e principalmente através do plantio de mudas propagadas vegetativamente (HARRINGTON; THORPE; ALFENAS, 2011). Como o plantio de eucalipto é realizado essencialmente com material genético propagado

vegetativamente, é importante que se realize o monitoramento da doença ainda na fase de produção de mudas.

Atualmente a detecção da murcha-de-ceratocystis é realizada por meio de cortes histológicos para verificar a presença do patógeno nos vasos condutores, pelo método de isolamento em isca de cenoura (FERREIRA; MAFFIA; FERREIRA, 2005) e mais recente pelo método de detecção baseado em PCR (KUMARI et al., 2021). Embora sejam métodos confiáveis, a análise é destrutiva, dependente de amostragem, envolve um custo elevado e muitas vezes pode resultar em resultado inconsistente, quando realizado em material vegetal assintomático.

A aplicação de sensores hiperespectrais tem sido cada vez mais frequentes na agricultura e surge como uma alternativa viável e factível para o monitoramento de pragas e doenças no setor florestal. Essas técnicas baseiam-se na interação da energia com a vegetação, na qual a folha irá absorver a energia incidente e refletir parte dessa energia que não foi absorvida em diferentes comprimentos de onda (J. Im and Jensen 2008).

Por meio dessa energia refletida o sensor hiperespectral é capaz de captar e retornar os valores de reflectância em diferentes comprimentos de ondas estreitos e contínuos. Essa reflectância foliar permite a caracterização rápida do estado fisiológico de forma não destrutiva e no período de infecção latente da doença (GOLD et al., 2020; MAHLEIN et al., 2018). Por meio da utilização desse sensor, foi possível diferenciar a murcha do carvalho, causada por *Bretiziella fagacearum*, e ferrugem do carvalho, causada pelo fungo *Tubakia iowensis* através de modelos discriminantes aplicados aos dados hiperespectrais e seleção das bandas espectrais favoráveis ao diagnóstico da doença em diferentes fases da infecção pelo patógeno (FALLON et al., 2020). A aplicação de métodos espectroscópico em árvores de *Pinus* sp. infectadas por *Bursaphelenchus xylophilus*, agente causal da murcha do pinheiro, também foi testado, sendo possível observar alterações na reflectância em 759 nm associadas ao índice de vegetação NDVI e concentração de clorofila. Estes fatores permitiram a detecção da doença 30 dias após a inoculação (PAN et al., 2014).

Índices de vegetação extraídos de dados de bandas espectrais tem sido aplicado para monitoramento da sanidade e estresse da vegetação através do uso de poucos comprimentos de ondas. O valor de reflectância obtido nesses comprimentos de onda é utilizado em funções de combinações lineares, diferenças, diferenças ponderadas e uso de razões, que irão fornecer medidas capazes de estimar

parâmetros estruturais e fisiológicos da vegetação (J. Im and Jensen 2008). Dada essa importância, numerosos índices de vegetação foram desenvolvidos para estimar o conteúdo de pigmentos fotossintetizantes (BLACKBURN, 1998a; MERZLYAK et al., 1999; PEHUELAS et al., 1993), compostos bioquímicos ((SERRANO; PEÑUELAS; USTIN, 2002; VOGELMANN; ROCK, 1988) e concentração de água no dossel (GAO, 1996; SIMS; GAMON, 2003).

Segundo Gold et al., (2020) a detecção da doença no período assintomático é possível utilizando modelos de classificação aplicado aos dados de reflectância hiperespectral aliado ao conhecimento das respostas fisiológicas da planta durante sua interação com o patógeno. Além disso, é possível discriminar os genótipos quanto à resistência ou suscetibilidade como demonstrado para o patossistema *Plasmopora viticola* – *Vitis vinifera* (OERKE; HERZOG; TOEPFER, 2016). Os trabalhos aplicados com o uso de sensores hiperespectrais para detecção de doenças em eucalipto são incipientes, embora essa ferramenta tem sido utilizada para a detecção de doenças em culturas agrícolas e perenes como *Pinus* sp. e *Quercus* sp. (COTROZZI, 2021).

Diante da efetividade de utilização dos sensores hiperespectrais e considerando a problemática relacionada à murcha-de-ceratocystis, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial da espectroscopia foliar associadas aos índices de vegetação para diferenciar plantas saudias, assintomáticas e sintomáticas em mudas de eucalipto em diferentes estágios da infecção do patógeno.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Mudas do clone CLR223 de eucalipto, suscetível à murcha-de-ceratocystis foram transplantadas para vasos de 2L contendo o substrato Tropstrato V6 acrescido de 6 kg/m³ de supersimples e 6 kg/m³ de Osmocote® (15-09-12) (ICL Specialty Fertilizers). As plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura entre 25-30°C e umidade relativa de 80-90% durante o experimento. Após 45 dias do transplântio foi aplicado semanalmente 50 mL/planta da solução nutritiva (MAP - 32.30 g; KCl - 50.26 g; Nitrato de cálcio - 131.58 g; Sulfato de magnésio - 75 g; Ácido bórico - 1.47 g; Sulfato de cobre - 0.30 g; Fe 6% - 10.42 g; Sulfato de manganês - 0.55 g;

Sulfato de zinco - 0.20 g; Molibdato de sódio - 0.02 g e Cloreto de cálcio 138.89 g, para cada 250 litros de água).

2.2 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em ambiente controlado em casa de vegetação na Universidade Federal de Viçosa e conduzido em delineamento inteiramente ao acaso (DIC). Os tratamentos foram divididos em: mudas inoculadas e mudas feridas não inoculadas (controle). O experimento foi avaliado em sete tempos e para cada tempo foram avaliadas dez plantas, sendo cinco inoculadas e cinco não inoculadas, totalizando 70 plantas.

As avaliações foram realizadas após a inoculação das mudas nos tempos: 0, 12, 24, 48 e 72 horas após a inoculação (hai), assim como 30 e 40 dias após a inoculação (dai).

2.3 Produção de inóculo e inoculação do fungo *Ceratocystis fimbriata*

Para as inoculações foi utilizado o isolado de *C. fimbriata* (LPF1912) pertencentes à Coleção de Culturas do Laboratório de Patologia Florestal da UFV.

O isolado foi cultivado em placas de Petri contendo meio de cultura EMA (Extrato de Malte e Ágar) e mantidos em BOD com fotoperíodo de 12 h a 28 °C durante dez dias. Após esse período, as placas foram lavadas com 10 mL de água destilada autoclavada raspando a superfície da colônia com uma alça de Drigalski. A suspensão de esporos (conídios, ascósporos e aleuroconídios) foi filtrada em camada dupla de gaze e a concentração foi ajustada para $3,0 \times 10^6$ esporos mL⁻¹ com o auxílio de um hemacitômetro.

A inoculação das plantas foi realizada por meio de uma incisão transversal superficial no caule, de aproximadamente 2 cm de comprimento e 5 cm acima do coleto, com auxílio de um estilete. Em seguida foram depositados 500 µL da suspensão de esporos com o auxílio de uma pipeta manual. O ferimento foi coberto com plástico filme PVC para evitar a perda de umidade e a contaminação por outros microrganismos. Para as plantas controle foi realizado apenas o ferimento com o auxílio do estilete, próximo ao coleto. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em casa de vegetação por 40 dias. A coleta e armazenamento dos dados de

temperatura e umidade relativa do ar, foi realizada diariamente com intervalo de aquisição de 1 hora, com auxílio de um Datalogger portátil modelo LogBox-RHT-LCD.

2.4 Avaliação da murcha-de-ceratocystis

2.4.1 Sintomas internos e externos

Ao final de cada tempo: 0h (t₀), 12 hai (t₁), 24 hai (t₂), 48 hai (t₃), 72 hai (t₄), 30 dai (t₅) e 40 dai (t₆), foi realizada a avaliação dos sintomas medindo o comprimento da lesão (sintoma típico de escurecimento do lenho causados pelo patógeno no caule da planta), altura da planta e observando a presença dos sintomas de murcha.

2.4.2 Medições dos espectros foliares

Para cada planta de cada tratamento foram coletadas seis folhas de cada planta, sendo 2 folhas da parte basal, 2 da parte mediana e 2 da parte apical, totalizando 30 amostras por tratamento. Estas folhas foram acondicionadas em sacos herméticos com um pedaço de papel interfolhado levemente umidificado para manter a umidade das amostras foliares. Em seguida foram armazenadas em uma caixa de isopor contendo placas de gelo artificial, seguindo protocolo descrito por Meerdink et al. (2016). Os espectros foliares foram medidos imediatamente após a coleta, utilizando o espectrorradiômetro ASD FieldSpec4[®] (Analytical Spectral Devices, Boulder, CO, EUA). Este equipamento é um sensor ultraspectral, sem imagem, de alta resolução que opera entre os intervalos espectrais de 350 à 2500 nm.

As medições de reflectância das amostras foram obtidas através da sonda de contato de fibra ótica Leaf Clip (ASD Plant Probe; ASD Inc., EUA) e uma lâmpada de halogênio integrada. O painel de referência espectral foi utilizado para calibrar a referência do branco, posicionando o spectralon para o campo de visada do aparelho e otimizando até aparecer um linha horizontal contínua (DANNER et al., [s.d.]).

Foram amostrados na superfície adaxial 3 regiões da folha para gerar a curva de refletância espectral média de cada amostra foliar. Os dados foram interpolados para resolução de 1nm a partir da resolução original de 3 e 8 nm do instrumento.

2.4.3 Imagem de fluorescência da Chl a

Foram destacadas duas folhas da parte média de cada planta e acondicionadas em sacos herméticos com um pedaço de papel interfolhado levemente umidificado para manter a umidade das amostras foliares. Em seguida foram armazenadas em uma caixa de isopor contendo placas de gelo artificial. As amostras foram analisadas de imediato para obtenção dos parâmetros de fluorescência da Chl a. Para isso, foi utilizado o fluorômetro Imaging-PAM e a versão MAXI do software Imaging Win (Heinz Walz GmbH, Effeltrich Alemanha). Para obter o rendimento de fluorescência em estado estacionário, os tecidos clorofilianos foram expostos à irradiância de fótons actínicos ($531 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$) por 5 minutos. A metodologia aplicada neste estudo foi a mesma utilizada por (FAGUNDES-NACARATH; DEBONA; RODRIGUES, 2018).

2.4.4 Índices de vegetação

A reflectância medida com ASD FieldSpec4[®], foram salvos no formato .asd e exportados para o formato .txt. Para cada amostra espectral foram calculados vinte e sete índices de vegetação (IV) (Tabela 1). As amostras foram agrupadas por folha (apical, mediana ou basal), presença do patógeno (inoculado e não inoculado) e período de avaliação (t0, t1, t2, t3, t4, t5 e t6). Com base nas análises estatísticas de correlação com as variáveis mantidas, os índices foram reduzidos e mantidos apenas os que foram estatisticamente significativos ($p < 0.05$).

Os IV aplicados neste trabalho não são específicos para detecção de doenças, no entanto, são índices consolidados na literatura para indicar através da reflectância foliar as alterações de natureza estrutural e bioquímica. Os IV selecionados para estimar o conteúdo de clorofila a, clorofila b e carotenoides foram: CRI1, CRI2, SIPI, PSSRa, PSSRb, PSND1, PSRI, CARI, MCARI, MCARI1. Para o monitoramento do estresse da vegetação, foi utilizado o IV PRI e o RVSI.

Os índices CAI, NDNI, hNDVI, NDVI, NDLI e NRI também foram utilizados para estimar teor de nitrogênio, lignina e absorção de celulose e estresse da vegetação. Para relação de conteúdo de água em nível de folha foram aplicados os índices NDWI, DWSI, DSWI-5, WBI970, WBI1180, WBI1450, LWVI2, WABI, SRWI e MSI.

Tabela 1 - Índices de vegetação calculados para diferenciar indivíduos não inoculados e inoculados no período assintomático da doença

Índice	Aplicação	Fórmula	Referência
NDLI	Teor de lignina	$[\log(1/R_{1754}) - \log(1/R_{1680})] / [\log(1/R_{1754}) + \log(1/R_{1680})]$	(SERRANO; PEÑUELAS; USTIN, 2002)
CRI1	Conteúdo de carotenóides	$(1/R_{510} - 1/R_{550})$	(GITELSON et al., 2002)
CRI2	Conteúdo de carotenóides	$(1/R_{510} - 1/R_{700})$	(GITELSON et al., 2002)
CAI	Absorção de celulose	$100*[0.5*(R_{2000} + R_{2200})] - R_{2100}$	(NAGLER et al., 2003)
NDNI	Concentração de Nitrogênio	$[\log(1/R_{1510}) - \log(1/R_{1680})] / [\log(1/R_{1510}) + \log(1/R_{1680})]$	(SERRANO; PEÑUELAS; USTIN, 2002)
PRI	Estresse da vegetação	$(R_{531} - R_{570}) / (R_{531} + R_{570})$	(GAMON; SERRANO; SURFUS, 1997)
RVSI	Estresse da vegetação	$[(R_{714} + R_{752}) / 2] - R_{733}$	(MERTON, 1998)
NDWI	Teor de água no dossel	$(R_{860} - R_{1240}) / (R_{860} + R_{1240})$	(GAO, 1996)
WBI970	Teor de água no dossel	R_{900}/R_{970}	(SIMS; GAMON, 2003)
WBI1180	Teor de água no dossel	R_{900}/R_{1180}	(SIMS; GAMON, 2003)
WBI1450	Teor de água no dossel	R_{900}/R_{1450}	(SIMS; GAMON, 2003)
DWSI	Estresse da vegetação	$(R_{802} - R_{547}) / (R_{1657} + R_{682})$	(APAN et al., 2010)
DWSI-5	Estresse da vegetação	$(R_{800} + R_{550}) / (R_{1660} + R_{680})$	(APAN et al., 2003)
LWVI-2	Conteúdo de água na folha	$(R_{1094} - R_{1205}) / (R_{1094} + R_{1205})$	(GALVÃO; FORMAGGIO; TISOT, 2005)

SIPI	Pigmentos da folha	$(R_{800} / R_{455} / R_{800}/R_{650})$	(PENUELAS; FREDERIC, 1995)
PSSRa	Teor de clorofila a	R_{800}/R_{675}	(BLACKBURN, 1998a)
PSSRb	Teor de clorofila b	R_{800}/R_{650}	(BLACKBURN, 1998a)
PSND1	Conteúdo de Chl-a	$(R_{800} - R_{675} / R_{800} + R_{675})$	(BLACKBURN, 1998b)
PSND2	Conteúdo de Chl-b	$(R_{800} - R_{650} / R_{800} + R_{650})$	(BLACKBURN, 1998a)
PSRI	Senescência da planta	$(R_{680}-R_{500} / R_{750})$	(MERZLYAK et al., 1999)
CARI	Teor de clorofila	$(R_{700} - R_{670}) - 0.2 * (R_{700}-R_{550})$	(GITELSON et al., 2002)
MCARI	Teor de clorofila	$(R_{700} - R_{670}) - 0.2 * (R_{700}-R_{550})$	(DAUGHTRY et al., 2000)
MCARI1	Teor de clorofila	$[(R_{700}-R_{550}) * 0.2 - (R_{700}-R_{670}) - (R_{700} -R_{550}) * 0.2] * 1.2$	(HABOUDANE et al., 2004)
WABI	Conteúdo de água na folha	$(R_{1500} - R_{531}) / (R_{1500} + R_{531})$	(RAPAPORT et al., 2015)
SRWI	Conteúdo de água	R_{860} / R_{1240}	(ZARCO-TEJADA; RUEDA; USTIN, 2003)
NDVI	Estresse da vegetação	$(R_{800}-R_{680} / R_{800}+R_{680})$	(PEHUELAS et al., 1993)
MSI	Níveis de estresse de umidade da vegetação	R_{1600}/R_{820}	(VOGELMANN; ROCK, 1988)
hNDVI	Estresse da vegetação	$(R_{827}-R_{668} / R_{827}+R_{668})$	(OPPELT; MAUSER, 2004)
NRI	Teor de biomassa e concentração de nitrogênio	$(R_{570}-R_{670} / R_{570}+R_{670})$	(VOGELMANN; ROCK, 1988)

2.5 Análises estatísticas

Para os dados de reflectância, foi aplicada Análise de Componentes Principais (ACP), empregando a função “prcomp” do R, seguido de cálculo da distância euclidiana entre as coordenadas médias nas componentes para os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas. Uma ACP foi realizada para cada tempo e região do dossel, sendo a distância euclidiana média adotada como métrica para avaliar a diferença na resposta espectral entre os grupos para as diferentes regiões do dossel da planta. A distância euclidiana entre dois pontos $P = (p_1, p_2, \dots, p_n)$ e $Q = (q_1, q_2, \dots, q_n)$ em um espaço euclidiano multidimensional é definida pela Equação (1):

$$d(p, q) = \sqrt{\sum_{i=1}^{n=3} (p_i - q_i)^2} \quad (1)$$

O cálculo do ângulo espectral ou Spectral Angle Mapper (SAM) (KRUSE et al., 1993) foi aplicado para avaliar a diferença direta entre a resposta espectral média de indivíduos inoculados e não inoculados nas diferentes posições do dossel. O SAM mede a similaridade entre duas curvas espectrais à partir do cálculo do ângulo espectral, definido pela Equação (2):

$$SA = \arccos\left(\frac{\vec{t} \cdot \vec{r}}{\|\vec{t}\| \cdot \|\vec{r}\|}\right) \quad (2)$$

Onde SA é o ângulo espectral em radianos entre o espectro teste t e o espectro de referência r .

Conforme a distância entre os valores médios espectrais das classes inoculados e não inoculados de uma mesma região de coleta for maior, esta região foi selecionada como melhor posição para diferenciar plantas doentes e sadias.

Para avaliar a contribuição dos comprimentos de onda para cada Componente Principal (CP) foi utilizada a função “get_pca_var” do pacote “factoextra” em R. Neste cálculo, os eixos para cada CP (“eigenvectors”) são multiplicados pelo desvio padrão do respectivo componente derivado durante a análise (i.e., raiz quadrada dos “eigenvalues”), obtendo-se os “loadings” para a componente. Em seguida, os loadings por comprimento de onda são elevados ao quadrado, divididos pela soma dos loadings elevados ao quadrado para todas as bandas e multiplicado por 100 para

obter-se a porcentagem de contribuição de cada comprimento de onda para a variabilidade representada pela CP. Além disto, o coeficiente de correlação de Pearson entre as componentes principais e cada comprimento de onda foram plotados em mapa de cores de acordo com o tempo/período de avaliação e região do dossel.

Os índices de vegetação foram calculados conforme as equações da Tabela 1. Foram aplicados os testes de variância (homocedasticidade, teste Tukey ou teste Benjamini & Hochberg) para avaliar a correlação ($p < 0.05$) entre os IV e a região da planta favorável à detecção precoce da doença, usando o pacote “compareGroups” (KUMARI et al., 2021) do software R Studio versão 4.1.3. O teste de Tukey foi aplicado aos dados de fluorescência para avaliar a correlação dos parâmetros de fluorescência da Chl-a com as classes de plantas não inoculadas e inoculadas nos diferentes tempos de avaliação.

3. RESULTADOS

3.1 Sintomas da murcha-de-ceratocystis

As plantas não inoculadas (NI) desenvolveram-se normalmente e como esperado, não apresentaram sintomas de murcha durante todo o período de avaliação (Figura 1a - d). Já as plantas inoculadas não apresentaram sintomas de murcha até 72 dai, mas apresentaram discreto escurecimento interno no caule (Figura 1e, g, h). O fungo foi reisolado em isca de cenoura comprovando que o escurecimento observado era devido a ação do patógeno (Figura 1f). Plantas inoculadas avaliadas 30 dai também não apresentaram sintomas de murcha, mas tinham um maior escurecimento interno com comprimento médio de 28,3 cm (Fig. 1i - j). Aos 40 dai as plantas apresentaram sintomas de murcha, escurecimento interno com comprimento médio de 49,1 cm (Fig. 1k - l).

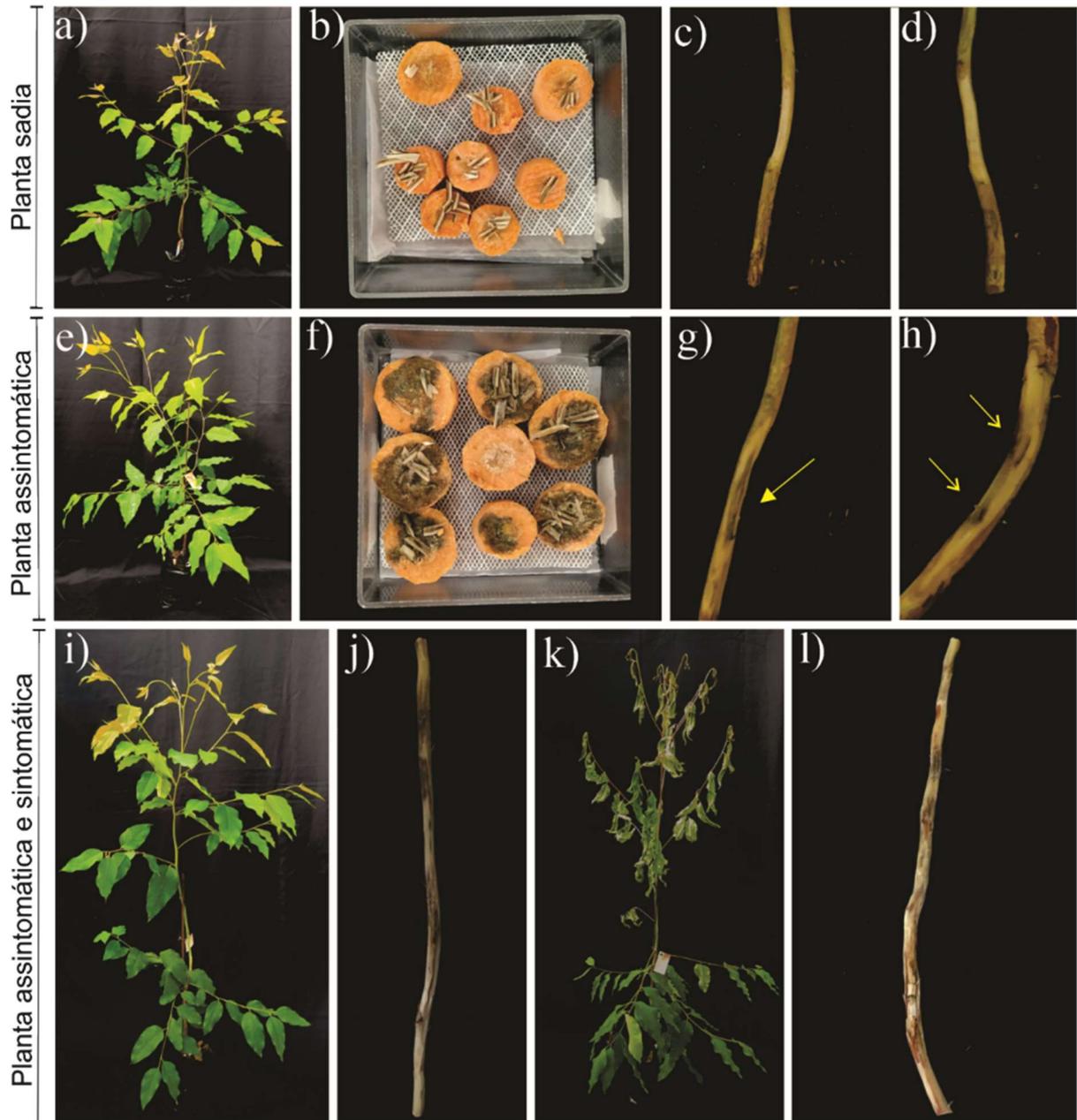


Figura 1. Avaliação dos sintomas internos e externos da murcha-de-ceratocystis causado por *Ceratocystis fimbriata*. (a) planta não inoculada; (b) isca de cenoura sem crescimento do fungo; (c - d) caule sem escurecimento interno; (e) planta inoculada assintomática 72 hai; (f) crescimento do fungo em iscas de cenoura; (g - h) escurecimento interno próximo ao local de inoculação; (i) planta inoculada assintomática 30 dai; (j) escurecimento interno ao longo do caule (k) planta inoculada 40 dai com sintomas de murcha no terço apical e mediano e (l) escurecimento interno longitudinal descontínuo à partir do local de inoculação.

3.2 Comportamento espectral

Em uma primeira análise dos espectros de reflectância das folhas dos indivíduos não inoculados, inoculados assintomáticos e inoculados sintomáticos foram

observadas diferenças nas respostas espectrais entre grupos em múltiplas regiões do espectro e em folhas dos diferentes terços do dossel da planta (Figura 2).

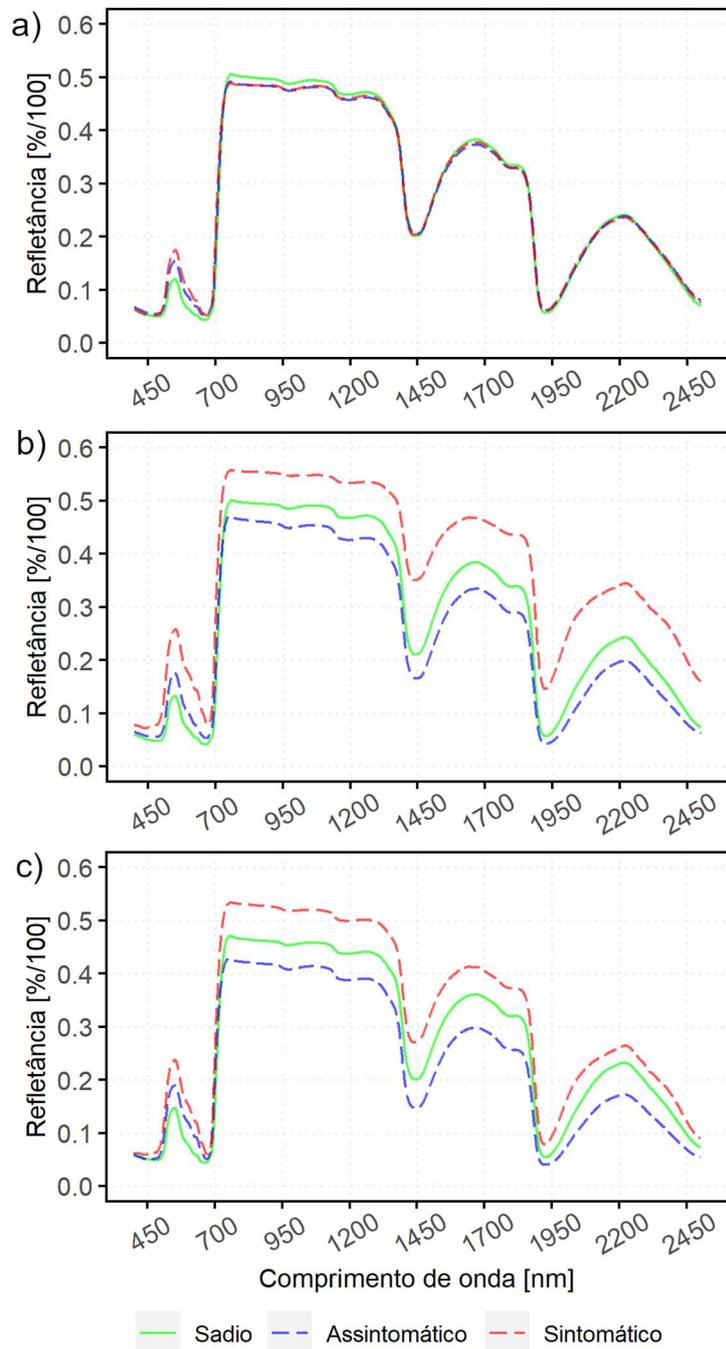


Figura 2. Resposta espectral de folhas para indivíduos sadio, assintomático e sintomático. O comportamento espectral em cada caso é descrito por valores médios de reflectância foliar no terço (a) basal, (b) médio e (c) apical das plantas.

As diferenças espectrais observadas entre indivíduos sadio, assintomáticos e sintomáticos não foram homogêneas quando comparados os diferentes terços do

dossel. As folhas do terço médio e apical apresentam diferenças geralmente maiores nos valores de reflectância, potencialmente possibilitando melhor diferenciação de indivíduos não inoculado e inoculado em diferentes níveis de severidade de infecção pelo patógeno (Figura 2 b - c). Já a reflectância das folhas do terço basal foi relativamente similar entre os diferentes grupos, dificultando a diferenciação deles (Figura a). Na região dos comprimentos de onda do visível foi observado aumento da reflectância próximo de 550 nm para indivíduos infectados pelo patógeno, assim como uma suavização/diminuição nas feições de absorção da energia incidente. Essa região do espectro está associada a capacidade fotossintética e resposta ao estresse que modulam o mecanismo primário da planta. Na região do infravermelho próximo e de ondas curtas (NIR e SWIR), faixa espectral influenciada por características estruturais das células do mesófilo e teor de água nas mesmas, os valores de reflectância foram mais elevados para plantas inoculadas após o aparecimento dos sintomas de murcha.

Para melhor comparar a dissimilaridade entre indivíduos inoculados e não inoculados em função do tempo de avaliação e região do dossel, foi calculada a distância euclidiana entre as coordenadas médias para estes grupos de indivíduos (inoculados e não inoculados) no espaço descrito por variáveis derivadas através de Análise de Componentes Principais (ACP) feita com os dados espectrais (Figura 3 a). Foram observadas 12 hai diferenças entre plantas inoculadas e não inoculadas, mas de forma variável para os diferentes terços do dossel, sendo essa diferença mais acentuada para folhas do terço médio. Após 24 horas as folhas do terço basal e médio apresentaram maior distância entre as classes inoculada e não inoculada. Essa distância relativamente alta se manteve apenas para o terço médio 48 hai. Enquanto 72 hai as folhas do terço médio e apical apresentaram maior separação entre classes. Após os 30 dias da inoculação houve maior similaridade entre indivíduos, em comparação aos outros tempos, no entanto, é possível observar que para o terço basal e médio houve distanciamento considerável entre plantas inoculada e não inoculada. Surpreendentemente para o terço apical e 30 dai, as distancias observadas foram mais similares aos valores obtidos para plantas não inoculadas (representadas em preto na Figura 3) em comparação aos outros tempos. Finalmente 40 dai, após o aparecimento dos sintomas de murcha, as folhas do terço apical apresentaram maiores distâncias entre indivíduos sadio e doente. Os valores antes de inocular, utilizados como referência para avaliar a magnitude da variação na resposta espectral

ocasionada pela infecção, mostrou um equilíbrio entre as posições de coleta no dossel, não havendo diferença considerável entre plantas que seriam inoculadas ou não, para todas as regiões.

De forma similar a comparação entre grupos utilizando a distância euclidiana, foi calculado o ângulo espectral entre a refletância média para indivíduos inoculados e não inoculados (Figura 3b). No gráfico representando estes dados, em geral, a diferença entre indivíduos dos diferentes grupos cresce de forma gradual conforme o tempo entre inoculação e de avaliação aumenta. É possível visualizar diferenças mais significativas após aparecimento dos sintomas de murcha, visto de forma mais acentuada no terço médio e apical. Após 30 dias, a diferença do ângulo espectral entre indivíduos inoculados e não inoculados não é tão acentuada, no entanto, para folhas do terço médio essa diferença ocorreu de forma considerável principalmente em relação as observações feitas no tempo 0, antes de inocular.

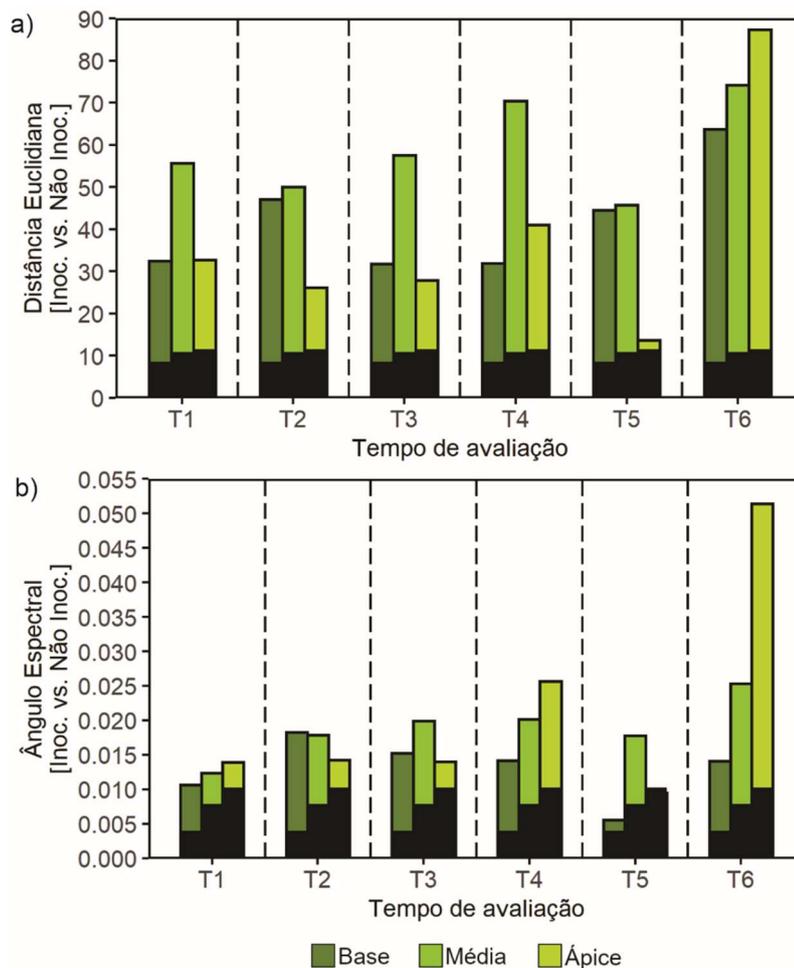


Figura 3. Gráfico comparativo da distância euclidiana média (a) e ângulo espectral (b) entre indivíduos inoculados e não inoculados para diferentes terços do dossel (base, médio e ápice), avaliados ao final dos períodos t0, t1, t2, t3, t4, t5 e t6. O período t0 aparece representado por barras em preto sobrepostas as barras com distancias para

os demais tempos de avaliação, podendo ser utilizado como referência para avaliar a magnitude das distâncias observadas em cada caso.

Para uma avaliação mais detalhada das diferenças entre indivíduos inoculados e não inoculados os resultados das ACPs para cada tempo de avaliação e região do dossel são ilustrados na Figura 4. Estas ACPs tiveram como objetivo representar a variabilidade da reflectância no VIS, NIR e SWIR, reduzindo a dimensionalidade dos dados através de variáveis sintéticas (Componentes Principais – CPs) obtidas por combinação linear das variáveis originais (i.e., reflectância em diferentes comprimentos de onda). Para melhor visualização na Figura 4, apenas as duas CPs resultando na maior separação entre grupos de indivíduos inoculados e não inoculados são apresentadas em cada caso.

As plantas do tempo 0 não foram inoculadas, apenas separadas entre grupo das plantas que seriam ou não inoculadas posteriormente. As ACPs do t0, para o terço basal (Figura 4a), médio (Figura 4b) e apical (Figura 4c) mostram uma distância consideravelmente pequena entre os grupos. Assume-se neste caso que a separação média observada entre as classes era esperada, resultado de variabilidade intrínseca do material vegetal, sem influência de colonização por agente fitopatogênico.

Após 12 horas, a ACP correspondendo ao terço médio mostrou uma maior distância entre os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas (Figura 4e), em comparação as outras regiões, assim como ilustrado na Figura 3a. A resposta espectral para o terço basal (Figura 4d) e do ápice (Figura 4f) neste tempo revelaram uma menor distinção entre os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas. Também é interessante observar que o menor grau de confusão/mistura de amostras de diferentes grupos ocorreu para a região média, em contraste com as outras regiões neste tempo.

Já 24 h, apesar de maior distância euclidiana ter ocorrido para a região média, um melhor agrupamento de amostras de indivíduos inoculados e não inoculados foi observado para a região basal. Isto pode estar relacionado ao fato de o ângulo espectral ter sido maior para esta região neste tempo, em comparação com as outras regiões, indicando uma maior distinção entre grupos em termos do formato do espectro de reflectância, e menos relacionado a intensidade de reflectância. Já a ACP do terço apical apresenta valores muito próximos entre os grupos neste tempo de avaliação (Figura 4i).

Após 48 horas, a maior distância entre os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas ocorreu na ACP correspondendo ao terço médio (Figura 4k), assim como já observado na Figura 3a. A CP1 (57,7%) e CP2 (31,9%), CPs que melhor separaram os grupos neste caso, juntas somam 89.6% da variância explicada. Em contraste, as ACPs para o terço apical e basal indicaram menor dissimilaridade entre os grupos (Fig. 4j, l).

Em 72 horas a ACP do terço apical também segregou de maneira considerável o comportamento espectral das plantas inoculadas das não inoculadas (Figura 4o). O ângulo espectral entre indivíduos dos diferentes grupos neste caso foi também maior para a região apical em comparação as demais regiões, o que provavelmente influenciou o relativo bom desempenho das medições de reflectância quanto a segregação de plantas afetadas pelo patógeno.

Já 30 dias após a inoculação (Figura 4p, q, r) as distâncias entre os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas verificadas na ACP do terço apical e base indicaram maior similaridade entre as classes, como indicado também na Figura 3a.

Por fim, 40 dias, a região apical foi selecionada pela distância euclidiana e ângulo espectral como melhor região do dossel para diferenciação de plantas inoculadas e não inoculadas (Figura 4u). Entretanto, apesar do terço basal (Figura 4s) e médio (Figura 4t) apresentarem menor distância entre os grupos, a distinção entre indivíduos inoculados e não inoculados é relativamente clara para estas partes do dossel, especialmente para a região basal.

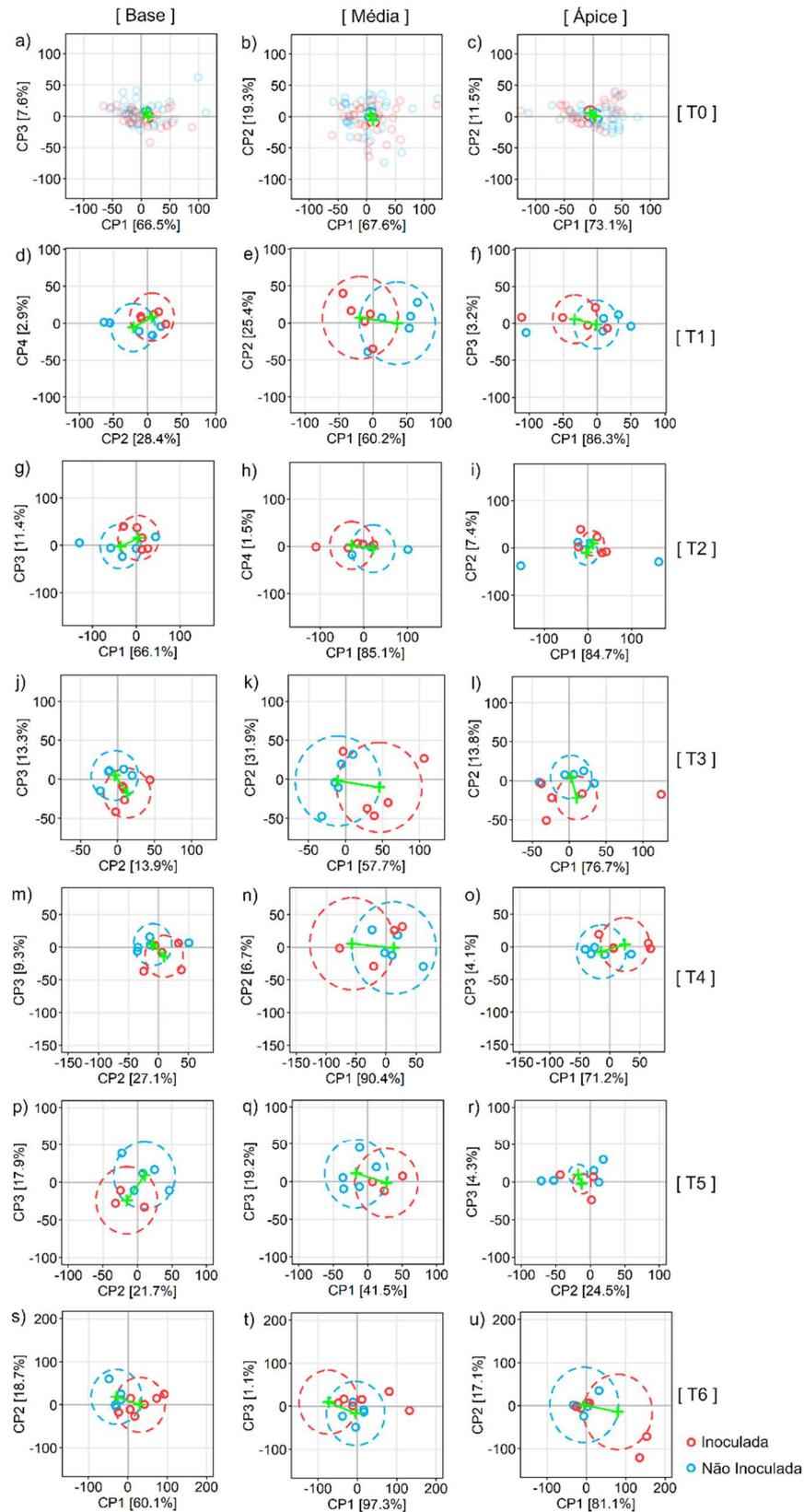


Figura 4. Análise de componentes principais (ACP) aplicada aos valores de refletância dos comprimentos de onda de 400 à 2500 nm para plantas inoculadas e não inoculadas. As ACPs foram aplicadas para o terço apical, médio e basal das plantas avaliadas 0 (a,b, c), 12 (d, e, f), 24 (g, h, i), 48 (j, k, l) e 72 (m, n, o) horas após inoculação, assim como 30 (p, q, r) e 40 dias após inoculação (s, t,u) com *Ceratocystis*

fimbriata. Os dois círculos (vermelho e azul) em cada figura representam a distância entre grupos com origem (ponto verde) nas coordenadas médias para indivíduos inoculados (vermelho) e não inoculados (azul).

Outra informação importante para a interpretação dos dados das ACPs ilustradas na Figura 4 é a contribuição por comprimento de onda para cada componente principal, representada na Figura 5. Esta contribuição de todos os comprimentos de onda soma-se 100.0% da variabilidade representada através de cada CP (indicada em porcentagem para as duas componentes que proporcionaram a melhor separação entre grupos nos eixos dos gráficos na Figura 4). O valor máximo de contribuição observado considerando todos os casos foi de cerca de 3,7%, entretanto a legenda foi reduzida para representar valores até 97,5% do intervalo original (0,4% como contribuição máxima), a fim de aumentar o contraste e melhorar a visualização de padrões. A contribuição média esperada, se todos os comprimentos de onda contribuíssem de maneira igual, é de 0,048. Desta forma, valores acima da média foram considerados como particularmente importantes na representação da variação por determinada CP.

De forma geral, as regiões com maior contribuição para cada CP foram relativamente específicas e os padrões observados repetiram-se ao longo do tempo. Considerando o terço médio (Figura 5b), as componentes com maior contribuição para diferenciação dos indivíduos inoculados e não inoculados (primeira CP representada em cada tempo na Figura 5, eixo-x nos gráficos da Figura 4) foram bastante influenciadas por reflectância no infravermelho de ondas curtas (SWIR), a partir de 1400 nm. Em contrapartida, a segunda CP que mais separou os grupos (segunda CP representada em cada tempo na Figura 5, eixo-y nos gráficos da Figura 4) foi influenciada por bandas na região do visível e limiar do vermelho (VIS e red-edge; entre 400 e 750nm) e/ou infravermelho próximo (NIR, entre 750 e 1000 nm).

De forma mais detalhada para a região média, a qual em geral permitiu melhor separação de indivíduos inoculados e não inoculados, em relação as demais regiões, na ACP, 12 hai (Figura 4e), as plantas inoculadas tenderam mais para valores negativos da CP1 e positivos da CP2, componentes que melhor separaram os grupos. Nestas componentes as regiões do espectro que mais contribuíram (acima do esperado – 0,048%, Figura 5b) foram o SWIR (1899 à 1917nm e 2491 à 2500 nm) para a CP1 e o Vis (497 à 656 nm), *red-edge* (690 à 707 nm) e NIR (734 à 1372 nm) para a CP2, indicando que uma variação no espectro como um todo, mas

especialmente no SWIR e NIR, contribuiu na representação (CPs) que melhor descreveu a separação entre grupos. Já 24 hai, mas nesse caso para a região basal, as regiões do espectro com maior contribuição para as CPs (Figura 5c) foram o SWIR (1326 à 1655 nm; 1732 à 2159 nm e 2200 à 2500 nm) assim como VIS e red-edge (diferentes intervalos entre 400 e 750 nm). Após 48 horas, para a região média (Figura 5b), novamente o SWIR (1945 à 2209 nm; 2252 à 2477 nm e 2482 à 2491 nm) e VIS (410 à 498 nm e 611 à 701 nm) contribuíram mais para as CPs que melhor separaram amostras inoculadas de não inoculadas. De forma similar a 12 hai, em 24 hai o SWIR (de 1360 à 1391 nm, 1512 à 1563 nm, 1771 à 1799 nm, 1800 à 1868 e 2047 à 2430 nm) contribuiu mais para CP1 e o Vis e NIR em geral para a CP2 (Figura 5b). Já 30 dai, para a região média do dossel, o SWIR (1337 e 1786 nm, 1866 e 1997 nm, 2004 à 2020 nm e 2059 e 2500 nm) ainda foi a região que mais contribuiu para a CP1 enquanto o VIS (especialmente entre 409-489 nm assim como 650-663 nm e 714-740 nm) para o CP2. Finalmente, 40 dai, mas nesse caso considerando a região apical (Figura 5a) como sendo a que descreveu a maior separação entre grupos, comprimentos de onda no SWIR (1376-1905 nm e 1944- 2119 nm) para a CP1 e VIS (613-692 nm e 703 nm) para a CP2, foram o que mais contribuíram para a representação da variabilidade expressa pelas CPs.

Padrões similares aos observados para o terço médio ocorreram também para o terço basal do dossel. Mas nesse caso, reflectância na região do NIR foi em geral mais importante, com contribuição relevante nos tempos 24 hai, 72 hai e 30 dai. Apesar disto, a reflectância no SWIR foi a que em geral contribuiu de forma intensa para as componentes que resultaram em maior separação entre grupos. É interessante observar que tanto para a região média (Figura 5b) quanto para a basal (Figura 5c) os comprimentos de onda no visível contribuíram de forma bastante intensa para a representação da variabilidade total em pelo menos uma das CPs. Para o terço apical os padrões de contribuição foram variáveis (Figura 5a), mas ainda houve destaque para comprimentos de onda no SWIR e VIS, com eventual contribuição do NIR, principalmente 24 e 48 hai.

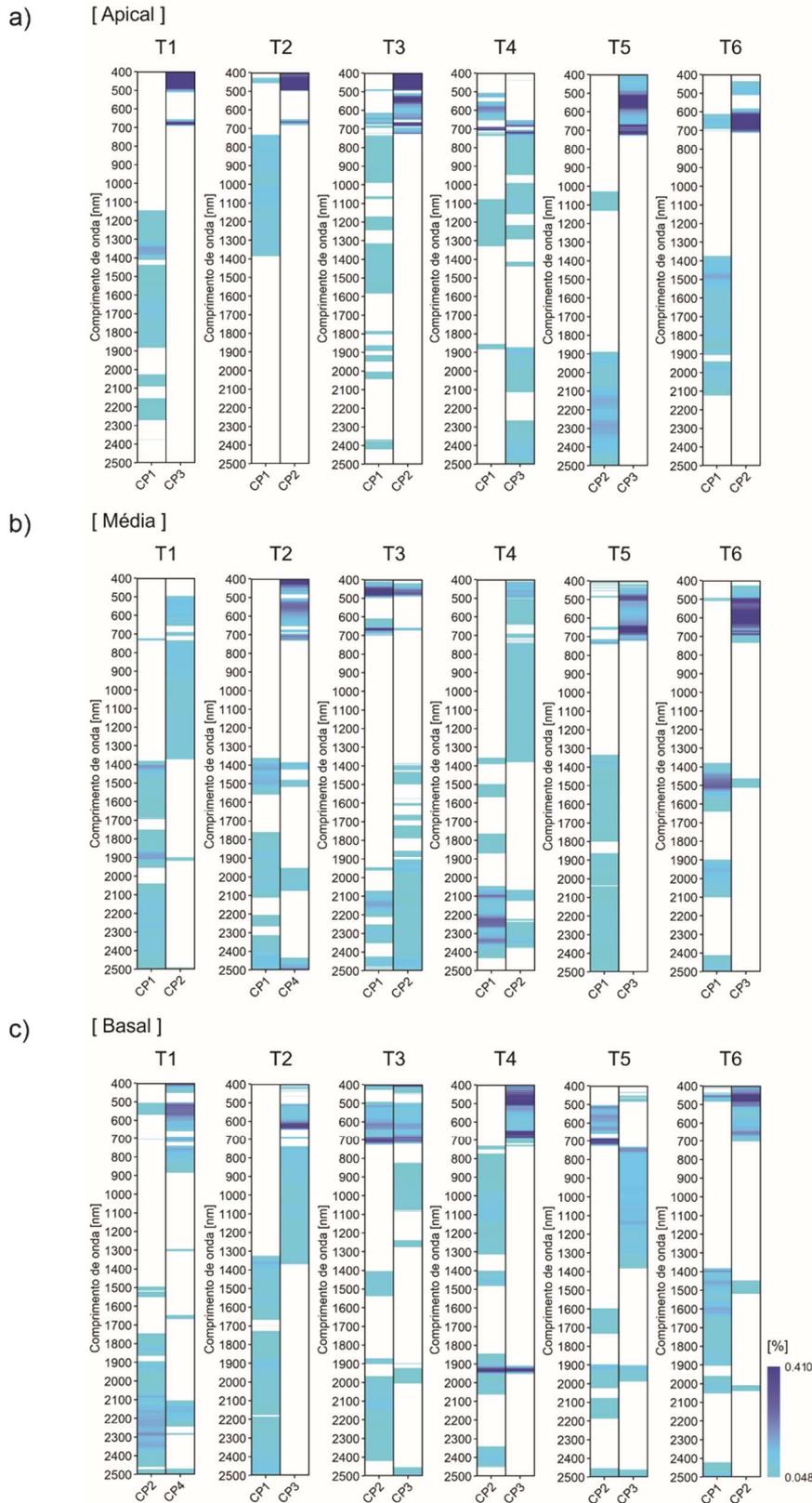


Figura 5. Mapa de cores representando a contribuição de cada comprimento de onda para uma determinada Componente Principal (CP). As bandas espectrais com coloração do azul claro ao azul escuro são bandas que contribuíram na representação da variação dos dados em porcentagem acima de 0,048%, o esperado se todas as bandas contribuíssem da mesma forma. As informações correspondem a ACPs para as diferentes regiões da planta: apical (a), média (b) e basal (c).

Outro aspecto importante para interpretação dos resultados das ACPs ilustradas na Figura 4 é a correlação entre a refletância em cada comprimento de onda as coordenadas nas CPs (Figura 6). Quando considerados em conjunto com a informação de contribuição por comprimento de onda, apresentada na Figura 5, estes dados permitem a identificação de regiões espectrais com alta contribuição e correlação com determinado CP, que assim influenciaram de maneira acentuada a variação descrita pelas componentes.

Para a região média do dossel, altas correlações foram observadas principalmente para comprimento de onda do SWIR (a partir de 1400 nm), em geral indicando maior refletância nessa região do espectro para indivíduos não inoculados 12, 24 e 48 hai (primeira CP representada para cada tempo na Figura 6, eixo-x nos gráficos da Figura 4). Na PC2, para o terço médio e 12 hai é observado na região do VIS bandas espectrais entre 502 e 528 nm com correlação positiva acima de 80%. Já na região do NIR foi observado valores de correlação negativa acima de 80% nos comprimentos de onda entre 756 e 1145 nm. É interessante observar que apesar de mais fraca a correlação com o NIR na primeira componente 12 hai também foi positiva e acompanhou a tendência observada para o SWIR, indicando que a primeira CP também representou a variação observada no NIR, apesar desta variação ser provavelmente menor, o que explica a não seleção desta região do espectro como particularmente relevante para representação da variabilidade descrita nesta componente (Figura 5b, t1). Após 24, é observado na PC1 comprimentos de onda na região do SIWR (1350 a 1599nm) com correlação positiva acima de 90% e acima de 99% nos comprimentos de onda 1537 a 1623 nm e 1740 a 1861 nm. Após 48 horas, a PC1 do terço médio, apresentou correlação positiva entre 80 e 90% na região do VIS de 403 a 503 nm enquanto de 654 a 673 nm os valores de correlação foram ainda maiores, acima de 90%. Na região do NIR os comprimentos de onda entre 744 e 751 nm apresentaram correlação positiva entre 80 e 90% e correlação de 70 a 80% no comprimento de onda entre 752 e 1271 nm (Figura 5b).

O terço médio, 72 hai, apresentou correlação positiva de até 59% na região do NIR (736 a 1141 nm) e uma correlação negativa de até 65% na região do VIS (515 à 607 nm e 703 à 719 nm) (Figura 6b). Aos 30 dai, a região apical também proporcionou boa separação entre grupos. Neste caso, a CP1 teve correlação positiva de até 83% na região do VIS, entre os comprimentos de onda 514 a 521 nm, 575 à 635 nm e 691 à 703 nm. Na mesma componente também foi observada uma

correlação negativa acima de 90% para os comprimentos de onda de 740 a 1889 nm e 2020 à 2375 nm (SWIR). Notavelmente, o padrão de correlação observado para o SWIR nos períodos 12, 24 e 72 hai foi invertido para os tempos 48 hai, 30 e 40 dai, em geral indicando menor reflectância para indivíduos não inoculados nesta região do espectro.

Aos 30, para a CP1 da região média foi observada uma correlação negativa em todos os comprimentos de onda, e, considerando a posição dos indivíduos inoculados nesta componente, a reflectância destas amostras foi em geral menor do que para os indivíduos não inoculados. As regiões do NIR e SWIR apresentaram correlações acima de 90% entre os comprimentos de onda 1385 a 1406 nm e 1581 a 1875 nm. Uma tendência inversa ocorreu para o VIS e red-edge (entre 400 e 750 nm), com correlação negativa forte para vários períodos de avaliação (12, 24 e 72 hai), indicando maior reflectância nessa região para amostras inoculadas em comparação a amostras não inoculadas. Em contraste, uma menor reflectância para amostras inoculadas no VIS foi observada 48 hai, 30 e 60 dai. Os comprimentos de onda do NIR de forma geral foram menos correlacionados com as coordenadas das CPs que resultaram na maior separação entre grupos, entretanto correlação relativamente forte (negativa ou positiva) eventualmente ocorreu para comprimentos de onda nessa região do espectro, como para o período 12 hai, 72 hai, e 40 hai.

Os padrões de correlação observados para a região basal foram similares aos obtidos para a região média do dossel. Em geral, correlação forte negativa ocorreu com comprimentos de onda no SWIR, em particular para 12 hai, 24 hai, 72 hai e 40 dai. Considerando que a posição dos grupos ficou invertida na CP com maior separação entre grupos para esta região do dossel (eixo-x na Figura 4d, g, j, m, p, s) em comparação a região média (i.e., amostras inoculadas tendendo mais para valores positivos), uma correlação negativa indicou maior reflectância no SWIR para amostras não inoculadas, assim como observado em geral para a região média.

No terço basal, após 48 horas, apesar de menor distância entre os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas, em comparação a região média, na PC1 os comprimentos de onda entre 1350 e 2500 nm tiveram correlação negativa acima de 90% com as coordenadas da CP. Comprimentos de onda no Vis também tiveram correlação relativamente forte com os CPs sendo que também contribuíram de forma considerável para representação da variabilidade descrita por essas CPs (Figura 5c) Comprimentos de onda no NIR novamente apresentaram correlações menos

acentuadas com as coordenadas das componentes, com exceção dos tempos 48 hai, 72 hai e 30 dai.

A correlação entre reflectância e coordenadas das CPs obtida para a região apical (Figura 6a) foi até certo ponto comparável a observada para o terço médio. De forma geral uma correlação forte foi observada no NIR e SWIR (acima de 750 nm), entre 12 e 72 hai, da mesma forma 40 dai. A reflectância na região do visível foi fortemente correlacionada as CPs para a região apical, de 12 horas à 40 dias em pelo menos um dos componentes em cada tempo. Enquanto para o tempo 12 hai, 72 hai, 30 e 40 dai, a maior reflectância foi observada para amostras inoculadas. As 24 hai, de forma geral, maior reflectância ocorreu para plantas inoculadas até cerca de 500 nm, assim como menor reflectância entre 500 e 650 nm. Após 48 horas, contrário do observado em geral nos demais tempos, o comportamento espectral observado para indivíduos inoculados foi caracterizado por menor reflectância no Vis.

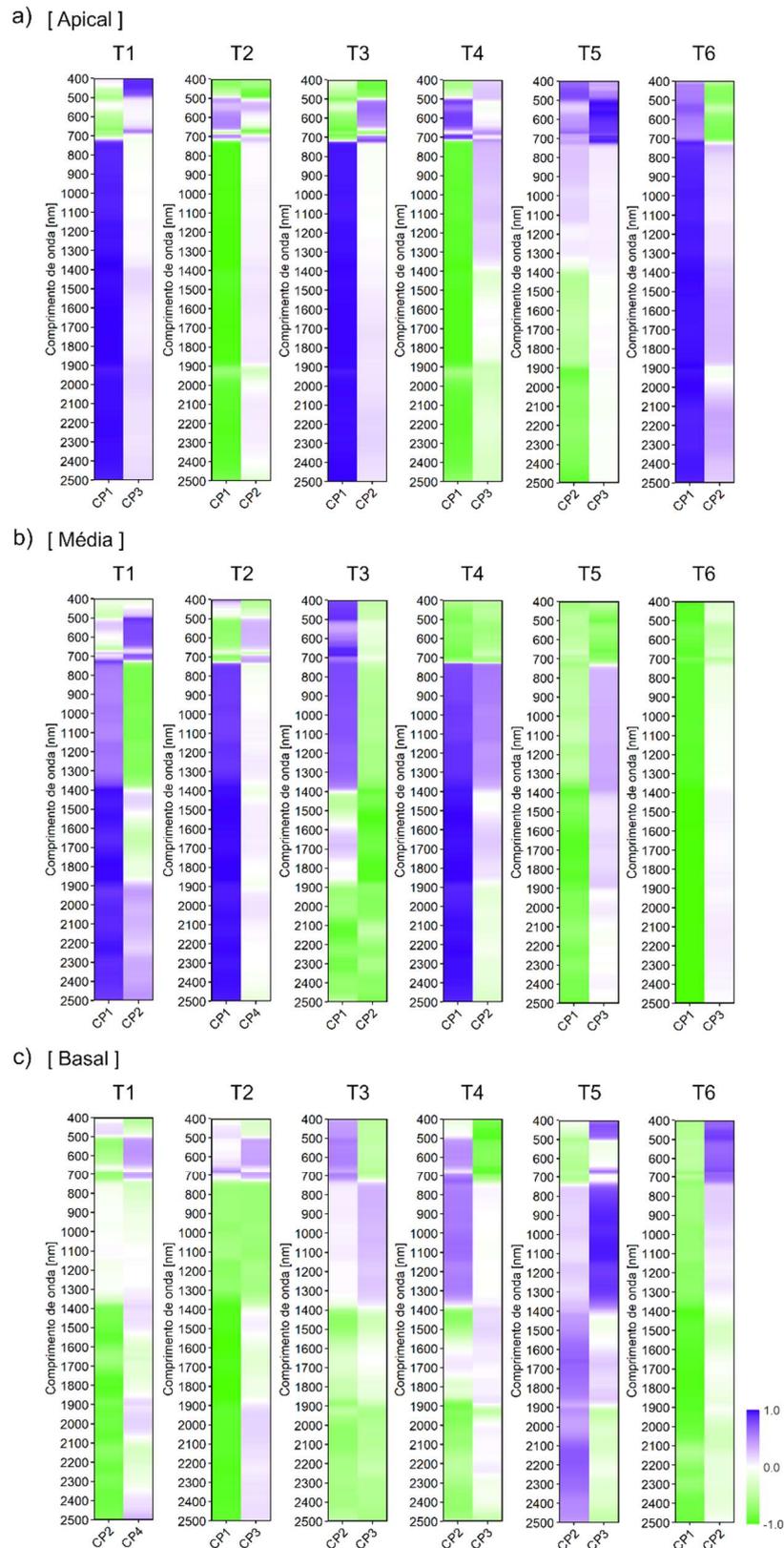


Figura 6. Mapa de cores representando intensidade de correlação entre a reflectância de plantas inoculadas e não inoculada com as coordenadas nas duas Componentes Principais (CPs) resultando na maior diferenciação entre estes grupos de indivíduos. As regiões verde e roxo indicam correlação positiva e negativa, respectivamente, em cada CP. As regiões em branco apresentam correlação próxima a zero. Abreviatura: T1 (12 hai), T2 (24 hai), T3 (48

hai), T4 (72 hai), T5 (30 dai) e T6 (40 dai). As informações correspondem a ACPs para as diferentes regiões da planta: apical (a), média (b) e basal (c).

3.3 Índices de vegetação

Os índices espectrais de vegetação (IVs) utilizados neste estudo não foram originalmente desenvolvidos especificamente para detecção de doenças. Desta forma, foram escolhidos índices que possibilitassem associar as alterações fisiológicas e bioquímicas de forma indireta nas folhas, em resposta ao estresse ocorrido diretamente no caule. Os valores obtidos mostram que mesmo nas folhas é possível observar diferenças entre indivíduos não inoculados e inoculados, desde a fase inicial da infecção pelo patógeno até o surgimento de sintomas visuais nas folhas. Desta forma podemos inferir que estes IVs de características não específicas com relação a detecção do patógeno estudado foram sensíveis quanto a mudanças fisiológicas e bioquímicas na folha em decorrência da infecção.

Em quase todos os períodos de avaliação (12 hai, 24 hai, 48 hai, 72 hai e 40 dai) houve IVs estatisticamente significativos para discriminar indivíduos inoculados e não inoculados. Apenas 30 dai não foram observados índices com valores de significância menores que 5% de probabilidade. Além disso, a capacidade de discriminação entre classes variou conforme a posição de coleta das amostras foliares (Tabela 2).

Tabela 2. Relação dos índices de vegetação que apresentaram valores significativos para separar indivíduos não inoculados (NI) e inoculados (I) calculados para cada terço da planta.

Índices de Vegetação	Apical			Médio			Basal		
	NI	I	<i>p-value</i>	NI	I	<i>p-value</i>	NI	I	<i>p-value</i>
Tempo 1									
PSSRa	9.68018 (0.6903)	9.17714 (0.5827)	0.167	10.7162 (0.32902)	9.8749 (0.49675)	0.034	10.25872 (0.34338)	10.04562 (0.49676)	0.934
PSSRb	8.44221 (1.36321)	7.87332 (1.14372)	0.39	11.54861 (0.20524)	10.65105 (0.36807)	0.026	11.24286 (0.69501)	10.89696 (0.73831)	0.489
PSND1	0.81231 (0.01227)	0.80332 (0.0112)	0.175	0.82906 (0.00486)	0.81541 (0.0059)	0.034	0.82228 (0.00534)	0.81884 (0.00839)	0.927
PSND2	0.78791 (0.0349)	0.77356 (0.03022)	0.418	0.84056 (0.00287)	0.8281 (0.0059)	0.029	0.83633 (0.0096)	0.83077 (0.00978)	0.487
MCARI1	0.85715 (0.10291)	0.80193 (0.05073)	0.574	0.80748 (0.01754)	0.77494 (0.01665)	0.029	0.7989 (0.0286)	0.77439 (0.03182)	0.826
hNDVI	0.82569 (0.01666)	0.80791 (0.01239)	0.229	0.84232 (0.00248)	0.82818 (0.00859)	0.007	0.83424 (0.0038)	0.82987 (0.00925)	0.598
Tempo 2									
SIPI	1.11473 (0.22354)	1.15219 (0.14642)	0.788	0.86976 (0.04907)	0.96488 (0.03948)	0.198	0.88936 (0.02617)	0.92726 (0.01145)	0.048
RVSI	-0.04154 (0.01043)	-0.03988 (0.00483)	0.665	-0.05826 (0.00489)	-0.0494 (0.00254)	0.041	-0.05627 (0.00101)	-0.05235 (0.00235)	0.058
PSRI	-0.01019 (0.008)	-0.00947 (0.0062)	0.742	0.006 (0.00259)	-0.00161 (0.00071)	0.006	0.0048 (0.00334)	0.00717 (0.00178)	0.387
NRI	0.50769 (0.0743)	0.53993 (0.03437)	0.327	0.35878 (0.04949)	0.44922 (0.03751)	0.048	0.35809 (0.03452)	0.40613 (0.01888)	0.166
Tempo 3									
PSRI	-0.01509 (0.00202)	-0.00489 (0.00393)	0.002	-0.00273 (0.00192)	0.00505 (0.00342)	0.001	0.00489 (0.00512)	0.00664 (0.00381)	0.3
MCARI	0.5857 (0.06617)	0.45231 (0.1222)	0.037	0.26571 (0.05706)	0.23493 (0.03898)	0.788	0.23808 (0.03068)	0.29818 (0.09086)	0.089

NRI	0.55543 (0.01704)	0.50684 (0.03723)	0.022	0.42044 (0.03404)	0.35812 (0.03093)	0.12	0.35982 (0.03054)	0.36833 (0.04647)	0.551
NDLI	0.03496 (0.00039)	0.03664 (0.00192)	0.264	0.0348 (0.00101)	0.03934 (0.00039)	0.031	0.03591 (0.00171)	0.03519 (0.00386)	0.759
NDNI	0.13487 (0.00393)	0.13309 (0.00849)	0.821	0.12994 (0.00151)	0.14013 (0.00588)	0.006	0.13286 (0.00356)	0.135 (0.01345)	0.502
WBI1450	2.63204 (0.08855)	2.6753 (0.18159)	0.97	2.2633 (0.03276)	2.38269 (0.05794)	0.027	2.26016 (0.05541)	2.23161 (0.06199)	0.913
hNDVI	0.8139 (0.00396)	0.79711 (0.01916)	0.606	0.83252 (0.00162)	0.8209 (0.00716)	0.011	0.8326 (0.00833)	0.80555 (0.01045)	0.002
LWVI-2	0.0291 (0.00157)	0.03054 (0.00206)	0.79	0.02378 (0.00117)	0.02568 (0.00185)	0.035	0.02403 (0.00175)	0.02384 (0.00295)	0.706
PSSRa	9.51438 (0.23925)	8.55939 (0.93811)	0.49	10.26739 (0.17421)	9.41946 (0.41793)	0.002	10.07948 (0.41758)	8.69009 (0.48416)	0.001
PSND1	0.80971 (0.00432)	0.78942 (0.01933)	0.375	0.8223 (0.00241)	0.80799 (0.00758)	0.003	0.81928 (0.00702)	0.79321 (0.01007)	0.001
NDVI	0.79502 (0.00527)	0.77137 (0.02129)	0.34	0.8088 (0.00245)	0.79402 (0.00803)	0.001	0.80408 (0.00532)	0.77814 (0.00914)	0.001
CRI1	7.00513 (0.14019)	6.73093 (1.06934)	0.917	8.88499 (0.14573)	8.20393 (0.2396)	0.062	9.43902 (0.76681)	7.95597 (0.1106)	0.016
RVSI	-0.03691 (0.00143)	-0.04139 (0.00517)	0.251	-0.0526 (0.00057)	-0.05537 (0.00122)	0.296	-0.05517 (0.00409)	-0.05013 (0.00164)	0.016
DSWI	0.68488 (0.01353)	0.73459 (0.07958)	0.213	0.80071 (0.01789)	0.8294 (0.00983)	0.478	0.83594 (0.02562)	0.76877 (0.02514)	0.004
PSSRb	7.54245 (0.20506)	7.48585 (1.08865)	0.754	10.53533 (0.07833)	10.06636 (0.55239)	0.127	10.81555 (0.8137)	9.17687 (0.39446)	0.003
PSND2	0.76504 (0.00494)	0.76394 (0.02734)	0.754	0.82523 (0.00156)	0.81905 (0.00966)	0.146	0.83047 (0.0119)	0.80312 (0.00778)	0.003
CARI	0.14133 (0.00926)	0.12413 (0.01973)	0.097	0.0885 (0.01091)	0.08717 (0.00975)	0.958	0.08404 (0.00555)	0.10315 (0.02277)	0.048
WABI	0.12129 (0.04236)	0.16537 (0.06099)	0.602	0.36553 (0.02654)	0.37578 (0.03382)	0.954	0.40898 (0.02023)	0.35521 (0.05043)	0.036

Tempo 4									
NDLI	0.03486 (0.00226)	0.0365 (0.00037)	0.047	0.03835 (0.00298)	0.03885 (0.00139)	0.497	0.03712 (0.00202)	0.03846 (0.00116)	0.572
NDWI	0.03209 (0.00128)	0.03523 (0.00166)	0.014	0.02452 (0.00054)	0.02536 (0.00236)	0.602	0.02529 (0.00154)	0.02466 (0.00014)	0.197
WBI970	1.01953 (0.00055)	1.02367 (0.00115)	0.014	1.01621 (0.0001)	1.01709 (0.00122)	0.347	1.01666 (0.00169)	1.01778 (0.00155)	0.723
WBI1180	1.06788 (0.00375)	1.07512 (0.00282)	0.003	1.05387 (0.00138)	1.0572 (0.00387)	0.602	1.05466 (0.00436)	1.05532 (0.00029)	0.602
WBI1450	2.5687 (0.07155)	2.77364 (0.14131)	0.003	2.358 (0.09452)	2.47804 (0.14723)	0.097	2.34946 (0.00302)	2.45844 (0.17765)	0.047
LWVI-2	0.02792 (0.0009)	0.03179 (0.00141)	0.005	0.02539 (0.00199)	0.02599 (0.00241)	0.149	0.02497 (0.00054)	0.02559 (0.00208)	0.629
SRWI	1.06636 (0.00298)	1.07304 (0.00357)	0.014	1.05028 (0.00113)	1.05205 (0.00494)	0.602	1.0519 (0.00325)	1.05059 (0.0003)	0.199
MSI	0.70333 (0.00991)	0.68019 (0.00864)	0.003	0.73076 (0.00717)	0.71797 (0.01649)	0.209	0.73368 (0.00552)	0.73177 (0.01311)	0.907
CRI1	6.79457 (0.26641)	6.52502 (0.98024)	0.602	8.4773 (0.04726)	7.97456 (0.98803)	0.326	8.29543 (0.16049)	7.93844 (0.51268)	0.044
PRI	0.03567 (0.00163)	0.03043 (0.00842)	0.187	0.05482 (0.00779)	0.04527 (0.00823)	0.175	0.05572 (0.00156)	0.04501 (0.00255)	0.001
RVSI	-0.04247 (0.00243)	-0.03901 (0.00653)	0.274	-0.0563 (0.00374)	-0.04933 (0.0101)	0.294	-0.05706 (0.00204)	-0.05187 (0.00201)	0.001
DSWI	0.69223 (0.01759)	0.69381 (0.05029)	0.874	0.82591 (0.06115)	0.76434 (0.11821)	0.387	0.83389 (0.00351)	0.79411 (0.03434)	0.016
SIPI	1.06705 (0.05049)	1.16619 (0.13391)	0.113	0.9083 (0.01752)	0.97526 (0.11775)	0.275	0.88923 (0.01741)	0.95187 (0.02867)	0.004
PSSRb	7.52466 (0.30036)	7.34432 (1.17009)	0.308	10.30153 (0.57275)	9.06179 (1.9416)	0.373	10.1147 (0.1939)	9.50078 (0.70901)	0.095
PSND2	0.76533 (0.00842)	0.75927 (0.03804)	0.266	0.8226 (0.00906)	0.79978 (0.0335)	0.317	0.81993 (0.00218)	0.80921 (0.01309)	0.016

CARI	0.12874 (0.00297)	0.13682 (0.01284)	0.195	0.08473 (0.01192)	0.11034 (0.03128)	0.244	0.08185 (0.00108)	0.1059 (0.01087)	0.007
MCARI	0.45775 (0.05675)	0.50632 (0.06219)	0.25	0.23355 (0.05643)	0.35043 (0.13613)	0.229	0.22157 (0.01143)	0.32684 (0.03672)	0.007
WABI	0.16382 (0.0118)	0.12086 (0.08343)	0.102	0.37882 (0.01783)	0.27244 (0.15747)	0.236	0.39125 (0.02774)	0.33201 (0.02968)	0.018
NRI	0.50136 (0.01885)	0.50233 (0.01005)	0.79	0.36862 (0.04294)	0.43722 (0.08462)	0.368	0.35349 (0.02245)	0.38806 (0.01783)	0.028
Tempo 6									
NDNI	0.1457 (0.008)	0.13336 (0.01506)	0.028	0.13103 (0.00124)	0.13041 (0.0074)	0.685	0.13188 (0.00295)	0.12893 (0.00697)	0.256
WBI970	1.0278 (0.00354)	1.02176 (0.00529)	0.018	1.01548 (0.00109)	1.01229 (0.00387)	0.194	1.0129 (0.0022)	1.00989 (0.00306)	0.47
WBI1180	1.08822 (0.00957)	1.07226 (0.0138)	0.028	1.0509 (0.00196)	1.04299 (0.0094)	0.174	1.04149 (0.00429)	1.03463 (0.0047)	0.364
DSWI	0.76441 (0.0789)	0.65259 (0.03517)	0.014	0.67844 (0.02357)	0.65886 (0.10859)	0.482	0.70991 (0.09196)	0.71803 (0.04007)	0.331
MSI	0.64252 (0.02283)	0.66698 (0.02711)	0.042	0.73663 (0.00196)	0.73973 (0.02452)	0.57	0.7569 (0.00661)	0.76498 (0.00837)	0.185
NRI	0.51364 (0.00734)	0.54438 (0.02537)	0.042	0.4604 (0.025)	0.41848 (0.08011)	0.115	0.45042 (0.04644)	0.40552 (0.05219)	0.161
CAI	-0.30311 (0.09841)	-0.52311 (0.24327)	0.291	-0.41606 (0.06527)	-0.54903 (0.23159)	0.142	-0.42754 (0.13733)	-0.80701 (0.23502)	0.003
MCARI1	0.77917 (0.04631)	0.78115 (0.02754)	0.808	0.80766 (0.03221)	0.7759 (0.05947)	0.308	0.8305 (0.035)	0.767 (0.03953)	0.009
DWSI-5	1.73125 (0.07873)	1.74025 (0.10811)	0.935	1.52952 (0.03845)	1.47595 (0.01735)	0.016	0.70991 (0.05042)	1.41798 (0.05622)	0.074

Valores de mediana e intervalo interquartil de plantas não inoculadas (NI) e inoculadas (I), separadas por terço da planta. Os valores destacados em negrito são significativos (p -value <0,05) na separação de indivíduos não inoculados e inoculados. No t5 o p-valor para todos os índices foram maiores que 0.05.

No t1 foi possível observar que os índices calculados com os espectros das folhas do terço médio, relacionados ao conteúdo de clorofila-a, clorofila-b e carotenóides (PSSRa, PSSRb, PSND1, PSNd2 e MCARI1) apresentaram valores significativos ($p < 0,05$) na separação de indivíduos inoculados e não inoculados. Essa separação foi verificada para o índice hNDVI, utilizado para monitorar estresse, de forma geral, em plantas (Figura 7a). No t2 o índice PSRI para reflectância das folhas do terço médio apresentou maior valor de significância, seguido dos índices RVSI e NRI. O índice SIPI resultou em melhor potencial de diferenciação entre grupos para as folhas do terço basal neste tempo (Figura 7b).

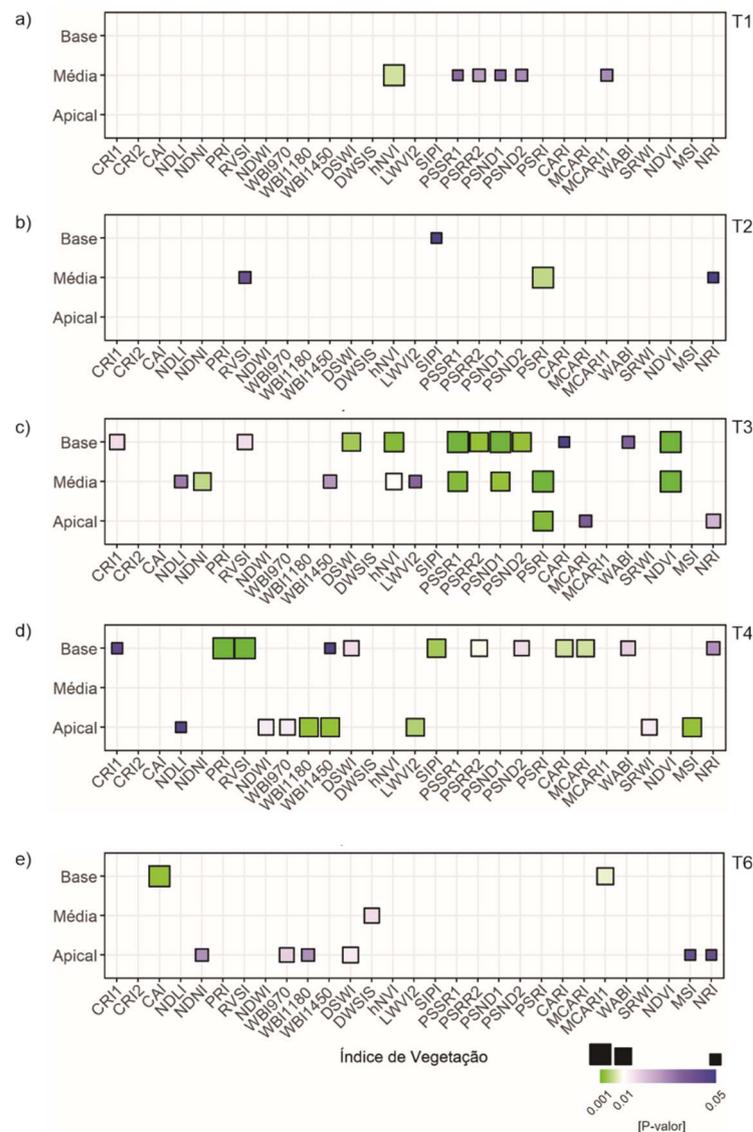


Figura 7. Índices preditivos favoráveis a discriminação de indivíduos inoculados e não inoculados, aplicados para cada região do dossel. (a) t1; (b) t2; (c) t3; (d) t4; (e) t6. Os valores de significância (p -valor $< 0,05$) foram obtidos por teste de Tukey, para

variáveis explicativas de distribuição normal e pelo método de Benjamini & Hochberg, em caso de distribuição não normal.

As 48 hai, foi observado o maior número de IVs com potencial para separar espectros de indivíduos inoculados e não inoculados. Dos 28 índices aplicados, 18 mostraram diferenças significativas entre os tratamentos. Essas diferenças foram melhor representadas pelas folhas do terço médio e basal. Esse aumento expressivo de índices pode estar relacionado com várias alterações no metabolismo primário das plantas inoculadas decorrentes da infecção pelo patógeno. Os índices CRI1, RVSI, PSSRa, PSSRb, PSND1, PSND2, PSRI; assim como CARI e MCARI relacionados ao aparato fotossintético da planta apresentaram diferenças espectrais significativas para as folhas do terço médio e basal. Os índices NDLI, NDNI, hNDVI, NDVI, WBI1450 e LWVI2 também apresentaram valores significativos para as folhas do terço médio, assim como os índices DWSI e WABI para as folhas do terço basal (Figura 7c).

Para as folhas do terço basal 72 hai, foram observadas diferenças significativas entre os índices CRI, PRI, RVSI, DSWI, SIPI, PSSRb, PSND2, CARI, MCARI, WABI e NRI. Os índices NDLI, NDWI, WBI1180, WBI1450, LWVI2, SRWI e MSI também apresentaram diferenças significativas para as folhas do terço apical (Figura 7d). Não houve diferença significativa entre os valores de indivíduos não inoculados e inoculados assintomáticos 30 dai.

Após o surgimento dos sintomas, a maioria dos índices que apresentaram valores significativos foram representados pelas folhas do terço apical. A variação na quantidade de biomassa/alteração na estrutura foliar e mudança no conteúdo de nitrogênio podem ser explicados pelos índices NRI e NDNI, os quais tiveram significância de 0.028 e 0.042, respectivamente. O sintoma visual relacionado a murcha foliar teve correlação direta com os índices WBI 970, WBI 1180, DWSI, DWSI-5 e MSI calculados para detectar estresse relacionado ao conteúdo de água nas folhas. Para o terço basal, os índices CAI e MCARI relacionados a absorção da energia incidente por celulose e ao conteúdo de carotenóides, foram significativos para diferenciar plantas inoculada e não inoculada (Figura 7e).

3.4 Análise de fluorescência da Chl a

Na análise de fluorescência da Chl-a foi observado diferenças significativas para os parâmetros Fv'/Fm', NPQ e ETR entre indivíduos NI e I aos 40 dai (Tabela 3). O parâmetro ETR, relacionado a taxa relativa de transporte de elétrons, foi reduzido a 17% e 20% em plantas inoculadas e medidas 12 hai e 72 hai, respectivamente. As plantas não inoculadas e inoculadas no t2 apresentaram diferenças significativas para o parâmetro Fv/Fm que mede o rendimento quântico máximo do fotossistema II (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros de fluorescência da clorofila a obtidos de folhas do terço médio de plantas não inoculadas (NI) e inoculadas (I) com *Ceratocystis fimbriata* as 12, 24, 48, 72 horas após a inoculação, 30 e 40 dias após a inoculação.

Parâmetros	12 hai		24 hai		48 hai		72 hai		30 dai		40 dai	
	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I	NI	I
Fv/Fm	0,75	0,76	0,78	0,76	0,78	0,77	0,77	0,77	0,76	0,76	0,72	0,74
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Fv'/Fm'	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,00	0,03	0,01
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
ETR	14,5	11,3	12,7	11,8	13,2	12,7	14,3	12,7	12,2	13,8	17,3	14,1
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
NPQ	1,64	2,99	0,94	1,10	1,93	1,41	1,27	0,93	2,34	1,15	0,80	1,73
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
NO	0,51	0,53	0,49	0,50	0,48	0,51	0,48	0,49	0,51	0,48	0,57	0,61
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
NO	0,05	0,04	0,02	0,02	0,05	0,02	0,03	0,02	0,05	0,02	0,02	0,02
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
NO	0,29	0,31	0,33	0,32	0,33	0,31	0,32	0,33	0,32	0,32	0,22	0,21
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
NO	0,06	0,02	0,01	0,03	0,08	0,02	0,04	0,01	0,07	0,02	0,01	0,02
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

Valores de média ± erro padrão de plantas NI e I em negrito são significativamente diferentes de acordo teste t de Student ($p < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

O avanço em estudos relacionados ao uso de métodos espectroscópicos aplicados ao monitoramento e detecção de doenças em clones de eucalipto se faz necessário, sendo promissor devido o potencial de análise não destrutiva dos métodos e a necessidade de detectar precocemente doenças em campo ou viveiro. Até onde pode-se apurar na literatura, este é o primeiro estudo quanto a avaliação da incidência da murcha de ceratocystis em eucalipto utilizando técnicas de espectroscopia.

Apesar do patógeno colonizar vasos condutores na planta, foi possível verificar indiretamente alterações fisiológicas e bioquímicas a nível foliar através da reflectância em diferentes comprimentos de onda no Vis-NIR-SWIR. Isto provavelmente se deve à relação mútua estabelecida entre o mecanismo primário da

planta e a infecção pelo patógeno (BERGER; SINHA; ROITSCH, 2007). As folhas localizadas em diferentes terços de uma mesma planta também apresentaram diferenças nas respostas espectrais. Esta diferença da resposta espectral pode estar relacionada ao local de inoculação do patógeno e o estágio de infecção em que as plantas se encontram. Nas primeiras horas de avaliação, as folhas do terço basal e médio das plantas apresentaram maior separação entre os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas. Após o aparecimento dos sintomas, o terço apical apresentou melhores valores na separação do grupo de plantas doentes e saudáveis.

Os componentes principais obtidos na ACP para os dados referentes a cada terço da planta e que resultaram na maior distância e menor similaridade entre os grupos de indivíduos inoculadas e não inoculadas em cada caso, foram melhor investigados em análises posteriores.

Doze horas após a inoculação, o terço médio apresentou menor similaridade entre os grupos. Foi observado na CP1 uma correlação positiva forte no SWIR (a partir de 1400 nm, Figura 6b) acompanhado de contribuição efetiva de comprimentos de onda nessa parte do espectro na representação da variabilidade para esta CP (Figura 5 b). Da mesma forma, correlação positiva relativamente forte ocorreu para comprimentos de onda no NIR e correlação negativa no VIS para a CP1, apesar de não terem sido as regiões que mais contribuíram para descrição da variabilidade nesse CP (Figura 5 b). Considerando a posição dos indivíduos dos grupos na componente (Figura 4b) é possível afirmar que plantas inoculadas tiveram menor refletância no NIR e SWIR e maior no VIS. Conclusões similares podem ser tiradas com base nos padrões de correlação representados na CP2 para o mesmo tempo e região da planta (24 h e média, respectivamente). Neste caso foi observado uma combinação de correlação forte positiva no VIS (497 à 707 nm) e negativa no NIR (734 à 1372 nm), mas a posição dos grupos na CP está invertida, com relação a apresentada na CP1, indicando novamente menor refletância no NIR e maior no VIS para plantas inoculadas. Os índices de vegetação que apresentaram valores significativos para discriminar os grupos neste tempo são IV aplicados para prever estresse da vegetação, estimar a concentração de pigmentos fotossintéticos e carotenoides. Esses índices utilizam poucos comprimentos de onda nas regiões do visível e infravermelho próximo entre 550 e 800 nm. Na região do NIR (aproximadamente entre 756 a 1145 nm), a correlação foi acima de 60% na CP1 e acima de 80% na CP2. Valores baixos de refletância revelam uma menor dispersão

da energia incidente nesta região devido a alterações na estrutura foliar ou aumento na absorção por compostos bioquímicos como celulose, lignina, carboidratos, proteínas e amido (BEC et al., 2020).

Estudos relatam que a infecção por patógenos biotróficos desencadeia mudanças rápidas que resultam no declínio da fotossíntese, aumento da respiração e fotorrespiração (BERGER et al., 2007). Às 12 hai, os parâmetros F_v'/F_m' e ETR apresentaram menores valores para o grupo de plantas inoculadas. No entanto, o parâmetro de Rendimento quântico máximo (F_v/F_m) não diminuiu estatisticamente, indicando que esse estresse não foi suficiente para ocorrer uma fotoinibição. Estes resultados também foram observados em clones de eucalipto inoculados com *C. fimbriata* no estudo citado e segundo os autores o desempenho fotossintético foi prejudicado pela redução na taxa de transporte de elétrons nas membranas dos tilacóides, limitando a absorção de CO_2 pelos estômatos (DA SILVA et al., 2018). Estas alterações no aparato fotossintético de plantas infectadas foram consistentes em outros estudos, revelando que durante o início do processo infeccioso ocorre uma diminuição da taxa fotossintética em folhas próximo ao local de infecção pelo patógeno (BERGER; SINHA; ROITSCH, 2007; SINGH; SHARMA; SINGH, 2020; ZOU et al., 2007). Firmino et al. (2015) investigaram a colonização por *Ceratocystis* sp. em vasos do xilema e observaram que isolados do fungo provenientes de vários hospedeiros (atemóia, cacau, eucalipto, manga e teca.) são capazes de germinar, penetrar e se desenvolver nos vasos condutores de plantas de eucalipto 6 horas após a inoculação.

As 12 e 24 hai, a ACP para o terço médio mostrou maior distância entre os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas. Na região espectral do VIS e red-edge os valores da CP1 e CP4 apresentam correlação negativa e positiva, respectivamente, com a refletância nesses comprimentos de onda. As plantas inoculadas tenderam mais para valores negativos na PC1 e positivos na CP4, indicando que a refletância para este grupo foi em geral maior nestes comprimentos de onda em comparação a indivíduos não inoculados. O índice RVSI, utilizado para prever estresse da vegetação, tem na sua equação comprimentos de onda na região da borda do vermelho (714, 733 e 752 nm) e apresentou valores mais baixos para plantas não inoculadas comparada as plantas inoculadas. Os espectros de reflectância de plantas inoculadas neste caso, apresentaram valores superiores na borda do vermelho indicando uma resposta de estresse aparente. Este comportamento também foi

observado em videiras inoculadas com *Grapevine leafroll - associated vírus 3* (NAIDU et al., 2009). O índice PSRI também foi útil na separação dos grupos de plantas inoculadas e não inoculadas. Os valores para o grupo de plantas não inoculadas foram positivos e o grupo das plantas não inoculadas foi negativo. O aumento da reflectância entre 550 e 740 nm é um indicativo de degradação da clorofila induzida pela senescência ou degradação induzida por estresse enquanto ocorre baixa reflectância entre os comprimentos de onda 400 e 500 nm relacionado a conservação de carotenóides (MERZLYAK et al., 1999). A manutenção dos carotenoides em plantas sob condição de estresse tem como objetivo aliviar o maior estresse oxidativo devido ao comprometimento do sistema fotossintético (BISWAL, 1995). Na análise de fluorescência, observou uma redução do parâmetro Fv/Fm, indicando uma redução da fotossíntese nesse período de avaliação. Do mesmo modo, valores do parâmetro NPQ foram maiores para o grupo de plantas inoculadas.

Esse aumento também é observado em folhas que não foram danificadas e pode indicar o aumento do fluxo de elétrons não aproveitado no processo fotossintético, o que é compensado pelo mecanismo de proteção (BERGER et al., 2007). Em estudos com objetivo de descrever os efeitos na fotossíntese causados pela infecção por patógenos, foi observado uma regulação da fotossíntese mediada pelo rendimento quântico efetivo do PS II (BERGER et al., 2007). A regulação da fotossíntese contribui de forma indireta para a defesa da planta. A partir dessa regulação, há formação de glicose e energia, utilizados no metabolismo secundário. Apenas a fluorescência da Chl-a não é suficiente para fazer inferências seguras, sendo necessário combinar outros parâmetros, como trocas gasosas e imagens térmicas (ROLFE; SCHOLLES, 2010). O índice NRI desenvolvido para estimar o teor de nitrogênio no dossel de plantas também obteve bom desempenho na segregação de folhas de plantas inoculadas e não inoculadas a partir de informação espectral para o terço médio, 24 hai. O nitrogênio é um importante composto influenciado pela interação planta-patógeno, responsável na planta pela regulação do crescimento e outros aspectos fisiológicos (WANG et al., 2019). O índice NRI foi selecionado como um dos principais índices em outros estudos, devido sua sensibilidade na detecção de doença em eucalipto (LIAO et al., 2022). Em clones de eucalipto infectados por *C. fimbriata* foi verificado um aumento da base nitrogenada uracila, possivelmente relacionados a expressão de genes envolvidos na produção de compostos

bioquímicos estruturais envolvidos no mecanismo de defesa da planta (DA SILVA et al., 2018).

A PC1 do terço médio e 48 hai, revela correlações positivas fortes com refletância entre 403 e 503 nm e 654 a 690 nm, regiões específicas de absorção de clorofilas e antocianinas, respectivamente. Do mesmo modo, houve correlação positiva acima de 90% em comprimentos de onda próximos ao *red-edge*, relacionado a absorção por clorofila (GITELSON; CHIVKUNOVA; MERZLYAK, 2009). Na região do SWIR também é possível observar altas correlações em determinados comprimentos de ondas. Essa região é considerada de alta espalhamento da energia incidente ou alta absorção em intervalos específicos por proteína, celulose e lignina (WANG et al., 2018). O aumento de índices que apresentaram valores significativos durante os resultados obtidos 48 hai apontaram uma mudança fisiológica no metabolismo das plantas infectadas pelo patógeno. Isso pode estar relacionado ao tempo de resposta do clone suscetível quanto a ativação de genes envolvidos no mecanismo de defesa da planta (DA SILVA et al., 2018). Estas alterações podem estar relacionadas a reorganização do metabolismo primário para modular o mecanismo de defesa ou alterações moduladas pelo patógeno para poder promover sua infecção, replicação e disseminação (COPLEY et al., 2017). Além dos índices voltados para quantificar pigmentos fotossintéticos, conteúdo de nitrogênio e estresse da vegetação, o índice PSRI relacionado a proporção de carotenóides e clorofila foram significativos. No entanto, foram observados valores negativos para as plantas não inoculadas e positivo para as inoculadas. O aumento da reflectância entre 550 e 740 nm pode ser indicativo de degradação de clorofila a e b. Os índices relacionados ao conteúdo de água nas folhas do dossel, representados pelas folhas do terço médio e da base neste estudo também foram significativos. Esta diferença entre folhas de plantas não inoculadas e inoculadas assintomáticas pode ser explicada pela alteração no processo de respiração e redução da transpiração, mediante o fechamento dos estômatos das folhas, modulado pela presença do patógeno no interior dos vasos condutores de seiva (DA SILVA et al., 2018).

As correlações entre os comprimentos de onda e resultados da ACP, 72 hai, ocorreram em maior intensidade em comparação os demais tempos de avaliação do período assintomático. Neste tempo foi observado fortes correlações na PC1 para as regiões do VIS, NIR e SWIR. Em função da infecção causada pelo fungo, o mecanismo secundário da planta é modulado e conseqüentemente o mecanismo

primário é afetado. Essas alterações fisiológicas e bioquímicas são inferidas indiretamente pela análise espectral devido a variação no comportamento espectral entre indivíduo inoculado e não inoculado. Os índices relacionados ao conteúdo de pigmentos envolvidos na fotossíntese, relacionados ao teor de nitrogênio, água e carotenóides mantiveram-se significativos 72 hai. Foi possível observar que as folhas do terço apical também modularam seu metabolismo. Os índices relacionados ao conteúdo de água foram particularmente representativos para esta região da planta. Em outros estudos, foi demonstrado que em clones de eucalipto suscetíveis inoculados com *C. fimbriata*, ocorre o fechamento parcial dos estômatos nas folhas para evitar a perda de água e reduzir a assimilação líquida de CO₂ nos cloroplastos (DA SILVA et al., 2018).

Aos 30 dai, a colonização pelo patógeno estava estabelecida e a maior correlação vista na PC1 foi na região do SWIR, relacionada ao conteúdo de água, nitrogênio, lignina, celulose e proteína. Essa faixa espectral está particularmente relacionada ao conteúdo de água e estrutura da folha. De acordo com a literatura, comprimentos de onda entre 1410 e 1620 nm apresentam maior variabilidade de acordo com espessura equivalente de água e massa foliar, contribuindo para estimativas do teor relativo de água na folha (JUNTTILA et al., 2022). No entanto, para certificar esse aspecto seriam necessárias análises bioquímicas e de caracterização morfológica complementares. De forma inesperada, os parâmetros da análise da fluorescência também não apresentaram valores significativos para diferenciar plantas inoculadas das não inoculadas neste período. Para o parâmetro Fv/Fm em todos os tempos de avaliação foi observado valores menores para as plantas inoculadas e aos 30 dias o rendimento quântico da PS II é o mesmo das plantas não inoculadas. Os parâmetros Fv'/Fm' e ETR também apresentaram valores menores para as plantas inoculadas em todos os tempos de avaliação, exceto aos 30 dai, em que os valores foram maiores para as plantas inoculadas. Não foram observadas aumento no parâmetro NPQ, indicando não haver uma redução da eficiência fotoquímica neste tempo avaliado. Diante o observado, neste momento da interação da planta com o patógeno pressupõe-se que esteja ocorrendo uma aceleração fisiológica e bioquímica na tentativa da planta de se recuperar.

Aos 40 dai, as folhas do terço apical e médio já apresentavam sintomas de murcha, típico de *C. fimbriata* (FERREIRA et al., 2006). Por meio das análises de fluorescência foi observado uma alteração significativa no parâmetro Fv'/Fm'. No

entanto, não é possível inferir que esteja ocorrendo uma redução da taxa fotossintética, uma vez que o parâmetro de rendimento quântico máximo não teve valores significativo para diferenciar os tratamentos. No parâmetro ETR houve uma redução significativa entre folhas de plantas inoculadas e de plantas não inoculadas. Foi observado para o parâmetro relacionado a etapa fotoquímica NPQ, valores mais altos para o grupo de plantas inoculadas sendo significativo quanto a separação das classes de planta sadias e doentes. Aumentos significativos do parâmetro NPQ em plantas sob estresse acentuado revela uma ineficiência fotoquímica (ROLFE; SCHOLLES, 2010) Na fase de senescência da planta ocorre alterações morfológicas importantes, como a desorganização da membrana dos tilacóides e degradação dos carotenóides, ocasionando dano ao PSI e PSII (BISWAL, 1995). Em trabalhos envolvendo esse patossistema, foi observado o mesmo comportamento aos 25 dai. Os autores chegaram à conclusão que este resultado estava relacionado com a menor assimilação de CO₂ devido a menor abertura dos estômatos em resposta ao estresse hídrico causado pelo patógeno (DA SILVA et al., 2018). Estas alterações eram previstas, uma vez que as folhas do ápice, na maioria dos indivíduos inoculados, apresentaram sintoma de murcha. Paralelo as respostas de fluorescência, os índices relacionados ao estresse hídrico e conteúdo de nitrogênio também foram significativos para folhas do ápice nesse tempo. Durante o processo infeccioso o nitrogênio está diretamente envolvido com a produção de osmólitos que modulam o sistema de sinalização celular e de combate ao estresse oxidativo (EJAZ et al., 2020). Os índices NDNI e NRI foram estatisticamente significativos para separar folhas de plantas inoculadas e não inoculadas. Foi observado em estudos com *C. fimbriata* que a concentração de nitrogênio em folhas de plantas infectadas tende a diminuir com o desenvolvimento dos sintomas observados na folha (BISWAL, 1995; DE et al., 2013; MERZLYAK; GITELSON, 1995)

Enfim, as análises espectrais realizadas nos diferentes tempos de avaliação associadas ao uso de índices espectrais e análises da fluorescência da Chl-a, permitiram diferenciar os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas desde as primeiras horas de infecção pelo patógeno, além de indicar a ocorrência de alterações fisiológicas durante os diferentes estágios da doença causada por *Ceratocystis fimbriata* em clones de eucalipto.

CONCLUSÕES

As respostas espectrais, de forma geral, do terço médio do dossel apresentaram melhores resultados para distinguir os grupos de plantas inoculadas e não inoculadas durante o período assintomático da doença. Da mesma forma, o terço apical após o aparecimento dos sintomas.

As faixas espectrais e comprimentos de ondas específicos foram capazes de diferenciar grupos de plantas inoculadas e não inoculadas em diferentes estágios de infecção pelo patógeno.

Os índices de vegetação correlacionaram bem com os comprimentos de onda que foram significativos e foram capazes de separar os grupos de plantas logo após as primeiras horas de avaliação, com exceção das plantas avaliadas 30 dai.

A fluorescência da Chl-a complementaram os resultados das análises espectrais e índices de vegetação. (SILVA et al., 2020)

REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e doenças do Eucalipto**. 2004.

ALFENAS, A. C. et al. **Clonagem e Doenças do Eucalipto**. 2.ed. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa,: [s.n.].

APAN, A. et al. **Formulation and assessment of narrow-band vegetation indices from EO1 Hyperion imagery for discriminating sugarcane disease**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/239929268_Formulation_and_assessment_of_narrow-band_vegetation_indices_from_EO1_Hyperion_imagery_for_discriminating_sugarcane_disease>. Acesso em: 21 jun. 2022.

APAN, A. et al. **Detecting sugarcane ‘orange rust’ disease using EO-1 Hyperion hyperspectral imagery**. <http://dx.doi.org/10.1080/01431160310001618031>, v. 25, n. 2, p. 489–498, 20 jan. 2010.

BEĆ, K. B. et al. **Principles and Applications of Vibrational Spectroscopic Imaging in Plant Science: A Review**. *Frontiers in Plant Science*, v. 11, p. 1226, 7 ago. 2020.

BERGER, S. et al. **Visualization of dynamics of plant–pathogen interaction by novel combination of chlorophyll fluorescence imaging and statistical analysis: differential effects of virulent and avirulent strains of *P. syringae* and of oxylipins on *A. thaliana***. *Journal of Experimental Botany*, v. 58, n. 4, p. 797–806, 1 mar. 2007.

BERGER, S.; SINHA, A. K.; ROITSCH, T. **Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions**. *Journal of Experimental Botany*, v. 58, n. 15–16, p. 4019–4026, 1 dez. 2007.

BISWAL, B. **Carotenoid catabolism during leaf senescence and its control by light**. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 30, n. 1, p. 3–13, 1 set. 1995.

BLACKBURN, G. A. **Spectral indices for estimating photosynthetic pigment concentrations: A test using senescent tree leaves**. *International Journal of Remote Sensing*, v. 19, n. 4, p. 657–675, 1998a.

BLACKBURN, G. A. **Quantifying Chlorophylls and Carotenoids at Leaf and Canopy Scales: An Evaluation of Some Hyperspectral Approaches**. *Remote Sensing of Environment*, v. 66, n. 3, p. 273–285, 1 dez. 1998b.

COPLEY, T. R. et al. **An integrated RNAseq-1H NMR metabolomics approach to understand soybean primary metabolism regulation in response to *Rhizoctonia foliar blight* disease**. *BMC Plant Biology*, v. 17, n. 1, p. 1–18, 27 abr. 2017.

COTROZZI, L. **Spectroscopic detection of forest diseases: a review (1970–2020)**. *Journal of Forestry Research*, n. 0123456789, 2021.

DA SILVA, A. C. et al. **Eucalypt plants are physiologically and metabolically affected by infection with *Ceratocystis fimbriata***. *Plant Physiology and*

Biochemistry, v. 123, n. September 2017, p. 170–179, 2018.

DANNER, M. et al. **Spectral Sampling with the ASD FIELDSPEC 4 EnMAP Field Guides Technical Report.** [s.d.].

DAUGHTRY, C. S. T. et al. **Estimating Corn Leaf Chlorophyll Concentration from Leaf and Canopy Reflectance.** Remote Sensing of Environment, v. 74, n. 2, p. 229–239, 1 nov. 2000.

DE, M. et al. **Increased carbon dioxide concentration in the air reduces the severity of Ceratocystis wilt in Eucalyptus clonal plantlets.** Australasian Plant Pathology, v. 42, n. 5, p. 595–599, 10 set. 2013.

EJAZ, S. et al. **Role of Osmolytes in the Mechanisms of Antioxidant Defense of Plants.** p. 95–117, 2020.

FAGUNDES-NACARATH, I. R. F.; DEBONA, D.; RODRIGUES, F. A. **Oxalic acid-mediated biochemical and physiological changes in the common bean-Sclerotinia sclerotiorum interaction.** Plant Physiology and Biochemistry, v. 129, p. 109–121, 1 ago. 2018.

FALLON, B. et al. **Spectral differentiation of oak wilt from foliar fungal disease and drought is correlated with physiological changes.** Tree Physiology, v. 40, n. 3, p. 377–390, 11 mar. 2020.

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

FERREIRA, F. A.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E. A. **Detecção rápida de Ceratocystis fimbriata em lenho infestado de eucalipto, mangueira e outros hospedeiros lenhosos.** Fitopatologia Brasileira, v. 30, n. 5, p. 543–545, 2005.

FERREIRA, M. A.; MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C. **Ralstonia solanacearum decreases volumetric growth of trees and yield of kraft cellulose of Eucalyptus spp.** Forest Pathology, v. 48, n. 1, fev. 2018.

FIRMINO, A. C. et al. **Colonização do xilema de eucalipto por Ceratocystis spp. isolado de diferentes hospedeiros.** Summa Phytopathologica, v. 41, n. 2, p. 138–143, 8 jul. 2015.

GALVÃO, L. S.; FORMAGGIO, A. R.; TISOT, D. A. **Discrimination of sugarcane varieties in Southeastern Brazil with EO-1 Hyperion data.** Remote Sensing of Environment, v. 94, n. 4, p. 523–534, 28 fev. 2005.

GAMON, J. A.; SERRANO, L.; SURFUS, J. S. **The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels.** jul. 1997.

GAO, B. C. **NDWI—A normalized difference water index for remote sensing of vegetation liquid water from space.** Remote Sensing of Environment, v. 58, n. 3, p. 257–266, 1 dez. 1996.

GITELSON, A. A. et al. **Assessing Carotenoid Content in Plant Leaves with Reflectance Spectroscopy.** Photochemistry and Photobiology, v. 75, n. 3, p. 272–

281, 1 mar. 2002.

GITELSON, A. A.; CHIVKUNOVA, O. B.; MERZLYAK, M. N. **Nondestructive estimation of anthocyanins and chlorophylls in anthocyanic leaves**. *American Journal of Botany*, v. 96, n. 10, p. 1861–1868, 1 out. 2009.

GOLD, K. M. et al. **Hyperspectral measurements enable pre-symptomatic detection and differentiation of contrasting physiological effects of late blight and early blight in potato**. *Remote Sensing*, v. 12, n. 2, 2020.

HABOUDANE, D. et al. **Hyperspectral vegetation indices and novel algorithms for predicting green LAI of crop canopies: Modeling and validation in the context of precision agriculture**. *Remote Sensing of Environment*, v. 90, n. 3, p. 337–352, 15 abr. 2004.

HARRINGTON, T. C.; THORPE, D. J.; ALFENAS, A. C. **Population Biology Genetic Variation and Variation in Aggressiveness to Native and Exotic Hosts Among Brazilian Populations of *Ceratocystis fimbriata***. v. 101, n. 5, p. 555, 2011.

IM, J.; JENSEN, J. R. **Hyperspectral Remote Sensing of Vegetation**. *Geography Compass*, v. 2, n. 6, p. 1943–1961, 1 nov. 2008.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Relatório Anual IBÁ - 2021**. Disponível em: <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorioiba2021-compactado.pdf>>. Acesso em: 31 ago. 2022.

JUNTTILA, S. et al. **Close-range hyperspectral spectroscopy reveals leaf water content dynamics**. *Remote Sensing of Environment*, v. 277, p. 113071, 1 ago. 2022.

KRUSE, F. A. et al. **The spectral image processing system (SIPS)—interactive visualization and analysis of imaging spectrometer data**. *Remote Sensing of Environment*, v. 44, n. 2–3, p. 145–163, 1 maio 1993.

KUMARI, N. et al. **Development of species-specific PCR based detection assay for *Ceratocystis fimbriata*, mango wilt pathogen**. *Indian Phytopathology* 2021 75:1, v. 75, n. 1, p. 215–220, 9 nov. 2021.

LIAO, K. ; et al. **Detection of Eucalyptus Leaf Disease with UAV Multispectral Imagery**. *Forests* 2022, Vol. 13, Page 1322, v. 13, n. 8, p. 1322, 18 ago. 2022.

MAFIA, R. G. et al. **Impact of *Ceratocystis* wilt on eucalyptus tree growth and cellulose pulp yield**. *Forest Pathology*, v. 43, n. 5, p. 379–385, out. 2013.

MAHLEIN, A.-K. et al. **Hyperspectral Sensors and Imaging Technologies in Phytopathology: State of the Art**. *Annual Review of Phytopathology*, v. 56, n. 1, p. 535–558, ago. 2018.

MEERDINK, S. K. et al. **Linking seasonal foliar traits to VSWIR-TIR spectroscopy across California ecosystems**. *Remote Sensing of Environment*, v. 186, p. 322–338, 1 dez. 2016.

MERTON, R. **Monitoring community hysteresis using spectral shift analysis and the red-edge vegetation stress index**. 1998.

- MERZLYAK, M. N. et al. **Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening**. *Physiologia Plantarum*, v. 106, n. 1, p. 135–141, 1 maio 1999.
- MERZLYAK, M. N.; GITELSON, A. **Why and What for the Leaves Are Yellow in Autumn? On the Interpretation of Optical Spectra of Senescing Leaves (*Acer platanoides* L.)**. *Journal of Plant Physiology*, v. 145, n. 3, p. 315–320, 1 fev. 1995.
- NAGLER, P. L. et al. **Cellulose absorption index (CAI) to quantify mixed soil-plant litter scenes**. *Remote Sensing of Environment*, v. 87, n. 2–3, p. 310–325, 15 out. 2003.
- NAIDU, R. A. et al. **The potential of spectral reflectance technique for the detection of Grapevine leafroll-associated virus-3 in two red-berried wine grape cultivars**. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 66, n. 1, p. 38–45, 1 abr. 2009.
- OERKE, E. C.; HERZOG, K.; TOEPFER, R. **Hyperspectral phenotyping of the reaction of grapevine genotypes to *Plasmopara viticola***. *Journal of Experimental Botany*, v. 67, n. 18, p. 5529–5543, 2016.
- OPPELT, N.; MAUSER, W. **Hyperspectral monitoring of physiological parameters of wheat during a vegetation period using AVIS data**. *International Journal of Remote Sensing*, v. 25, n. 1, p. 145–159, 10 jan. 2004.
- PAN, J. et al. **Detection of *Bursaphelenchus xylophilus* infection in *Pinus massoniana* from hyperspectral data**. *Nematology*, v. 16, n. 10, p. 1197–1207, 1 jan. 2014.
- PEHUELAS, J. et al. **Assessing Community Type, Plant Biomass, Pigment Composition, and Photosynthetic Efficiency of Aquatic Vegetation from Spectral Reflectance***. v. 46, p. 110–118, 1993.
- PENUELAS, J.; FREDERIC, B. **Crops plant counting based on image processing algorithm and machine learning methods** View project. 1995.
- RAPAPORT, T. et al. **Combining leaf physiology, hyperspectral imaging and partial least squares-regression (PLS-R) for grapevine water status assessment**. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, v. 109, p. 88–97, 1 nov. 2015.
- ROLFE, S. A.; SCHOLLES, J. D. **Chlorophyll fluorescence imaging of plant-pathogen interactions**. *Protoplasma*, v. 247, n. 3, p. 163–175, 3 dez. 2010.
- SERRANO, L.; PEÑUELAS, J.; USTIN, S. L. **Remote sensing of nitrogen and lignin in Mediterranean vegetation from AVIRIS data: Decomposing biochemical from structural signals**. *Remote Sensing of Environment*, v. 81, n. 2–3, p. 355–364, 1 ago. 2002.
- SERRAT DE SOUZA, G. et al. **EUCALIPTO NO BRASIL- Expansão geográfica e impactos ambientais SILVICULTURA E SIDERURGIA A CARVÃO VEGETAL: IMPLICAÇÕES NA ORGANIZAÇÃO TERRITORIAL NO VALE DO JEQUITINHONHA, MINAS GERAIS** View project *Silvicultura no Brasil: Políticas*

públicas, expansão e impactos socioambientais View project. 2021.

SILVA, A. C. et al. **Responses of resistant and susceptible hybrid clones of *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* to infection by *Ceratocystis fimbriata*.** *Annals of Forest Science*, v. 77, n. 2, p. 1–19, 1 jun. 2020.

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. **Estimation of vegetation water content and photosynthetic tissue area from spectral reflectance: a comparison of indices based on liquid water and chlorophyll absorption features.** *Remote Sensing of Environment*, v. 84, n. 4, p. 526–537, 10 abr. 2003.

SINGH, V.; SHARMA, N.; SINGH, S. **A review of imaging techniques for plant disease detection.** *Artificial Intelligence in Agriculture*, v. 4, p. 229–242, 1 jan. 2020.

VOGELMANN, J. E.; ROCK, B. N. **Assessing forest damage in high-elevation coniferous forests in Vermont and New Hampshire using thematic mapper data.** *Remote Sensing of Environment*, v. 24, n. 2, p. 227–246, 1 mar. 1988.

WANG, M. et al. **Plant Primary Metabolism Regulated by Nitrogen Contributes to Plant–Pathogen Interactions.** *Plant and Cell Physiology*, v. 60, n. 2, p. 329–342, 1 fev. 2019.

WANG, Z. et al. **Mapping forest canopy nitrogen content by inversion of coupled leaf-canopy radiative transfer models from airborne hyperspectral imagery.** *Agricultural and Forest Meteorology*, v. 253–254, p. 247–260, 1 maio 2018.

YADETA, K. A.; THOMMA, B. P. H. J. **The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens.** *Frontiers in Plant Science* Frontiers Research Foundation, , abr. 2013.

ZARCO-TEJADA, P. J.; RUEDA, C. A.; USTIN, S. L. **Water content estimation in vegetation with MODIS reflectance data and model inversion methods.** *Remote Sensing of Environment*, v. 85, n. 1, p. 109–124, 25 abr. 2003.

ZOU, J. et al. **Expression Profiling Soybean Response to *Pseudomonas syringae* Reveals New Defense-Related Genes and Rapid HR-Specific Downregulation of Photosynthesis.** <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-18-1161>, v. 18, n. 11, p. 1161–1174, 5 fev. 2007.