



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL

Catarina Oliveira Dourado Araújo

ADAPTABILIDADE FISIOLÓGICA DE ESPÉCIES DE
***LASIODIPLODIA* ASSOCIADOS À MORTE DESCENDENTE DA**
ACEROLEIRA

Petrolina-PE

2019

CATARINA OLIVEIRA DOURADO ARAÚJO

**ADAPTABILIDADE FISIOLÓGICA DE ESPÉCIES DE
LASIODIPLODIA ASSOCIADOS À MORTE DESCENDENTE DA
ACEROLEIRA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal do *Campus* de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Sandri Capucho
Co-orientador: Prof. Dr. Flávio de França Souza

Petrolina-PE

2019

L929b Araújo, Catarina Oliveira Dourado

Adaptabilidade fisiológica de espécies de *Lasiodiplodia* associadas à morte descendente da aceroleira / Catarina Oliveira Dourado Araújo – Petrolina, 2019

46 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina-PE, 2019.

Instituto de Ciência da Informação, 2002.

Orientadora: Prof. Dr. Alexandre Sandri Capucho

Referências.

1. Aceroleira. 2. *Lasiodiplodia* spp. 3. Epidemiologia. I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco

CDU: 027.7

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CAMPUS DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PRODUÇÃO VEGETAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

Catarina Oliveira Dourado Araújo

ADAPTABILIDADE FISIOLÓGICA DE ESPÉCIES DE *LASIODIPLODIA* ASSOCIADOS À
MORTE DESCENDENTE DA ACEROLEIRA

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Produção Vegetal, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovada em: ____ de _____ de _____.

Banca Examinadora

(Alexandre Sandri Capucho, D. Sc. UNIVASF/CCA)

(Francine Hiromi Ishikawa, D. Sc. UNIVASF/CCA)

(Patrícia Gonçalves Castro Cabral, D.Sc. UNEB/DTCS).

Aos meus pais, irmãos, sobrinhos, esposo
e amigos que sempre me motivaram a
nunca desistir dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por seu amor eterno e incondicional e por possibilitar todas as minhas conquistas. Aos meus pais Arleu Dourado e Iandê Moitinho por toda força, amor incondicional e motivação. Aos meus irmãos Rômulo, Cecília, aos meus sobrinhos por todo apoio, carinho e atenção. Ao meu esposo Leonardo Araújo por toda confiança e paciência. Aos meus avós (*in memoriam*) por todo amor, carinho e amparo. Aos meus amigos que sempre me motivaram a seguir em frente.

Aos Professores Alexandre Capucho e Francine Ishikawa pela orientação e apoio. Ao Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal do Vale do São Francisco, pelo apoio institucional e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia (FACEPE) pela concessão de bolsa de estudo.

Sinceros agradecimentos à equipe do Fitomelhor, especialmente a Leonardo e Gustavo pela grande contribuição e dedicação a este trabalho. Agradeço também aos demais integrantes Jéssica, Moara, Mayara, Luan, Álef, Pedro, Fábio, Andreia, Aline, Suellen.

A todos os funcionários da Univasf pela receptividade. Por fim, a todos que de alguma forma fizeram parte do desenvolver deste trabalho.

RESUMO

O cultivo de acerola no Submédio São Francisco destaca-se no cenário pela crescente expansão de áreas cultivadas, sendo hoje uma importante cultura na Região Nordeste. O Estado de Pernambuco lidera a produção brasileira, seguido pelos estados do Ceará, São Paulo e Bahia. A morte descendente é uma importante doença da aceroleira causada por fungos do gênero *Lasiodiplodia*. O sintoma mais evidente na morte descendente da aceroleira é a seca de ramos e canchros, com descoloração de tecidos vasculares. Dentre as mais de 30 espécies de *Lasiodiplodia* descritas, a *L. pseudotheobromae*, *L. iraniensis*, *L. gonubiensis*, *L. hormozganensis*, *L. euphorbicola*, *L. theobromae* e *L. brasiliense* foram relatadas pela primeira vez associadas à aceroleira em 2017. O fator estresse ambiental é de grande importância para o desencadeamento da morte descendente da aceroleira, sendo os principais fatores as condições de temperatura, salinidade de solos, estresse hídrico e uso de fungicidas. Com o objetivo de quantificar o papel de alguns desses componentes de adaptabilidade, este trabalho objetivou avaliar a sensibilidade das sete espécies de *Lasiodiplodia* que ocorrem na aceroleira ao fungicida tiofanato metílico, a temperatura e a sensibilidade osmótica. Para o fungicida, a DE₅₀ (Dose efetiva capaz de reduzir 50% o crescimento micelial do fungo) variou de 0,742 a 2,702 µg.mL⁻¹. Dentre as sete espécies estudadas, a *L. pseudotheobromae* e *L. iraniensis* apresentaram maior sensibilidade ao tiofanato metílico, seguidos de *L. brasiliense*, *L. gonubiensis*, *L. euphorbicola* e *L. hormozganensis*. *L. theobromae* apresentou menor sensibilidade a este princípio ativo. Em temperaturas extremas (10 e 40°C) as espécies de *Lasiodiplodia* não se desenvolveram. A faixa ótima média de temperatura para o crescimento micelial das espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleira foi 25,3°C. Para a espécie *L. brasiliense*, houve indicação de custos de adaptabilidade, avaliada pela maior sensibilidade osmótica. Essa espécie, moderadamente sensível ao tiofanato metílico, apresentou maior crescimento micelial em condições de alto estresse salino. As demais espécies não apresentaram custos de adaptação.

Palavras-chave: *Malpighia emarginata* DC., *fitness*, *Lasiodiplodia* spp., fungicida.

ABSTRACT

The cultivation of acerola in Submedia Mid São Francisco stands out in the scenario for the growing expansion of cultivated areas, being today an important crop in the Northeast. The state of Pernambuco leads the Brazilian production, followed by the states of Ceará, São Paulo and Bahia. Descending death is an important disease of the cherry tree caused by fungi of the genus *Lasiodiplodia*. The most evident symptom in the descendant death of the cherry tree is the dryness of branches and cankers, with discoloration of vascular tissues. Among the more than 30 *Lasiodiplodia* species described, *L. pseudotheobromae*, *L. iraniensis*, *L. gonubiensis*, *L. hormozganensis*, *L. euphorbicola*, *L. theobromae* and *L. brasiliense* were first reported to be associated with aceroleola in 2017. Environmental stress factor is of great importance for triggering the death of the acerola tree, being the main factors the temperature conditions, soil salinity, water stress and fungicide use. In order to quantify the role of some of these adaptability components, this work aimed to evaluate the sensitivity of the seven species of *Lasiodiplodia* that occur in aceroleola to the thiophanate methyl fungicide, the temperature and the osmotic sensitivity. For the fungicide, the DE_{50} (effective dose capable of reducing fungal mycelial growth by 50%) ranged from 0.742 to 2.702 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Among the seven species studied, *L. pseudotheobromae* and *L. iraniensis* showed higher sensitivity to methyl thiophanate, followed by *L. brasiliense*, *L. gonubiensis*, *L. euphorbicola* and *L. hormozganensis*. *L. theobromae* was less sensitive to this active ingredient. At extreme temperatures (10 and 40 ° C) *Lasiodiplodia* species did not develop. The average optimum temperature range for mycelial growth of *Lasiodiplodia* species isolated from cherry tree was 25.3 ° C. For the *L. brasiliense* species, there was an indication of adaptability costs, evaluated by the higher osmotic sensitivity. This species, moderately sensitive to methyl thiophanate, showed higher mycelial growth under conditions of high salt stress. The other species did not present adaptation costs.

Key-words: *Malpighia emarginata* DC., fitness, *Lasiodiplodia* spp., fungicide.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1 A cultura da aceroleira.....	11
2.2 Morte descendente da aceroleira.....	13
2.3 <i>Lasiodiplodia</i> spp.	15
2.4 Adaptabilidade fisiológica	18
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	
4. CAPÍTULO 1 - ADAPTABILIDADE FISIOLÓGICA E PATOGÊNICA DE	28
<i>LASIODIPLODIA</i> SPP. DA ACEROLEIRA EM UMA REGIÃO SEMIÁRIDA	
Resumo.....	28
4.1 Introdução.....	28
4.2 Material e Métodos.....	30
4.3 Resultados e Discussão.....	33
4.4 Conclusões.....	37
4.5 Referências.....	37
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a fruticultura é uma das atividades que mais geram renda e emprego. Com produção de 4,3 milhões de toneladas, também promove o desenvolvimento em regiões com perímetros irrigados, sobretudo no semiárido nordestino (AGRIANUAL, 2017). O Submédio do Vale do São Francisco é o mais importante centro de produção frutífero, apresentando vantagem competitiva em relação a outras regiões do país, como pela disponibilidade de recursos hídricos, mão-de-obra abundante, maior proximidade do mercado importador (europeu e norte-americano), ciclos produtivos precoces, produção no ano todo. Esses fatores garantem uma rentabilidade maior e estável (VITAL, 2011).

Dentre as culturas mais expressivas na fruticultura, a aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.) vem ganhando destaque. Esta frutífera apresenta uma fruta rica em compostos bioativos, antioxidantes e vitamina C, a qual pode ser consumida na forma de sucos e *in natura* (NOGUEIRA, 2019). Sabe-se que suas propriedades antioxidantes auxiliam na prevenção de doenças degenerativas, bem como o câncer e doenças vasculares, por apresentar elevados teores de flavonoides, fenóis e compostos bioativos (VANGDAL, 2017). Além disso, sua elevada concentração de vitamina C é usada pela indústria para a produção de cosméticos.

Dentre as doenças que podem interferir na produção da aceroleira, a morte descendente, causada por fungos *Botryosphaeriaceae*, causam os maiores danos em condições semiáridas. Os sintomas são caracterizados por seca de ramos, lesões necróticas e cancro nos tecidos vasculares (CROUS, 2017). A penetração do patógeno na planta ocorre meio de ferimentos, como os causados por poda ou os gerados pela abscisão foliar (ÚRBEZ-TORREZ, 2011). A doença é favorecida por condições de estresse, entretanto, as plantas infectadas podem sobreviver em condições assintomáticas por anos (CROUS, 2017). A relação de espécies fúngicas como estas às condições de estresse climático vem se tornando cada vez mais importante por estarem associadas às mudanças climáticas globais (ZLATICOVIC, 2016).

O fator estresse ambiental é de grande importância para o aumento da severidade da morte descendente em aceroleira. Em áreas com a presença da doença, podem ocorrer danos de 100% na produção, caso o estresse ambiental seja generalizado e duradouro (SLIPPERS, 2007). Nos últimos 15 anos, os modelos de mudança climática vem acentuando-se, prevendo extremas condições atípicas, como chuvas imprevisíveis, ou maiores chuvas em diferentes áreas, calor ou frio extremos, que juntamente com a

pressão biológica desses patógenos em expansão favorecem o desenvolvimento de doenças relacionadas a *Botryosphaeriaceae* (IPCC, 2019; DEZPREZ-LOUSTAU, 2006). A pressão biológica está intimamente ligada a interação de aptidão biológica dessas espécies que por sua vez respondem a flutuações físicas, como condições de temperatura, salinidade de solos, estresse hídrico e uso indiscriminado de fungicidas (MILGROOM, 2015).

Tais fatores tem impulsionado uma infinidade de adaptações dessas espécies que influenciam nos parâmetros de proliferação, o qual garante a sua sobrevivência em ambientes naturais (SLIPPERS, 2007). Portanto, é fundamental entender melhor o papel da patogenicidade, diversidade, interação patógeno-hospedeiro-ambiente e movimento mediado pelo homem para definir e abordar a ameaça que eles representam em tais condições (LAVÉLE, 2018).

A partir disso foi proposto estudar a adaptabilidade sete espécies de *Lasiodiplodia* que ocorrem em aceroleira.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da aceroleira

A acerola (*Malpighia emarginata* DC.) é uma fruta vermelha originária da América Central, conhecida por ser fonte de vitamina C, carotenoides e compostos fenólicos antioxidantes (REZENDE et al., 2018).

O curto período de vida pós-colheita limita a exportação dessa fruta *in natura*, devido a alta atividade respiratória e epiderme do fruto frágil, assim a acerola é mais utilizada em indústria, como a de processamento de alimentos, na forma de polpas, sucos, sorvetes e geleias (MARQUES, 2018) ou a de produção de cosméticos. O clima ideal para o desenvolvimento da acerola é caracterizado por uma temperatura média de 26°C e precipitação pluviométrica entre 1200 a 1600 mm. Uma melhor produtividade pode ser alcançada com o plantio de 625 plantas/ha, as quais rendem até 100 kg de frutas/planta/ano (MOURA, 2018). Por ser uma cultura versátil e acessível, o cultivo de acerola é uma alternativa interessante para pequenos e médios agricultores, além disso, a implantação dos pomares é relativamente simples e de baixo custo. A cultura pode produzir até oito safras ao longo do ano, o que garantem rende para esses agricultores (PETINARI, 2002).

A exportação de acerola vem ganhando destaque na fruticultura. O Brasil tem exportado 13.196 t/ano, sendo os principais destinos o Japão, China, Europa e Estados Unidos. Esse montante gera uma receita de U\$ 3,5 milhões. No mercado interno 19.794 t são consumidas anualmente, *in natura* ou processada (FAO, 2018; IBGE, 2018).

Esta importante cultura foi introduzida no Brasil na década de 50 na região Nordeste por pesquisadores da Universidade Federal Rural de Pernambuco que trouxeram as primeiras sementes de Porto Rico (MOURA, 2018).

O cultivo de acerola atingiu maior expressão econômica na década de 90, sendo hoje um dos maiores produtores do mundo, com produtividade média de 29 t.ha⁻¹.ano⁻¹ equivalente a 59,3 kg.planta⁻¹.ano⁻¹, sendo comercializada na forma *in natura*, polpa e suco (AGRIANUAL, 2010). O estado de Pernambuco é o maior produtor nacional, apresentando uma área total de 1.060,19 ha de acerola irrigada (CALGARO, 2012; DINC, 2018; VIEIRA, 2011). As principais variedades de acerola cultivadas no Brasil são a Flor Banca, Okinawa, Sertaneja, Junco e mais recentemente a Apodi, Cereja e Roxinha. No Submédio do Vale do São Francisco, a cultivar mais plantada é a Junco por apresentar frutos de alta resistência à compressão e teores de vitamina C que ultrapassam 2g/100g de fruto (RITZINGER, 2016).

Há mais de 50 anos, a acerola é conhecida no Brasil, no entanto, a comercialização vem sendo implantada com escasso conhecimento tecnológico, o que resulta em plantações heterogêneas (ASSIS, 2018). A variabilidade genética presente em pomares de acerola do Nordeste, com a consequente falta de uniformidade e baixa produtividade, motivou a seleção de genótipos com boas características agrônomicas e qualidade de frutos para uso como variedades comerciais em programas de melhoramento da aceroleira (Ritzinger et al., 2016). A uniformidade genética pode aumentar a vulnerabilidade das plantas ao ataque de patógenos, fato este que implica na carência de cultivares com resistência a doenças (RITZINGER, 2008).

A cultura da acerola está sujeita ao ataque de doenças que comprometem a produtividade das plantas. Dentre as principais doenças causadas na cultura, há um destaque para a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz. e *Colletotrichum dematium* Perz.), cercosporiose (*Cercospora bunchauae* Chup & Muller), mancha cinza (*Myrothecium roridum*), verrugose (*Sphaceloma* sp.), mancha de alga (*Cephaleurus virescens*), podridão mole dos frutos (*Rhizopus* sp.), morte descendente (*Lasiodiplodia*

spp.), *damping-off* (*Rizoctonia* sp.) e fusariose (*Fusarium solani*). Fungos do gênero *Alternaria*, *Aspergillus* e *Penicillium* também têm sido encontrados em acerola em pós-colheita. Das doenças causadas por nematoides destacam-se o nematoide-das-galhas, sendo as principais espécies: *Meloidogyne enterolobii*, *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (CALGARO, 2012; FREIRE, 1994)

Dentre estas doenças, nas condições semiáridas, a morte descendente causada por espécies de *Lasiodiplodia* Ellis & Evert configura-se como uma ameaça à cultura, principalmente pela severidade de seus sintomas que levam a planta à morte (LIMA, 2012; URBEZ-TÓRREZ, 2012).

2.2 Morte descendente da aceroleira

A morte descendente da aceroleira é causada por espécies de *Lasiodiplodia* spp., sendo a *Lasiodiplodia theobromae* (Pat) Griff. & Maubl a predominante (LIMA, 2012). Na região do Submédio do Vale do São Francisco, por meio de análises filogenéticas, Cabral (2017) constataram *L. theobromae* e *L. pseudotheobromae* como as espécies predominantes na cultura.

Em aceroleira, a morte descendente causa uma podridão seca, iniciada pela seca dos ramos a partir das extremidades que podem se disseminar até a raiz, podendo levar a planta à morte (LIMA, 2013). A formação de cancrios diretamente no caule e nos ramos são os principais sintomas da doença. Nesta situação, se formam rachaduras e lesões necróticas escurecidas atingindo o xilema secundário, causando inicialmente amarelecimento de suas folhas, posterior seca e queda de folhas e frutos (BATISTA, 2010; LIMA, 2013). A disseminação do patógeno ocorre principalmente por vento, chuva, água de irrigação e insetos. A penetração ocorre nas regiões de abscisão foliar e de frutos, além dos ferimentos realizados durante as podas (RODRÍGUEZ-GALVEZ, 2016; ÚRBEZ-TORREZ, 2010).

O diagnóstico a nível de espécie de agente causal da morte descendente é complexo e necessita de um conjunto de técnicas composta de observação dos sintomas vasculares externos em campo, técnicas de isolamento e moleculares, como as análises filogenéticas que se baseiam em cinco *locus* gênicos: SSU, ITS, LSU, $EF1-\alpha$ e β -tubulina (PHILLIPS, 2013; ÚRBEZ-TORREZ, 2011). Atualmente, o uso de marcadores

moleculares poderá permitir à caracterização *fingerprinting*, a detecção, o diagnóstico e o monitoramento da disseminação de específicos ecotipos de *Lasiodiplodia* spp. entre pomares e até entre regiões (LIMA, 2012). A detecção da presença de tipos patogênicos do fungo em propágulos assintomáticos poderá ser feito com absoluta segurança, usando esses marcadores por meio de uma PCR (CAVALCANTE, 2014; LIMA, 2012)

Para o manejo da morte descendente da aceroleira é necessário a adoção de um conjunto de práticas, como a poda de ramos doentes, pincelamento de ramos podados, utilização de variedades com resistência, além de pulverizações com fungicidas móveis (ÚRBEZ-TORREZ, 2011).

Na região do Submédio São Francisco o manejo químico está sendo amplamente utilizados em pomares de acerola. As formulações comerciais utilizadas se baseiam nos principais fungicidas utilizados para o controle de *Botryosphaeriaceae* em outras frutíferas. No Brasil, existem quatorze produtos comerciais registrados para o controle de *L. theobromae* em frutíferas, sendo dois produtos registrados para anonáceas, seis produtos registrados para o coqueiro, três produtos para o mamoeiro e três para a mangueira. Para a aceroleira existem produtos recomendados para o controle de *Alternaria* spp. (Boscalida e Boscalida + Cresoxim-Metílico), *Colletotrichum gloeosporioides* (Fluazinam + Tiofanato Metílico), *Cercospora* spp. (Boscalida) e *Corynespora cassiicola* (Boscalida) (AGROFIT, 2019).

Os produtos registrados para anonáceas são todos compostos por flutriafol (triazol), dentre os registrados para o coqueiro, cinco são compostos por difenoconazol (triazol) e um formado por tiabendazol (benzimidazol), os registrados para o mamão são dois flutriafol e um tiabendazol. Já os produtos registrados para a manga são todos constituídos por difenoconazol (triazol) (AGROFIT, 2019). Sendo assim, há necessidade de se conhecer a ação desses grupos químicos fungicidas no controle da morte descendente em outras culturas, como a aceroleira.

2.3 *Lasiodiplodia* spp.

O gênero *Lasiodiplodia*, um gênero comum na família *Botryosphaeriaceae*, tem sido relatada em mais de 500 hospedeiros (CRUYWAIGEN, 2017; PUNITHALINGAM, 1976). Por muitos anos, a *Lasiodiplodia theobromae* foi a única espécie descrita no gênero, entretanto, atualmente por meio de análises combinada de ITS e EF1- α foi possível separar algumas das 29 espécies atualmente reconhecidas neste gênero,

distinguindo-se principalmente nas diferenças de suas sequências de EF1- α : *L. theobromae*, *L. mahajangana*, *L. viticola*, *L. iraniensis*, *L. missouriana*, *L. gilanensis*, *L. plurivora*, *L. parva*, *L. citricola*, *L. egyptiaceae*, *L. pseudotheobromae*, *L. hormozganensis*, *L. margaritaceae*, *L. rubropurpurea*, *L. venezuelensis*, *L. crassispora*, *L. gonubiensis*, *L. lignicola*, *L. jatrophiicola*, *L. pontae*, *L. caatinguensis*, *L. exigua*, *L. brasiliense*, *L. mediterranea*, *L. macrospora*, *L. subglobosa*, *L. gravitrasta*, *L. venezuelensis*, *L. pyriformis* (NETTO, 2018; PHILLIPS, 2013)

A *Lasiodiplodia* apresenta micélio imerso ou ramificado, septado de coloração marrom escuro a preto (PHILLIPS, 2013). Alguns estudos sugerem que o desenvolvimento de espécies de *Lasiodiplodia* ocorre nas faixas de temperatura de 5° a 35°C, sendo que o crescimento ótimo oscila em torno de 25° a 30°C, temperaturas acima de 40°C inibem o crescimento do fungo (ÚRBEZ-TORREZ., 2010). A temperatura ótima para germinação de conídios varia de 30° a 35°C (KUTZMANN, 2009).

Na maioria das espécies de *Lasiodiplodia*, o conidioma picnidial estromático é produzido em acículas de *Pinus* sp. sob agar-água em duas a quatro semanas, sendo ele superficial, marrom escuro a negro com denso micélio uniloculado, de paredes espessas, não papilado e com ostíolo. As paráfises são hialinas, cilíndricas, septado quando maduro (1-6), raramente com células ramificadas, ocasionalmente basais. Conidióforos são ausentes. Células conidiogênicas são holoblásticas, discretas, hialinas, lisas e de paredes finas. Os conídios inicialmente são hialinos, asseptados, subgloboso a cilíndrico, com ambas as extremidades arredondadas. Quando maduros tornam-se marrom escuros, verruculoso, com estriações longitudinais, medindo em torno 29,5 μm x 14 μm . É comum produzirem pigmento de coloração rosa quando isolados são cultivados a 35°C (PHILLIPS, 2013).

L. theobromae foi descrita pela primeira vez em cacau (*Theobromae cacao* L.), e está amplamente distribuído em regiões tropicais e subtropicais, ocorrendo em uma gama muito ampla de hospedeiros, bem como em plantas lenhosas (PUNITHALINGAM, 1976). Os primeiros relatos de *L. iraniensis* foram realizados no Irã tendo por hospedeiros suscetíveis a mangueira e o juglans (*Juglans* spp.) (ABDOLLAHZADEH, 2010), posteriormente, ela foi relatada no Brasil em mangueira, cajueiro e videira na região do Submédio do Vale do São Francisco (CORREIA, 2016; NETTO, 2014; NETTO, 2018; MARQUES, 2013). A espécie *L. brasiliense* está comumente associada a gomose do cajueiro (NETTO, 2014). Filogeneticamente esta espécie é semelhante à *L. viticola*, entretendo seus conídios são mais oblongos e largos. Esta espécie também está

associada a podridões em mamoeiro e morte descendente da videira (NETTO, 2014; CORREIA, 2016). A *L. pseudotheobromae* é globalmente associada a uma ampla distribuição de hospedeiros incluindo *Acacia* spp., *Citrus* spp., *Coffea* spp. e *Rosa* spp. (ALVES, 2008; PHILLIPS, 2013 2008; ABDOLLAZADEH, 2010. No Brasil, esta espécie tem sido relatada em mangueira, mamoeiro e videira (MARQUES, 2013; MACHADO, 2014). Morfologicamente, *L. pseudotheobromae* assemelha-se à *L. theobromae*, entretanto diferem nas dimensões dos conídios, que são mais largos e elipsoides (ALVES, 2018). *L. gonubiensis* foi a primeira espécie do gênero a ser relatada em espécies de árvores nativas do Sul da África, bem como também relatada como fungo endofítico em *Syzigium cordatum* e *Anacardium* (PAVLIC, 2004; NETTO, 2018). A *L. euphorbicola* apresenta etimologia referente às *Euphorbiaceae* (PHILLIPS, 2013). Encontra-se amplamente distribuído no Espírito Santo, São Paulo e Minas Gerais e apresenta como hospedeiro o pinhão manso e cajueiro (*Jatropha curcas* L.) (MACHADO, 2014; NETTO, 2018). É filogeneticamente semelhante à *L. iraniensis* e *L. parva*, entretanto apresenta conídios maiores e paráfises mais curtas (MACHADO, 2014). Já *L. hormozganensis* está amplamente distribuído no Irã (ABDOLLAZADEH, 2010). No Brasil há relato de sua associação com a cultura da mangueira (MARQUES, 2013).

2.4 Adaptabilidade fisiológica

A competição entre espécies de patógenos por recursos limitados em hospedeiros podem ter um profundo efeito na sua evolução adaptativa, isso implica em uma melhor compreensão dos princípios de competição, a fim de ser útil em conceber novas estratégias de manejo de doenças de forma sustentável (ZHAN, 2013). A capacidade competitiva e aptidão relativa de uma espécie patogênica são determinadas pelas suas propriedades intrínsecas a resistência e heterogeneidade de uma população hospedeira correspondente, a uma densidade populacional, a um grau de parentesco dessas espécies e, por fim, ao ambiente (KOSKELLA, 2006).

O surgimento e disseminação de novas espécies de patógenos estão relacionadas com a capacidade de superarem as espécies pré-existentes, logo quando surge uma nova espécie mais competitiva há um deslocamento rápido à pré-existência de uma população em um processo chamado de pressão de seleção (YOUNG, 2018). A biologia de fungos fitopatogênicos pode complicar a medição dos componentes de aptidão e os critérios utilizados devem ter em conta as características ecológicas das

espécies consideradas (LAVELÉ, 2014). As características geralmente mensuradas são esporulação, germinação de esporos, crescimento de hifas e virulência (ZHAN, 2013).

Como exemplo, a resistência a fungicidas pode estar associado a um custo, como geralmente relatado para populações fúngicas submetido a pressão de seleção mediada por fungicida (MILGROOM, 2003). O uso frequente de um mesmo fungicida em determinada área, muitas vezes conduz ao aparecimento de espécies fúngicas com mecanismos de resistência, nos quais ocorrem mutações na conformidade proteica de vias metabólicas, conseqüentemente, reduzindo assim a sua ligação com a molécula de fungicida (FERNANDEZ-ORTUÑO, 2008). A caracterização do custo da resistência em isolados pode tornar possível prever a taxa de evolução de determinada população, fato essencial para estimar o risco de tais isolados resistentes constituírem um risco para o controle de doenças por fungicidas (LAVELÉ, 2014). A detecção do custo de adaptabilidade de uma espécie patogênica é de grande interesse em estratégias de rotação de fungicidas com modos de ação diferentes, uma vez que pode atrasar substancialmente a resistência de evolução entre duas aplicações (REX-CONSORTIUM, 2013).

Sabe-se que os fungicidas de ação específica agem inibindo diferentes vias biossintéticas dos patógenos, tais como síntese de ácidos nucléicos, mitose e divisão celular, respiração celular, síntese de aminoácidos e proteínas, transdução de sinal, síntese de lipídeos, biossíntese de esterol nas membranas, biossíntese de parede celular, síntese de melanina, etc. (FRAC, 2019 a).

Os fungicidas apresentam modos de ação altamente específicos e uma única mutação pontual podem gerar alelos de resistência (SANTOS, 2018). Entre produtos com atividade sistêmica, os fungicidas Metil-Benzimidazóis-Carbamatos (MBCs) são considerados de alto risco para o desenvolvimento de resistência pelos patógenos, como já verificado em 150 espécies de hospedeiros fúngicos (FRAC, 2019 b).

O alvo dos fungicidas MBCs é a subunidade β -tubulina da tubulina, proteínas compostas de duas subunidades (α e β -tubulina), cada uma com aproximadamente 55 kDa, com hélices alternadas formando os microtúbulos (CAVALCANTE, 2014) presente na constituição do citoesqueleto celular. Este são responsáveis pela separação dos cromossomos durante a divisão celular (VELA-CORCÍA, 2018). Logo, são potentes inibidores da polimerização da tubulina e exercem suas atividades antifúngicas por atacar a subunidade da β -tubulina dos microtúbulos, o que resulta na parada da formação de

microtúbulos e uma falha na divisão celular, levando subsequentemente à morte celular do patógeno (Davidse et al., 1973).

Os MBCs controlam um amplo espectro de fungos patogênicos, entretanto, não controlam oomicetos (Russell et al., 2005). Atualmente, os ingredientes ativos comerciais de MBCs disponíveis incluem carbendazim, tiabendazol e tiofanato metílico (WARE, 2004). O tiofanato metílico um fungicida sistêmico com amplo espectro de atividade antifúngica fitopatogênica (FRAC et al., 2019). Com relação à sua estrutura química, é observada nos tiofanatos a ausência de anel heterocíclico como nos fungicidas do grupo dos benzimidazóis. Por ciclização degradativa, produzem rapidamente o carbedazim (metil-2-benzimidazol carbamato) que é o principal agente tóxico aos fungos (VALE-CORCÍA, 2018).

Os primeiros relatos de resistência a esses fungicidas foram relatados dois anos após a sua introdução no mercado, para diversos patógenos, na década de 60 (BRENT, 2007). Tsuji (2016) demonstraram que isolados de *L. theobromae* de mamoeiro do nordeste brasileiro eram resistentes ao tiofanato metílico, resistência essa associada a uma mutação pontual no códon 198 (E198K) do ácido glutâmico para alanina do gene da β -tubulina.

Em estudos de populações de *L. theobromae* de pomares de mamão (*Carica papaya* L.) e mangueira (*Mangifera indica*), também da região nordeste foram encontrados altos níveis de insensibilidade ao benomyl e tiabendazol, principalmente para o mamoeiro (PEREIRA, 2012).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHZADEH J. J. A.; GOLTAPPEH E. M.; ZARE R.; PHILLIPS, A.J.L. Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. **Persoonia** v. 25, p.1–10, 2010.

AGRIANUAL: **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria Comércio, p.520, 2017.

AGROFIT. Agrofít, Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 17 mai 2019.

AL-SADI, A.M.; AL-WEHAIBI, A.N.; AL-SHARIQI, R.M.; AL-HAMMADI, M.S.; AL-HOSNI, I.A.; AL-MAHMOOLI, I.H.; GHAITHI, A.G. Population genetic analysis reveals diversity in *Lasiodiplodia* species infecting date palm, Citrus, and mango in Oman and the UAE. **Plant Disease** v.97, p1363–1369.

ALVES FILHO, E. G.; SILVA L. M. A.; de BRITO, E. S.; WURLITZER, N.J., FERNANDES, F.A.N.; RABELO, M.C.; FONTELEST.V.; RODRIGUES, S. Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H qNMR and GC-MS coupled to chemometrics.. **Food Chemistry**, p. 1-38, 2018.

ALVES, A. CROUS, P.W.; CORREIA, A., PHILLIPS, A.J.L. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. **Fungal Diversity**, v.28, p.1–13, 2008.

ASSIS, S.A.; PEDRO FERNANDES, F.; MARTINS, FARIAS OLIVEIRA, O.M.M. Acerola: importance, culture conditions, production and biochemical aspects. **Fruits**, v.63, p.93-101, 2008.

BATISTA, D. C.; TERAPO, D.; MOREIRA SILVA, F., da HOLANDA, S.C.C.; Manejo Integrado de *Lasiodiplodia theobromae* em Videira no Submédio do Vale do São Francisco. **Embrapa**, v 91, 2010.

BRENT, K.J.; HOLLomon, D. Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How Can It Crop Pathogens: How Can It Be Managed? **Crop Life: International Fungicide Resistance Action Committee**.v.0, p.60, 2003.

CABRAL, P.G.; **Botryosphaeriales associated with acerola dieback in Brazil and stem-end rot, gummosis, leaf blight and dieback of ornamental, fruit and native trees cultivated near to orchards in Northeastern Brazil**. Tese Doutorado-UFV, Viçosa, 100f, 2017.

CALGARO, M.; BRAGA, M.B. A cultura da acerola. **Embrapa: Coleção Plantar**. 3ª ed, 2012.

CARDOSO, J.E.; BEZERRA, M.A.; VIANA, F.M.P.; SOUSA, T.R.M.; CYSNE, A.Q.; FARIAS,F.C. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.4, p.262-266, 2009.

CARVALHO, J.M.F.C.; SILVA, M.M. de A. **Plantas matrizes na propagação vegetativa**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2012. 36 p.

CAVALCANTE, R.D.C.; GUERREIRO LIMA, W.; MARTINS, B.; TOVAR-PEDRAZA; MICHEREFF, J.; CÂMARA, M.P.S. Thiophanate-methyl

sensitivity and fitness in *Lasiodiplodia theobromae* populations from papaya in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, 2014.

COCHARD, H. A new mechanism for tree mortality due to drought and heatwaves. **UCA, INRA, PIAF**, F-63000 Clermont-Ferrand, France, 2019.

CORREIA, K.C.; SILVA.; MORAIS JR, M.A.; ARMENGOL, J; PHILLIPS, A.J.L. Phylogeny, distribution and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of table grape in the main Brazilian exporting region. **Plant Pathology** v.65, p.92–103, 2016.

NETTO, M.S.B.; LIMA, W. G. Lima; CORREIA, K. C.; da SILVA, C.F.B.; THON, M.; MARTINS, R. N.G.; MICHEREFF, S.J., CÂMARA, M. Analysis of phylogeny, distribution and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* species associated with gummosis of Anacardium in Brazil, with a new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Biology**, p. 1-46, 2016.

CROUS, P.W. *Botryosphaeriaceae*: Systematics, pathology, and genetics. **Fungal biology**, v.121, p. 305-306, 2017.

CRUYWAGEN, M.; SLIPPERS, B.; ROUX, J; WINGFIELD, M. J. Phylogenetic Species Recognition and hybridisation in *Lasiodiplodia*: A case study on species from baobabs. **Fungal Biology**, p.1-38, 2016.

DAVIDSE, L. C. Antimitotic activity of Methyl Benzimidazol-2-yl Carbamates (MBC) in *Aspergillus nidulans*. **Pesticide Biochemistry Physiology**, p.317–325, 1973.

DINC. **Perímetro Irrigado Nilo Coelho**. Petrolina: Distrito de Irrigação Nilo Coelho, 2018. Disponível em: <<http://www.dinc.org.br/?cat=5>>. Acesso em: 16 mai 2018.

ELLA, B. GIRAUD, T.; HOOD, M.E. Pathogen Relatedness Affects the Prevalence of Within-Host Competition. **The American Naturalist**, v. 168, n. 1, 2006.

FAO. **Estudio Mercadotécnico en relación con la Vitamina C obtenida de fuentes naturales**. Instituto de Investigaciones de Cítricos y Frutales. MINAGRI. Disponível em <<http://www.fao.org/publications/en/>> Acesso: 16 mai 2019.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; TORÉS J.A.; VICENTE, A. V.; PÉREZ-GARCÍA, A.V.A. Mechanisms of resistance to QoI fungicides in phytopathogenic fungi. **International Microbiology**, n.11, p.1-9, 2008.

FRAC, **Fungicide resistance action committee**. FRAC code list: fungicide sorted by mode of action, 2019. Disponível em: <<http://www.frac.info/publication/anhang/FRAC-Code-List2011-final.pdf>> Acesso em: 17 mai 2019 a.

FRAC. Fungicide resistance action committee. FRAC list of fungicide common names, 2012. Disponível em:

<<http://www.frac.info/publication/ahang/2012%20FRAC%20List%20Fungicide%20Comm on%20Names.pdf>> Acesso em: 17 mai 2019, b.

IPCC-Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC): Central and South America. Cambridge University Press, Cambridge, 2019.

ISMAIL, A.M.; CIRVILLERI, G.; POLLIZZI, G; CROUS, P.W.; GROENEWALD, J.Z.; LOMBARD, L. *Lasiodiplodia* species associated with dieback disease of mango (*Mangifera indica*) in Egypt. **Australasian . Plant Pathology**, v.41, p. 649–660, 2012.

KUTZMANN P.; VILLAUME,S.; BERTSCH, C. Conidia dispersal of *Diplodia* species in a French vineyard. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 48, p. 150-154, 2009. FRANCISCO DAS FREIRE, C.O.; VIANA, F. M. P. V.; CARDOSO, J.E.C.; SANTOS, A.A. Novos Hospedeiros do Fungo *Lasiodiplodia theobromae* no Estado do Ceará. **Embrapa**, v 51, p 1-6, 2004.

LALÈVE, A.; FILLINGER, S.; WALKER, A.S. Fitness measurement reveals contrasting costs in homologous recombinant mutants of *Botrytis cinerea* resistant to succinate dehydrogenase inhibitors **Fungal Genetics and Biology**, 2014.

LIMA, J.S.; CARDOSO, J.E.; MOREIRA, R.C., ALVES, E.S.; MOREIRA, R.C.; ALVES, E.S. Caracterização cultural de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* e patogenicidade em plantas de aceroleira. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n.1, p. 10, 2012.

LINALDEDDU, B.T.; DEIDDA, A.; SCANU, B., FRANCESCHINI, A., SERRA, S., BERRAF-TEBBAL, A.; ZOUOUBOUTITI, M.; BEN JAMAA, M.L.; PHILLIPS, A.J.L. Diversity of *Botryosphaeriaceae* species associated with grapevine and other woody hosts in Italy, Algeria and Tunisia, with descriptions of *Lasiodiplodia exigua* and *Lasiodiplodia mediterranea* sp. **Fungal Diversity**, v. 71, p.201–214, 2015

LINK, G. K.; BAILEY, A. A. Fusaria causing bulb rot of onions. **J.Agric. Res.** v.33, p.929-952.

MACHADO, A.R.; PINHO, D.B.; PEREIRA, O.L. 2014. Phylogeny, identification and pathogenicity of the Botryosphaeriaceae associated with collar and root rot of the biofuel plant *Jatropha curcas* in Brazil, with a description of new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Diversity**, v.67, p.231–247, 2014

MARQUES, M. W.;LIMA, N. B.; MORAIS, M.A.; BARBOSA, M.A.; MICHEREFF, S.J.; PHILLIPS, A.J.L.; CÂMARA, M.P.S. Species of *Lasiodiplodia* associated with mango **Fungal Diversity**, v.61, p.181-193, 2013.

- MARQUES, T.R.; CESAR, P.H.S.; BRAGA, M.A.; MARCUSSI, S.; CORREA, A.D.; Fruit Bagasse Phytochemicals from *Malpighia emarginata* Rich in Ezymatic Inhibitor with Modulatory Action on Hemostatic Processes. **Journal of Food Science**, v.0, 2018.
- MILGROOM, M. G. Population biology of plant pathogens: genetics, ecology, and evolution. **St. Paul: APS Press**, p. 399, 2013.
- MOHALI, S.; BURGESS, T.; WINGFIELD, M. J. Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. **Persoonia**, v.25. p.1-10, 2010.
- BRASSIER C. Episodic selection as a force in fungal microevolution, with special reference to clonal speciation and hybrid introgression. **Canadian Journal of Botany**, v 73, p. 1213-1221, 1995.
- MOURA, C.F.H.; OLIVEIRA, L.S.; SOUZA, K.O.; FRANCA, L.G.; RIBEIRO, L.B.; RIBEIRO, L.B.; de SOUZA, P.A.; MIRANDA, M.R.A. Acerola-*Malpighia emarginata*. **Exotic Fruits**, p.7-8, 2017.
- NETTO, M.S.B.; ASSUNÇÃO, I.P.; LIMA, G.S.A.; MARQUES, M.W.; LIMA, W.G.; MONTEIRO, J.H.A.; BALBINO, V.Q., MICHEREFF, S.J.; PHILLIPS, A.J.L. CÂMARA, M.P.S. Species of *Lasiodiplodia* associated with 548 papaya stem-end rot in Brazil. **Fungal Diversity** v.67, p.127–141, 2014.
- NETTO, M.S.B.; LIMA, W. G. Lima; CORREIA, K. C.; da SILVA, C.F.B.; THON, M.; MARTINS, R. N.G.; MICHEREFF, S.J., CÂMARA, M. Analysis of phylogeny, distribution and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with gummosis of *Anacardium* in Brazil, with a new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Biology**, p. 1-46, 2016
- of *Phytophthora infestans* populations. **Plant Pathology**, v. 67, n.7, p.1539-1551, 2018.
- PAVLIC, D.; WINGFIELD, M.J.W.; SLIPPERS, B.; HARDY, G.E.; BURGESS, I. Seven new species of the Botryosphaeriaceae from baobab and other native trees in Western Australia. **Mycologia**, v. 100, n.6, p.851-866, 2008.
- PEREIRA, A. L.; SILVA, G.S.S.; RIBEIRO, V.B. Caracterização Fisiológica, Cultural e Patogênica de Diferentes Isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p.6, 2006.
- PETINARI, R.A.; TARSITANO, M.P.; Análise econômica da produção de acerola para mesa, em Jales-SP: Um estudo de caso. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.2; p.411-415, 2002.

- PHILLIPS, A.J.L.; ABDOLLAHZADEH, B.; SLIPPERS, M.J.; WINGFIELD, J.Z. GROEHWALD, J.Z.; CROUS, P.W. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. **Studies in Mycology**, v. 76, p.51–167, 2013.
- PITT, Wayne M.; STURT, C.; MARK, R.S.; HUANG, R.; STEEL, C.C. Evaluation of Fungicides for the Management of Botryosphaeria Canker of Grapevines. **Plant Disease**, 2012.
- PUNITHALINGAN, E. 1976. *Botryodiplodia theobromae*, Kew: **Commonwealth Mycological Institute**, Surrey, England, v.519, 1976.
- READ, A. F. The evolution of virulence. **Trends Microbiol.**, v. 2, p.73–76, 1994. Kimberly WEBB, M.; COLLINS, C.O.; OTTO, K.; SCHWARTZ, H.F. Cross Pathogenicity and Vegetative Compatibility of *Fusarium oxysporum* Isolated from Sugar Beet. **Plant Disease.**, v. 97, n.9, p. 1200-1226.
- REX_CONSORTIUM. Heterogeneity of selection and the evolution of resistance. **Trends Ecology Evolution**, v. 28, p. 110–118, 2013.
- REZENDE, Y.R.R.S.; NOGUEIRA, J.P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v.254, p. 281-291, 2018.
- RITZINGER, R.; PRATA RITZINGER, H.S.; FONSECA, N.; MACHADO, C.F. Advances in the propagation of acerola. **Revista Brasileira de Fruticultura Irrigada**, v. 40, n.3, p. 92, 2016.
- RITZINGER, R.; RITZINGER, C.H.S.P.R.; CORDEIRO, Z.J.M. **Doenças em viveiro de mudas de aceroleira**. Cruz das Almas: Embrapa - CNPMF, 2008. 2p. (Acerola em Foco, 13)
- RODRÌGUEZ-GALVEZ, E.; GUERRERO, P.; BARRADAS, C.; CROUS, P.; ALVES, A. Phylogeny and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of mango in Peru. **Fungal Biology**, xxx, p. 1-14, 2016.
- SANTOS, K. M.; TSUJI, S.S.; CÂMARA, M.P.S.; MICHEREFF, S.J.; LOPES, U. P. Sensitivity to methyl benzimidazole carbamate fungicides of *Botryosphaeriaceae* species from mango orchards in the Northeast of Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, 2018.
- SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M.J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal Biology**, v.21, p.90-106, 2007.

TRAKUNYINGCHAROEN, T.; LOMBARD, L.; GROENEWALD, J.Z.; CHEEWANGKOON, T.R.; TO-ANUM, C.; CROUS, P.W. Caulicolous *Botryosphaeriales* from Thailand. **Persoonia**, v. 34, p.87–99, 2015.

TSUJI, S. S. **Mecanismos de resistência de *Lasiodiplodia theobromae* a fungicidas**. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2016.

ÚRBEZ-TORREZ, J. R.; GUBLER, W. D. Susceptibility of grapevine pruning wounds to infection by *Lasiodiplodia theobromae* and *Neofusicoccum parvum*. **Plant Pathology** , v 60, p. 261–270, 2011.

ÚRBEZ-TORREZ, J.R.; BRUEZ, E.; HURTADO, J.; GUBLER, D. Effect of Temperature on Conidial Germination of Botryosphaeriaceae Species Infecting Grapevines. **Plant Disease**, v.94, n.12, 2010. Botryosphaeriaceae Species Spore-Trapping Studies in California Vineyards

ÚRBEZ-TORREZ, J. R.; BATTANY, L. J.; BETTIGA, C.; GISPERT, G.; MCGOURTY, J.; RONCORONI, R. J.; SMITH, P.; VERDEGAAL, W. D. *Botryosphaeriaceae* Species Spore-Trapping Studies in California Vineyards, v,96, n,4, 2010.

URBÈZ-TÓRREZ, J.R.; PEDUTO, F.; STRIEGLER, R.K.; URREA-ROMERO, K.E.; RUPE, J.C.; CARTWRIGHT, R.D.; GUBLER, W.D. Characterization of fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases in Arkansas and Missouri. **Fungal Diversity**, v.52, p.169–189, 2012.

VELA-CORCÍA, D.; ROMERO, D.; VICENTE, A.; PÉREZ-GARCÍA, A. Analysis of β -tubulin-carbendazim interaction reveals that binding site for MBC fungicides does not include residues involved in fungicide resistance. **Nature: Scientific Reports**, 8:7161, 2018.

VITAL, T.S.; MOLLER, H.D.; FAVERO, L A Fruticultura de Exportação do Vale do São Francisco e a Crise Econômica: efeitos sobre a convenção coletiva de trabalho. A Fruticultura de Exportação do Vale do São Francisco e a Crise Econômica: efeitos sobre a convenção coletiva de trabalho. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 4, n. 3, 2011, 2009-2010.

VITAL, Tales Wanderley et al. A Fruticultura de Exportação do Vale do São Francisco e a Crise Econômica: efeitos sobre a convenção coletiva de trabalho. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 4, n. 3, 2011, 2009-2010.

WARE, G.W.; WHITACRE, D. **The Pesticide Book**. 6 ed. (Willoughby: Meister Media Worldwide), 2004.

WEBB, K. M.; CASE, A.J.; BRICK, M.A.; OTTO, K.; SCHWARTZ, H.F. Pathogenicity and Vegetative Compatibility of *Fusarium oxysporum* Isolated from Sugar Beet. **Plant Disease** v. 97, n. 9, 2013.

YOUNG, G. K.; COOKEB, L. R.; WATSONC,S.; KIRKD, W.W.; PEREZ, F.M.; DEATHLE, K.L. The role of aggressiveness and competition in the selection
ZHAN, J; MCDONALD, B.A. Experimental Measures of Pathogen Competition and Relative Fitness. **Annual Review of Phytopathology** n. 51, p.:2.1–2.23, 2013.

ZLATICOVIC, M.; KECA, N.; WINGFIELD, M.J.; SLIPPERS, B. *Botryosphaeriaceae* associated with the dieback of ornamental trees in the Western Balkans, **Antonie van Leeuwenhoek**, p.22, 2016.

4. ADAPTABILIDADE FISIOLÓGICA DE *LASIODIPLODIA* SPP. DA ACEROLEIRA EM UMA REGIÃO SEMIÁRIDA¹

Resumo

A morte descendente causada por fungos do gênero *Lasiodiplodia* é uma importante doença da aceroleira na região semiárida do Brasil. Informações sobre a influência de fungicidas em espécies de *Lasiodiplodia* da aceroleira é desconhecido. Sendo assim a DE₅₀ (dose efetiva para reduzir o crescimento micelial em 50%) de sete espécies de *Lasiodiplodia* foi estimada *in vitro* para o fungicida tiofanato metílico. A temperatura ótima e salinidade, componentes de adaptabilidade, também foram mensurados para as espécies. A DE₅₀ para o fungicida MBC variou de 0,742 a 2,702 µg.mL⁻¹. Dentre as sete espécies estudadas, a *L. pseudotheobromae* e *L. iraniensis*, apresentaram maior sensibilidade ao tiofanato metílico, seguidos por *L. brasiliense*, *L. gonubiensis*, *L. euphorbicola* e *L. hormozganensis*, que numa escala relativa de sensibilidade são as espécies moderadamente sensíveis e, por fim, *L. theobromae* foi a espécie menos sensível ao fungicida. Em temperaturas extremas (10 e 40°C) as espécies de *Lasiodiplodia* não se desenvolveram. A faixa ótima média de temperatura para o crescimento micelial das espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleira foi 25,3°C. Para a espécie *L. brasiliense*, houve indicação de custos de adaptabilidade. Essa espécie, moderadamente sensível ao tiofanato metílico, apresentou maior crescimento micelial em condições de alto estresse salino. As demais espécies não apresentaram custos de adaptação.

4.1 Introdução

O gênero *Lasiodiplodia*, um dos causadores da morte descendente da aceroleira, compreende mais de 40 espécies conhecidas, dos quais sete delas foram relatadas em aceroleira pela primeira vez em 2017 em pomares comerciais no Nordeste Brasileiro (CABRAL, 2017). Espécies deste gênero apresentam hospedeiros lenhosos de importância agrícola (CROUS, 2017), causando uma ampla gama de sintomas, incluindo sintomas externos como cancos de ramos, clorose, resinose e sintomas internos como estriamento negro em tecidos condutores (ÚRBEZ-TORREZ, 2012).

¹ Artigo a ser submetido a revista **European Journal of Plant Pathology**

A expressão desses fungos é geralmente associada ou desencadeada por condições de estresse (CROUS, 2017; MEHL, 2016), associada à mudança climática e ações antrópicas, gerando cada vez mais impactos na agricultura (ZLATICOVIC, 2016). Modelos de mudança climática, salinização de solos por água de irrigação e o uso limitado de princípios ativos de fungicidas estão associados aos fatores de estresse que, juntamente com a pressão biológica desses patógenos, podem desencadear uma epidemia de doenças no campo (ARNOLD, 2003; SLIPPERS, 2007).

A adaptabilidade ou *fitness* de fitopatógenos pode ser definida como a habilidade relativa de um patógeno sobreviver e se reproduzir em um período de tempo e exposto a uma determinado ambiente (HARTEVEL, 2014). Nesse contexto, as mutações associadas a resistência a fungicidas é amplamente dependente da aptidão ao estresse ambiental, visto que afeta a dinâmica da competição entre resistência e sensibilidade implicando assim no manejo da doença (KARAOGLANADIS, 2011; PARNELL, 2005). A evolução da resistência a fungicidas é diminuída se as subpopulações apresentarem menor aptidão saprofítica (HARTVEL, 2014).

Uma série de fatores pode levar a resultados desfavoráveis quando doenças são tratadas com fungicidas, tais como pulverização inadequada, erros de dosagem e condições climáticas desfavoráveis (PEREIRA, 2012). Um dos fatores mais incômodos é a perda de eficácia devido à resistência a fungicida com um específico modo de ação (MILGROOM, 2015). No Brasil, há apenas três fungicidas registrados para a cultura da aceroleira, um a base de boscalida (anilida), o segundo por uma mistura de boscalida (anilida) + cresoxim-metílico (estrobilurina) e o terceiro uma mistura de tiofanato-metílico e fluazinam. Todos os fungicidas apresentam modo de ação específico, como a inibição da respiração celular, a mitose e divisão celular na célula do fungo (AGROFIT, 2019). Vários estudos *in vitro* avaliaram a eficácia de fungicidas no manejo de *Lasiodiplodia* (AL-JABRI, 2017; CAVALCANTE, 2014; PEREIRA, 2012; VIEIRA, 2017), no entanto não há estudos de avaliação de fungicidas de espécies de *Botryosphaeriaceae* de aceroleira.

A capacidade destes fungos de infectarem múltiplos hospedeiros aumenta a ameaça que eles representam como potenciais patógenos de importância econômica e ecológica, podendo algumas espécies desses fungos estarem associadas a diferentes culturas que estejam instaladas a uma distância relativamente próxima uma da outra (MEHL, 2016).

O desenvolvimento de estratégias que garantam a durabilidade de resistência de um hospedeiro a um fitopatógeno aborda questões relacionadas à adaptação a um novo

ambiente (FOURNET, 2012). De fato, para parasitas altamente especializados, como a *Lasiodiplodia*, a composição genética das cultivares representa um fator ambiental essencial para a adaptação (THANGAVELU, 2007).

Apesar de serem abundantes as informações sobre as consequências diretas de seleção de plantas hospedeiras resistentes a populações de parasitas, pouco se sabe sobre sua consequência na escala intra-espécies e inter-espécies, ou seja, em termos de adaptação específica do genótipo e patogenicidade cruzada (FOURNET, 2012).

Alguns estudos apontam espécies de *Lasiodiplodia* infectando e causando danos em manga, videira, cajueiro, maracujazeiro, coco e aceroleira no Nordeste Brasileiro (MARQUES, 2013; CORREIA, 2016; NETTO, 2018; LIMA, 2012; PEREIRA, 2006). A espécie *L. theobromae* tem sido relatada e associada a morte descendente da aceroleira (LIMA, 2012), entretanto, a mangueira e a videira se destacam como as principais frutíferas acometidas por este grupo de fungos na região (MARQUES, 2013; CORREIA, 2016).

Os objetivos deste estudo foram (i) determinar a sensibilidade de sete espécies de *Lasiodiplodia* ao fungicida tiofanato metílico e (ii) avaliar os componentes de adaptabilidade, temperatura e salinidade para essas espécies fúngicas.

4.2 Material e métodos

Espécies de *Lasiodiplodia*

Sete isolados de sete espécies coletados de pomares de aceroleira foram usados neste estudo (Tabela 1). As espécies foram determinadas por inferências filogenéticas baseadas em sequências parciais do gene do fator 1- α de alongação (EF1- α) e completa sequência de espaço interno do transcrito (ITS) como descrito por Cabral (2017). Os isolados foram mantidos na coleção de cultura fitopatogênica do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Vale do São Francisco. Culturas estoque foram armazenadas em tubos de ensaio contendo meio BDA (Batata-dextrose-ágar) inclinado e mantido a 25 °C no escuro até o uso.

Inicialmente, a patogenicidade das espécies foi restaurada pela inoculação pelo método do corte em mudas de aceroleira cv. Junco. Após o aparecimento dos sintomas, fragmentos do caule foram usados para reisolar cada espécie do patógeno em meio BDA nas mesmas condições de incubação.

Sensibilidade a tiofanato metílico

Um produto comercial a base de apenas tiofanato metílico (Support, 500 g/L do ingrediente ativo) foi usado para quantificar a sensibilidade das espécies de *Lasiodiplodia*. O fungicida foi adicionado ao meio de cultura BDA fundente a 45°C. O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, com cinco repetições. Cada repetição consistiu de uma placa de Petri contendo cada combinação concentração-fungo. Oito concentrações do princípio ativo foram utilizadas, as quais consistiram no fator 1 do experimento, obtidas a partir da utilização de uma alíquota do produto comercial. As concentrações avaliadas foram 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 3,0 e 10,0 µg de ingrediente ativo (i.a.) mL⁻¹. As sete espécies de *Lasiodiplodia* spp. consistiram no fator 2 (Tabela 1).

Tabela 1. Espécies de *Lasiodiplodia* spp. isolados de acerola usados neste estudo.

Espécie ^a	Origem	Localização	Variedade
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho- N2-Petrolina-PE	9°21'21,5"S e 40°34'16,2"W	Comum
<i>Lasiodiplodia gonubiensis</i>	Campus da UEL - Londrina-PR	23°20'19,2"S e 51°12'41"W	Valéria
<i>Lasiodiplodia euphorbicola</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho- N1-Petrolina-PE	9°21'21,5"S e 40°34'16,2"W	Costa Rica
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho- N9-Petrolina-PE	9°16'31,5"S e 40°34'48,9"W	Okinawa
<i>Lasiodiplodia hormozganensis</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho- N11-Petrolina-PE	9°15'16,5"S e 40°25'42,3"W	Flor Branca
<i>Lasiodiplodia iraniensis</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho- N7-Petrolina-PE	9°17'38,4"S e 40°29'52,9"W	Junco
<i>Lasiodiplodia brasiliensis</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho- N7-Petrolina-PE	9°17'38,4"S e 40°29'52,9"W	Costa Rica

^a Identificado por filogenia (Cabral, 2017).

Discos de micélio de 4,76 mm de diâmetro foram retirados da margem da colônia de cada espécie com 7 dias de crescimento em BDA no escuro a 25 °C e transferidos

para o centro de placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo BDA suplementado com cada dose do fungicida. As placas foram incubadas a 25°C no escuro até as avaliações. O diâmetro das colônias foi mensurado, em duas posições perpendiculares, imediatamente quando o diâmetro de alguma das espécies fúngicas em estudo alcançou 75% do diâmetro da placa.

Com essa variável foram criados gráficos de dispersão, relacionando crescimento micelial e concentração do ingrediente ativo. Além disso, foram ajustadas as funções de regressão para determinar a concentração de fungicida necessária para inibir 50% do crescimento micelial (DE₅₀). Este procedimento foi realizado para cada espécie fúngica. Os gráficos e regressões foram realizados com o auxílio do programa SigmaPlot 10.0.

Os dados de diâmetro das colônias e DE₅₀ foram submetidos ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov), análise de variância (ANOVA) e agrupamento de médias (Scott-Knott, $P \leq 0,05$) com o auxílio do programa Sisvar versão 5.4. Com base nos valores da DE₅₀, as espécies fúngicas foram agrupadas como sensíveis, moderadamente sensíveis e pouco sensíveis ao fungicida.

Temperatura

Para esse experimento foram utilizadas sete espécies de *Lasiodiplodia*: *L. pseudotheobromae* (isolado 01); *L. gonubiensis* (isolado 15); *L. euphorbicola* (isolado 19); *L. theobromae* (isolado 26); *L. hormozganensis* (isolado 52); *L. iraniensis* (isolado 69); e *L. viticola* (isolado 71).

As espécies foram usadas para avaliar o efeito da temperatura no crescimento do fungo *in vitro*. Os discos de micélio foram retirados de placas de Petri com 7 dias de incubação a 25 °C no escuro. Posteriormente, cada espécie foi transferida para o centro de placas de Petri contendo BDA, incubados sob as temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30 e 40°C os quais consistiram no fator 1 e as oito espécies de *Lasiodiplodia* spp. consistiram no fator 2. A unidade experimental foi constituída por cada placa de Petri. As placas foram incubadas em câmara tipo BOD no escuro sob a temperatura correspondente ao seu tratamento e o diâmetro da colônia, em duas posições ortogonais, foram medidas com um auxílio de um paquímetro digital após o tratamento testemunha ter alcançado $\frac{3}{4}$ do diâmetro da placa. O experimento foi realizado duas vezes. O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, com cinco repetições.

Os dados foram coletados e foi realizada a análise de variância. As médias foram comparadas entre si pelo teste de Scott-Knot ($P \leq 0,05$), com o auxílio do Sisvar versão

5.4. Além disso, foram confeccionados gráficos de dispersão e ajuste de regressão com o auxílio do programa SigmaPlot 10.0.

Sensibilidade osmótica

A sensibilidade osmótica foi avaliada por meio do crescimento micelial dos fungos em meio BDA, nas mesmas condições do experimento anterior, contendo diferentes concentrações de NaCl no meio.

Da mesma forma que o experimento anterior, discos de micélio foram retirados das margens de culturas aos 7 dias de incubação de cada espécie e transferidos para o centro de placas de Petri de 9 cm de diâmetro suplementados com 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0% de (peso/volume) de NaCl. Placas de Petri contendo BDA sem NaCl foram utilizadas como testemunha.

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 7x6, com cinco repetições. A unidade experimental foi constituída de cada placa de Petri. As placas foram incubadas a 25 °C no escuro. O diâmetro das colônias foi mensurado em duas posições perpendiculares, com auxílio de um paquímetro digital após o tratamento testemunha ter alcançado 75% do diâmetro da placa. Após a medição, foram criados gráficos de dispersão, relacionando crescimento micelial e concentração de NaCl. Além disso, foram ajustadas equações de regressão para determinar o percentual de salinidade necessário para inibir 50% do crescimento micelial (NaCl_{50}) de cada espécie fúngica. Todos os gráficos de dispersão com curva de regressão foram realizados com o auxílio do programa SigmaPlot 10.0. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov), análise de variância (ANOVA) e teste de agrupamento de médias (Scott Knott, $P \leq 0,05$) com o auxílio do programa Sisvar versão 5.4. Com base nos valores da NaCl_{50} e do teste de médias, as espécies fúngicas foram agrupadas como sensíveis, moderadamente sensíveis e pouco sensíveis ao ambiente salino.

4.3 Resultados e Discussão

Este é o primeiro estudo de sensibilidade a fungicida de isolados de *Lasiodiplodia* provenientes de aceroleira. As espécies de *Lasiodiplodia* estudadas apresentaram diferenças significativas na sensibilidade ao tiofanato metílico (Figura 1). Com relação à DE_{50} , os valores variaram de 0,742 a 2,702 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 2). Para esta variável também houve diferenças significativas entre as sete espécies de *Lasiodiplodia* estudadas. Como

esperado, com o aumento da concentração do ingrediente ativo fungicida no meio de cultura, houve uma redução no crescimento micelial *in vitro* dos fungos estudados.

Baseado nesses resultados, as espécies *L. pseudotheobromae* e *L. iraniensis*, apresentam maior sensibilidade ao tiofanato metílico, seguidos de *L. brasiliense*, *L. gonubiensis*, *L. euphorbicola* e *L. hormozganensis*, que em uma escala relativa de sensibilidade foram as espécies moderadamente sensíveis, e *L. theobromae* foi a espécie menos sensível ao fungicida. Essas diferenças na sensibilidade podem estar associadas a uma característica natural das espécies/isolados ou eles foram proveniente de uma população que desenvolveu resistência ao fungicida.

Analisando as espécies *L. pseudotheobromae*, *L. iraniensis* e *L. hormozganensis* observa-se que as duas primeiras apresentaram menores DE_{50} , com valores abaixo de 0,882 $\mu\text{g/mL}$. Cabral (2017), trabalhando com os mesmos isolados fúngicos, observou que a primeira espécie foi a mais frequente nas amostragens do patógeno em aceroleiras em campo, correspondendo a 33% dos isolados coletados na cultura. O fato de a cultura não demandar frequentes pulverizações com fungicidas pode nos levar a acreditar que este menor valor de DE_{50} contribuiu para o aumento da frequência dessa espécie sensível no campo de cultivo.

As três espécies mencionadas anteriormente também foram avaliadas na cultura da mangueira e o maior valor de DE_{50} foi de 2,82 $\mu\text{g/mL}$ (DOS SANTOS et al., 2018). Considerando que o uso de fungicidas, inclusive do grupo benzimidazol, é mais comum na cultura da mangueira em relação à aceroleira, é esperada que a sensibilidade associada a isolados da aceroleira correspondem a uma característica natural dos mesmos devido a não aplicação de fungicidas na cultura e, conseqüentemente, a não exposição ao princípio ativo.

A espécie *L. theobromae* apresentou DE_{50} de 2,702 $\mu\text{g/mL}$. Esse valor apenas coloca este isolado na posição menos sensível em relação aos demais em estudo, mas, não é um valor capaz de classificar o isolado como não sensível ao princípio ativo. Na região do Submédio do Vale do São Francisco, esta espécie já foi relatada em mamoeiro (CAVALCANTE et al., 2014), mangueira (DOS SANTOS et al., 2018), bananeira (VIEIRA et al., 2017) e videira (PEIXINHO, 2008). Cavalcante et al. (2014) encontraram, em pomares de mamoeiro que se fazem o uso intensivo de fungicidas, isolados de *L. theobromae* com faixa de DE_{50} de 0,88 a 496,51 $\mu\text{g/mL}$. Considerando que esta espécie é sabidamente capaz de infectar uma alta gama de hospedeiros (>500 espécies), pode estar ocorrendo o fenômeno de salto de hospedeiros, ou seja, provavelmente o isolado

coletado de aceroleira anteriormente infectava outro hospedeiro em que é comum o uso intensivo de fungicidas, como na cultura da videira e mangueira. Assim, este isolado poderia já ter submetido a uma grande exposição ao princípio ativo testado.

Esta hipótese é reforçada pela característica dos plantios da região, em que as lavouras de diferentes hospedeiros são muito próximas entre si. Este fato já foi comprovado para outros patossistemas, como *Phytophthora infestans* na cultura da batata e *Magnaporthe oryzae* na cultura do arroz (STUKENBROCK & MCDONALD, 2008). Assim, é importante a realização de estudos complementares para comprovar a ocorrência do salto de hospedeiros neste patossistema.

A análise dos valores de DE_{50} nos permite inferir que as espécies estudadas apresentam diferenças na sensibilidade ao tiofanato metílico. Assim, há necessidade de se determinar qual espécie fúngica está no campo causando dano, para que haja um manejo de fungicidas mais eficiente na cultura.

Independente da espécie de *Lasiodiplodia* que está ocorrendo na lavoura, seria recomendado um cuidado no uso de fungicidas de um mesmo ingrediente ativo, uma vez que já há relatos de mutação de ponto simples no gene da β -tubulina, como no códon 198, o que torna a patógeno resistente a benzimidazóis, como o tiofanato metílico (DOS SANTOS et al., 2018). Esta resistência está associada a alelos resistentes que são frequentemente raros ou inexistentes em populações de fungos antes do uso de um determinado fungicida, mas pode surgir após a alta exposição a fungicidas.

Vale ressaltar que seis das sete espécies avaliadas neste estudo foram recém-identificadas causando morte descendente em aceroleira (CABRAL, 2017). Outros estudos recentes também identificaram essas espécies em outras culturas. Há relatos recentes de *L. brasiliense* em macieiras, no Ceará (Martins et al., 2018). Cardoso et al. (2017) relataram o primeiro caso desta espécie fúngica causando podridão pós-colheita em frutos de pinha (*Annona squamosa*). Coutinho et al. (2017) identificaram *L. brasiliense*, além de *L. euphorbicola*, *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae* e *L. gonubiensis* causando gomose e morte descendente em anonáceas, caju, sapoti, tamarindo, pitomba e em anacardiáceas. Os autores indicaram a ocorrência do fenômeno do salto de hospedeiros entre as espécies fúngicas estudadas no presente trabalho, porém em outros hospedeiros.

Em relação ao componente de adaptabilidade temperatura, todas as espécies apresentaram um padrão quadrático de crescimento (Figura 3) em que, nas temperaturas extremas (10 e 40°C), não houve crescimento micelial dos fungos.

Para 25% das espécies foi observado maior crescimento micelial apenas na temperatura de 20°C. Para 50% das espécies, o maior crescimento micelial ocorreu em 25 e 30°C. Em 12,5% das espécies, o maior crescimento micelial, estatisticamente, foi em 20, 25 e 30°C. A faixa temperatura ideal (Tabela 2) obtida pela derivada das equações de regressão dos fungos, está entre 23,91 e 25,81°C. Essa faixa é encontrada, principalmente nas regiões tropicais, onde a frequência do gênero é alta.

Tabela 2. Temperatura ótima obtida por meio da derivada da equação de regressão para o desenvolvimento das sete espécies de *Lasiodiplodia* isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*).

Espécie	Temperatura ótima (°C)
<i>L. pseudotheobromae</i>	25,54
<i>L. gonubiensis</i>	25,36
<i>L. euphorbicola</i>	25,70
<i>L. theobromae</i>	25,80
<i>L. hormozganensis</i>	25,15
<i>L. iraniensis</i>	25,81
<i>L. brasiliense</i>	23,91
Média	25,30

Os dados encontrados estão em conformidade com Hohenfeld et al. (2013) que verificaram que isolados de *Lasiodiplodia* sp. obtidos de mandioca obtiveram a melhor faixa de crescimento entre 30 e 35 °C. Tavares (2002) descreveu que temperaturas altas, com média em torno de 28°C favorecem o desenvolvimento de *L. theobromae*. Protazio et al. (2014) avaliaram a influência da temperatura em isolados de *Lasiodiplodia* spp. obtidos de plantas de camu-camu, bacuri e murici e obteve maiores índices de crescimento micelial nas temperaturas de 30 a 35°C.

Em relação ao componente de adaptabilidade salinidade, o crescimento micelial *in vitro* para as sete espécies foi máximo na ausência de sal no meio de cultura. Como previsto, com o aumento das concentrações salinas no meio, esse crescimento reduziu significativamente. Houve espécies que apresentaram relativo crescimento na presença de até 2% de NaCl. Um exemplo foi *L. hormozganensis* que apresentou reduzido crescimento naquela concentração, aumentando 24,64% na ausência de NaCl (Figura 4). Para espécies sensíveis, como *L. pseudotheobromae*, esse valor foi de 10,86%.

Um total de 87,5% das espécies apresentaram diferenças significativas entre as concentrações de 0% e 1%, sendo apenas a espécie *L. euphorbicola* a que não diferiu em crescimento micelial entre essas faixas de NaCl no meio. A espécie *L. gonubiensis* não apresentou crescimento micelial a partir de 6% de NaCl no meio de cultura.

A espécie *L. brasiliense* (isolado 71) demonstrou uma alta adaptabilidade relativa (em relação à testemunha) à presença de sal no meio de cultura, pois necessitou de cerca de 2,3% de NaCl no meio para reduzir seu crescimento micelial em 50% (NaCl_{50}) (Figura 5). Esse valor é cerca de 153% maior em relação a espécie com o segundo maior valor. Já *L. pseudotheobromae* (isolado 01) e *L. iraniensis* (isolado 69) foram as espécies mais sensíveis à presença do sal no meio, reduzindo o NaCl_{50} na presença de apenas 0,5% de NaCl no meio de cultura. *L. pseudotheobromae* não apresentou diferenças significativas entre as concentrações a partir de 6%. Isso demonstra que o ambiente ausente em salinidade promove melhores condições para o crescimento desta espécie. À medida que o sal aumenta de concentração no meio, o crescimento micelial diminui. O mesmo ocorreu para *L. hormozganensis*, a partir dos tratamentos de 3% de NaCl; e para *L. iraniensis* nas concentrações a partir de 4%; e para *L. theobromae* e *L. brasiliensis* nas concentrações a partir de 5%.

Resultados semelhantes foram encontrados por Arafat et al. (2013) que estudaram o efeito da salinidade da água de irrigação na redução do crescimento de *L. theobromae*. Os autores identificaram que a concentração de sal capaz de elevar a condutividade elétrica da água de irrigação para 15,63 dS/m² (quantidade correspondente à concentração de 1% de NaCl) foi capaz de reduzir o crescimento do fungo em 17,03%. No presente trabalho, a redução foi de 40,93%, entretanto o nosso experimento foi *in vitro*.

Um estudo de Fujimira et al. (2015) mostrou que espécies fúngicas que apresentam certa resistência ao estresse hídrico apresentam uma mutação de ponto na proteína histidina quinase. Este trabalho foi realizado com isolados de *Botryosphaeriaceae* resistentes a dicarboximidas. Os autores provaram que a mutação induz o acúmulo de glicerol em resposta ao estresse hídrico (dos SANTOS, 2018). Isso demonstra que condições até mesmo adversas para a planta podem ser favoráveis ao crescimento do fungo previamente associado à planta sob estresse (Lima et al, 2013).

Componentes de adaptabilidade, como taxa de crescimento micelial e virulência podem refletir o potencial patogênico dos isolados para se reproduzir, disseminar e estabelecer novas infecções e é utilizado para prever o desenvolvimento de resistência e

também para determinar estratégias de manejo da doença (BRENT, 2007; ISHI, 2015). As espécies em questão não apresentaram custos de adaptabilidade em relação à sensibilidade ao tiofanato metílico, entretanto, a espécie *L. brasiliense*, moderadamente sensível ao fungicida, apresentou maior crescimento micelial em alta concentração salina. Dos Santos et al. (2018) demonstraram que essa capacidade de crescer sob estresse salino é um fenômeno característico em *Botryosphaeriaceae*.

4.4 Conclusões

O tiofanato metílico foi capaz de inibir o crescimento micelial *in vitro* das sete espécies de *Lasiodiplodia*.

L. pseudotheobromae e *L. iraniensis* apresentam maior sensibilidade ao tiofanato metílico, enquanto *L. theobromae* foi a espécie menos sensível ao fungicida.

Em temperaturas extremas (10 e 40°C), as espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleiras não se desenvolveram.

A faixa ótima média de temperatura para o crescimento micelial das espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleira foi 25,3°C.

A maior concentração de NaCl no meio não foi capaz de inibir o crescimento de espécies de *Lasiodiplodia*, sendo *L. brasiliense* a espécie que apresentou maior crescimento micelial em condições de alto estresse salino.

4.5 Referências

AL-JABRI, M.K.; AL-SHAILI, M.; AL-HASHMI, A.; NASEHI, A.; AL-MAHMOOLI, I.H.; AL-SADI, A. M.; Characterization and evaluation of fungicide resistance among *Lasiodiplodia theobromae* isolates associated with mango dieback in Oman. **Journal of Plant Pathology**, v. 99, n. 3, p.753-759, 2017.

ARAFAT, K. H.; MOHAMAD, A. M.; ELSHARABASY, S. Influence of environmental conditions, salinity and root exudates on incidence and disease severity of *Lasiodiplodia theobromae* that caused root rot of date palm offshoots and biocontrolling. **The Journal of Biological Chemistry**, v.8, n,1, p.73-91, 2013.

ARNOLD, A.E.; HERRE, E.A., 2003. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: Ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). **Mycologia** v.95, p.388–398, 2003.

BRENT, K.J.; HOLLOMON, D. Fungicide Resistance in Crop Pathogens: How Can It Crop Pathogens: How Can It Be Managed? **Crop Life: International Fungicide Resistance Action Committee**.v.0, p.60, 2003.

CABRAL, P.G.; **Botryosphaeriales associated with acerola dieback in Brazil and stem-end rot, gummosis, leaf blight and dieback of ornamental, fruit and native trees cultivated near to orchards in Northeastern Brazil**. Tese Doutorado-UFV, Viçosa, 100f, 2017.

CARDOSO, J. E.; LIMA, J. S.; VIANA, F. M. P.; OOTANI, M. A.; ARAÚJO, F. S. A.; FONSECA, W. L.; LIMA, C. S.; MARTINS, M. V. V. First Report of *Lasiodiplodia brasiliensis* causing postharvest fruit rot of custard apple (*Annona squamosa*) in Brazil. **Plant disease**, v. 101, n. 8, p. 1542, 2017

CAVALCANTE, R.D.C.; GUERREIRO LIMA, W.; MARTINS, B.; TOVAR-PEDRAZA; MICHEREFF, J.; CÂMARA, M.P.S. Thiophanate-methyl sensitivity and fitness in *Lasiodiplodia theobromae* populations from papaya in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, 2014.

CORREIA, K.C.; SILVA.; MORAIS JR, M.A.; ARMENGOL, J; PHILLIPS, A.J.L. Phylogeny, distribution and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of table grape in the main Brazilian exporting region. **Plant Pathology** v.65, p.92–103, 2016. NETTO, M.S.B.; LIMA, W. G. Lima; CORREIA, K. C.; da SILVA, C.F.B.; THON, M.; MARTINS, R. N.G.; MICHEREFF, S.J., CÂMARA, M. Analysis of phylogeny, distribution and pathogenicity of *Botryosphaeriaceae* species associated with gummosis of *Anacardium* in Brazil, with a new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Biology**, p. 1-46, 2016.

LIMA, J.S.; CARDOSO, J.E.; MOREIRA, R.C., ALVES, E.S.; MOREIRA, R.C.; ALVES, E.S. Caracterização cultural de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* e patogenicidade em plantas de aceroleira. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n.1, p. 10, 2012.

COUTINHO; I. B. L.; FREIRE, F. C. O.; LIMA, C. S.; Lima, J. S.; GONÇALVES, F. J. T.; Machado, A. R.; Silva, A. M. S.; Cardoso, J. E. Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. **Plant Pathology**, v. 66, n. 1, 2017.

- CROUS, P.W. *Botryosphaeriaceae*: Systematics, pathology, and genetics. **Fungal biology**, v.121, p. 305-306, 2017.
- DOS SANTOS, K.M.; TSUJI, S.S.; CÂMARA, M.P.S.; MICHEREFF, S.J.; LOPES, U.P. Sensitivity to methyl benzimidazole carbamate fungicides of *Botryosphaeriaceae* species from mango orchards in the Northeast of Brazil. **European Journal of Plant Pathology**.
- FUJIMURA, M.; BANNO, S.; ICHIOSHII, A.; FUKUMI, F. (2015). Histidine kinase inhibitors. In H. Ishii & D.R.I. Hollomon, Fungicide resistance in plant pathogens: Principles and a guide to practical management (pp. 181–197). Tokyo: Springer Japan, p. 181–197, 2015.
- ISHII, H.; HOLLOMON, D.W. **Fungicide resistance in plant pathogens**. Springer, p. 485, 2015
- KARAOGLANADIS, G. S.; LUO, Y. MICHAELIDES, T. J. Competitive Ability and Fitness of *Alternaria alternata* Isolates Resistant to QoI Fungicides. **Plant Disease**, v.92, n.2, p. 178-182, 2011.
- MARTINS, M. V. V.; LIMA, J. S.; HAWERROTH, F. J.; OOTANI, M. A.; ARAUJO, F. S. A.; CARDOSO, J. E.; SERRANO, L. A. L.; VIANA, F. M. P. First Report of *Lasiodiplodia brasiliense* Causing Disease in Apple Trees in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 5, p. 1027, 2018.
- MEHL, J.W.M.; SLIPPERS, B.; ROUX, J.; WINGFIELD, M.J. Overlap of latent pathogens in the *Botryosphaeriaceae* on a native and agricultural host. **Fungal Biology**, 2016.
- FOURNET, S.; KERLAN, L. R.; RENAULT, L.; DANTEC, J.P.; ROUAUX, C.; MONTARRY, J. Selection of nematodes by resistant plants has implications for local adaptation and cross-virulence. **Plant Pathology**, p.1-10, 2012.
- MEHLA, J. W.; SLIPPERS, B.; ROUX, J.; WINGFIELD, J. Overlap of latent pathogens in the *Botryosphaeriaceae* on a native and agricultural host. **Fungal Biology**, p. 46, 2016.
- MICHEL, B.E.; RADCLIFFE, D. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. **Agron.J.**, v.87., p. 126-130, 1995.
- MILGROOM, M. G. Population biology of plant pathogens: genetics, ecology, and evolution. **St. Paul: APS Press**, p. 399, 2013.
- PARNELL, S., GILLIGAN, C. A. BOSCH, V.D. 2005. Small-scale fungicide spray heterogeneity and the coexistence of resistant and sensitive pathogen strains. **Phytopathology**, v.95, p.632-639.
- PEIXINHO, G. DE S.; RIBEIRO, V.G.; AMORIM, E.P. DA R. Controle da Podridão seca (*Lasiodiplodia theobromae*) em cachos de videira cv. Itália por óleos essenciais e

- Quitosana. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.1, p.26-31, 2017. STUKENBROCK, E.H.; MCDONALD, B.A. The Origins of Plant Pathogens in Agro-Ecosystems. *Annual Review of Phytopathology*, v. 46, p. 75-100, 2008.
- PEREIRA, A. L.; SILVA, G.S.S.; RIBEIRO, V.B. Caracterização Fisiológica, Cultural e Patogênica de Diferentes Isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p.6, 2006.
- PEREIRA, A. V. S.; MARTINS, R. B.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, M. B.; CÂMARA, M. P. S. Sensitivity of *Lasiodiplodia theobromae* from Brazilian papaya orchards to MBC and DMI fungicides. **European Journal of Plant Pathology**, v.132, p.489–498, 2012.
- AGROFIT. Agrofit, Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 17 mai 2019.
- PITT, W.M.; SOSNOWSKI, M.R.; HUANG, R.; STEEL, C.C.; SAVOCCHIA, S. Evaluation of Fungicides for the Management of *Botryosphaeria* Canker of Grapevines. **Plant disease**, v. 96, n. 9, p. 1303-1308, 2012. ---
- SLIPPERS. B; WINGFIELD, M.J. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal Biology**, v.21, p.90-106, 2007.
- THAGAVELU, R.; SANGEETHA, G.; MUSTAFFA, M.M. Cross-infection potential of crown rot pathogen (*Lasiodiplodia theobromae*) isolates and their management using potential native bioagents in banana. **Australasian Plant Pathology**, v. 36, p.595–60, 2007.
- MARQUES, M. W.; LIMA, N. B.; MORAIS, M.A.; BARBOSA, M.A.; MICHEREFF, S.J.; PHILLIPS, A.J.L.; CÂMARA, M.P.S. Species of *Lasiodiplodia* associated with mango **Fungal Diversity**, v.61, p.181-193, 2013.
- VIEIRA, W.A.S.V.; LIMA, W.G.; NASCIMENTO, E.S.; MICHEREFF, S.J.; REIS, A.; DOYLE, V.P.; CÂMARA, M.P.S. Thiophanate-methyl resistance and fitness components of *Colletotrichum musae* isolates from banana in Brazil. **Plant disease**, v.101, n.9, p. 1660-1665, 2017.
- ZLATICOVIC, M.; KECA, N.; WINGFIELD, M.J.; SLIPPERS, B. *Botryosphaeriaceae* associated with the dieback of ornamental trees in the Western Balkans, **Antonie van Leeuwenhoek**, p.22, 2016.
- HOHENFELD, C. S.; HADDAD, F.; OLIVEIRA, S. A. S. Crescimento micelial de isolados de *Fusarium* sp., *Scytalidium* sp., *Lasiodiplodia* sp. e *Phytophthora* sp., causadores de podridões radiculares em mandioca, sob diferentes temperaturas. In: JORNADA

CIENTÍFICA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL, 7., 2013, Cruz das Almas. Anais... Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2013.

PROTAZIO, D.C.; ISHIDA, A. K. N. ; FREIRE, A. N. R. ; SILVA, C. T. B. . EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE O CRESCIMENTO DE *Lasiodiplodia* spp.. In: 18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós Graduação da Embrapa Amazônia Oriental, 2014, Belém. 18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós Graduação da Embrapa Amazônia Oriental, v.2, 2014.

TAVARES, S. C. C. de H. Epidemiologia e manejo integrado de *Botryodiplodia theobromae* – situação atual no Brasil e no mundo. Fitopatologia Brasileira, v.27, p.46-52. 2002.

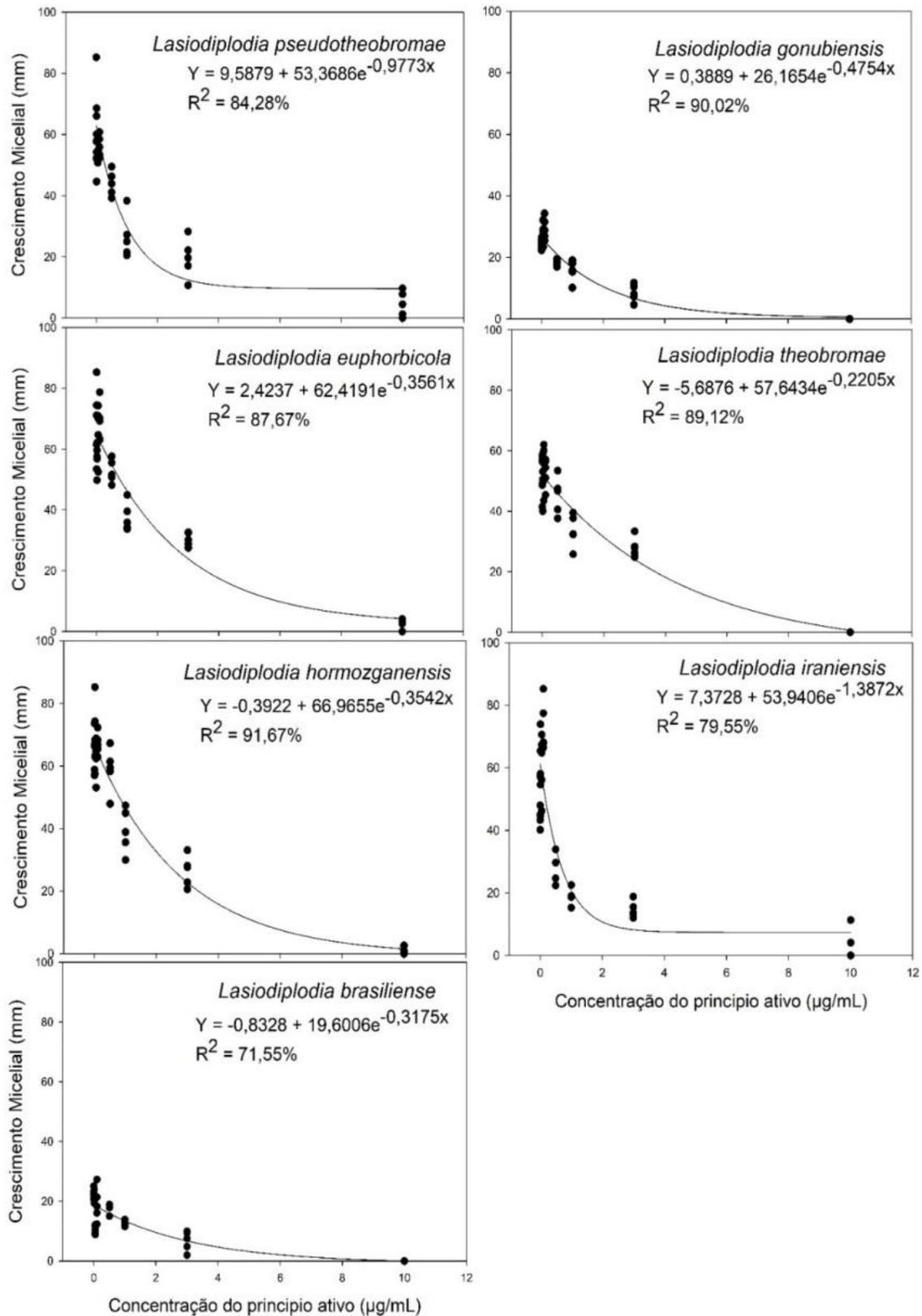


Figura 1. Efeito de concentrações de tiofanato metílico no crescimento micelial de sete espécies de *Lasiodiplodia* isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*), 72 horas após a incubação.

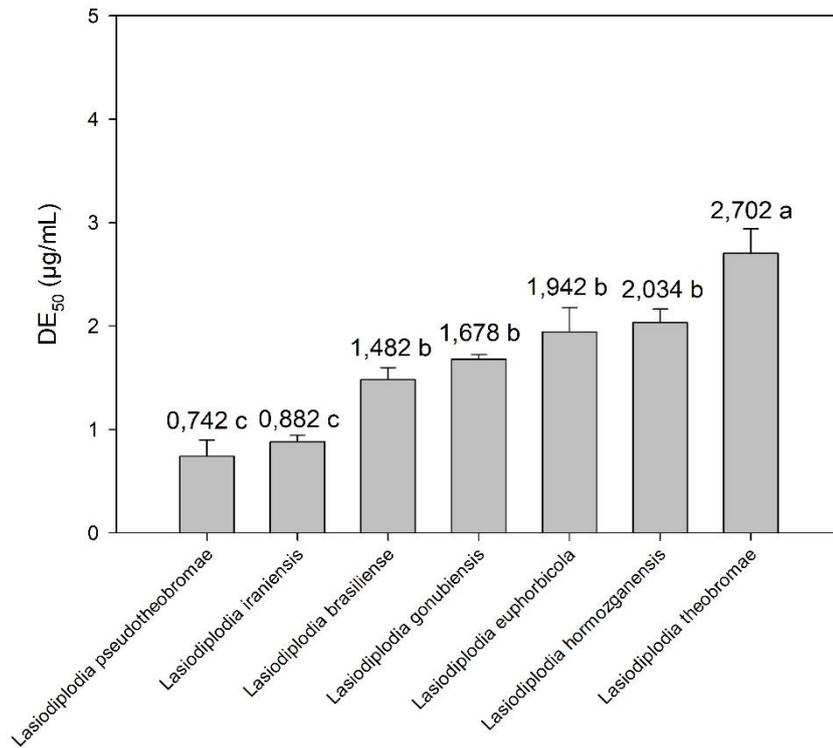


Figura 2. Variação da dose efetiva de tiofanato metílico necessário para inibir 50% do crescimento micelial das diferentes espécies de *Lasiodiplida* spp. isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*).

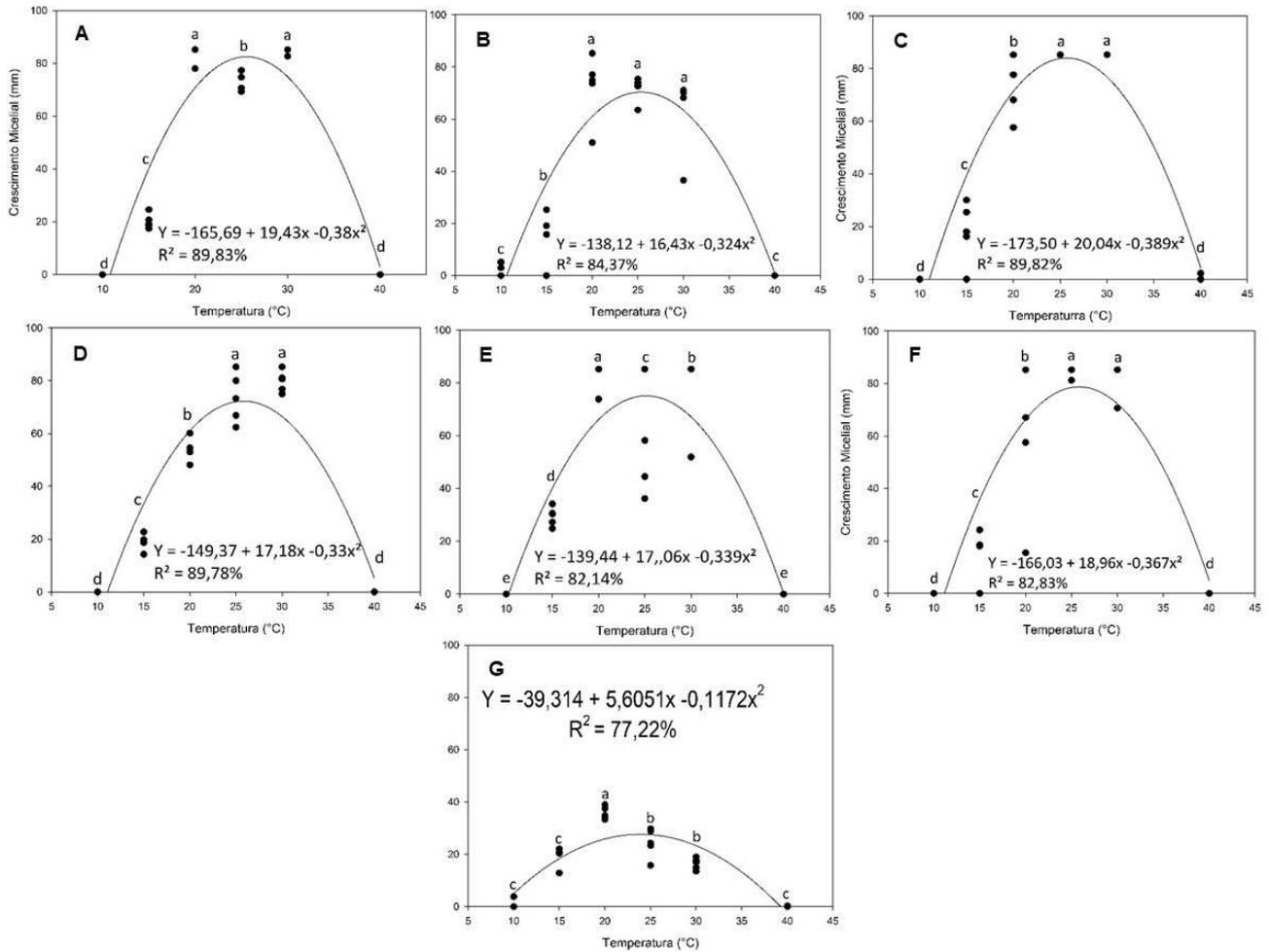


Figura 3. Influência da temperatura no crescimento micelial de sete espécies de *Lasiodiplodia* spp. isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*). Legenda: A) *L. pseudotheobromae*, B) *L. gonubiensis*, C) *L. euphorbicola*, D) *L. theobromae*, E) *L. hormozganensis*, F) *L. iraniensis*, G) *L. brasiliense*.

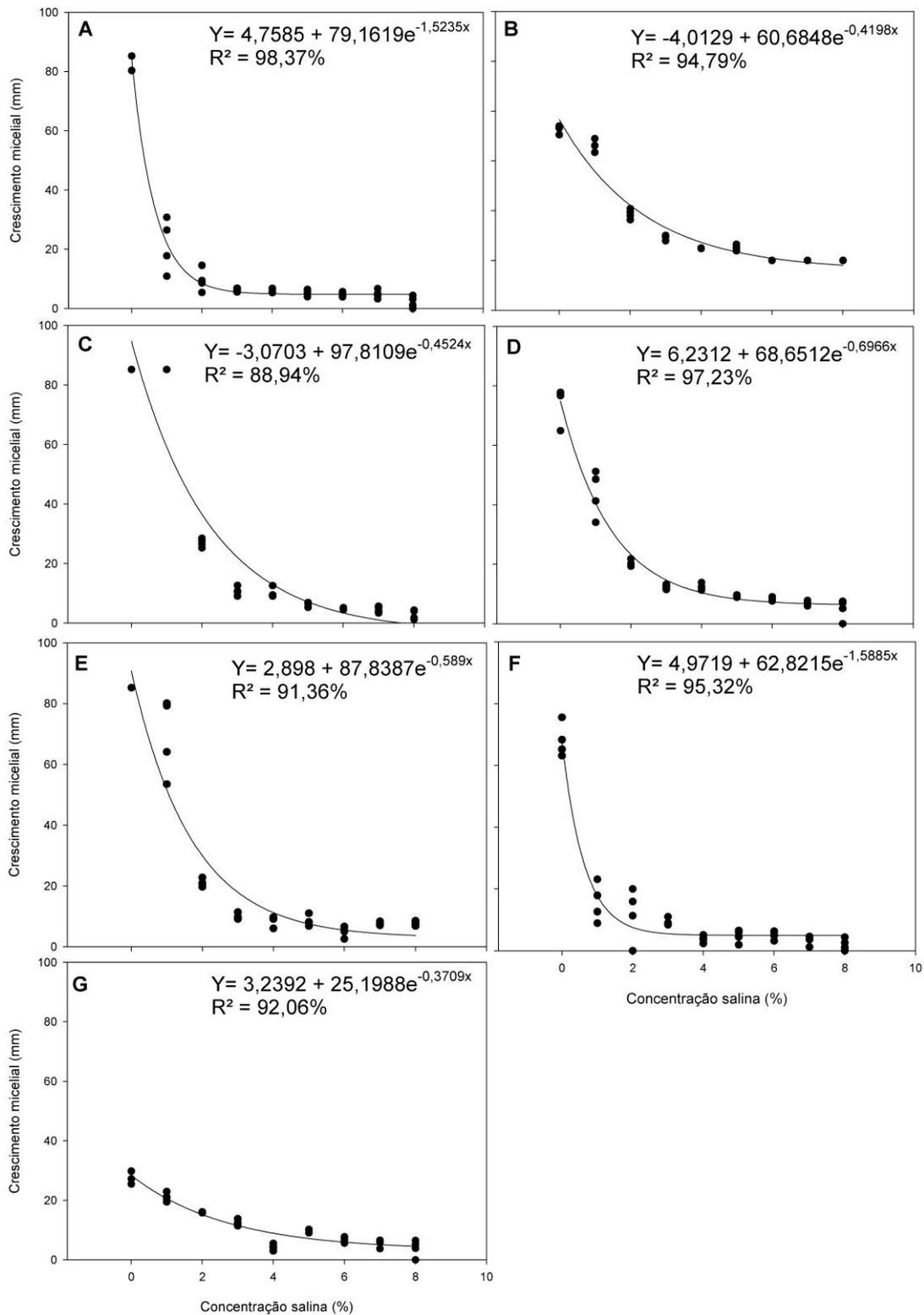


Figura 4. Efeito de concentrações de NaCl no meio de cultura BDA no crescimento micelial de sete espécies de *Lasiodiplodia* isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*). Legenda: A) *L. pseudotheobromae*, B) *L. gonubiensis*, C) *L. euphorbicola*, D) *L. theobromae*, E) *L. hormozganensis*, F) *L. iraniensis*, G) *L. brasiliense*.

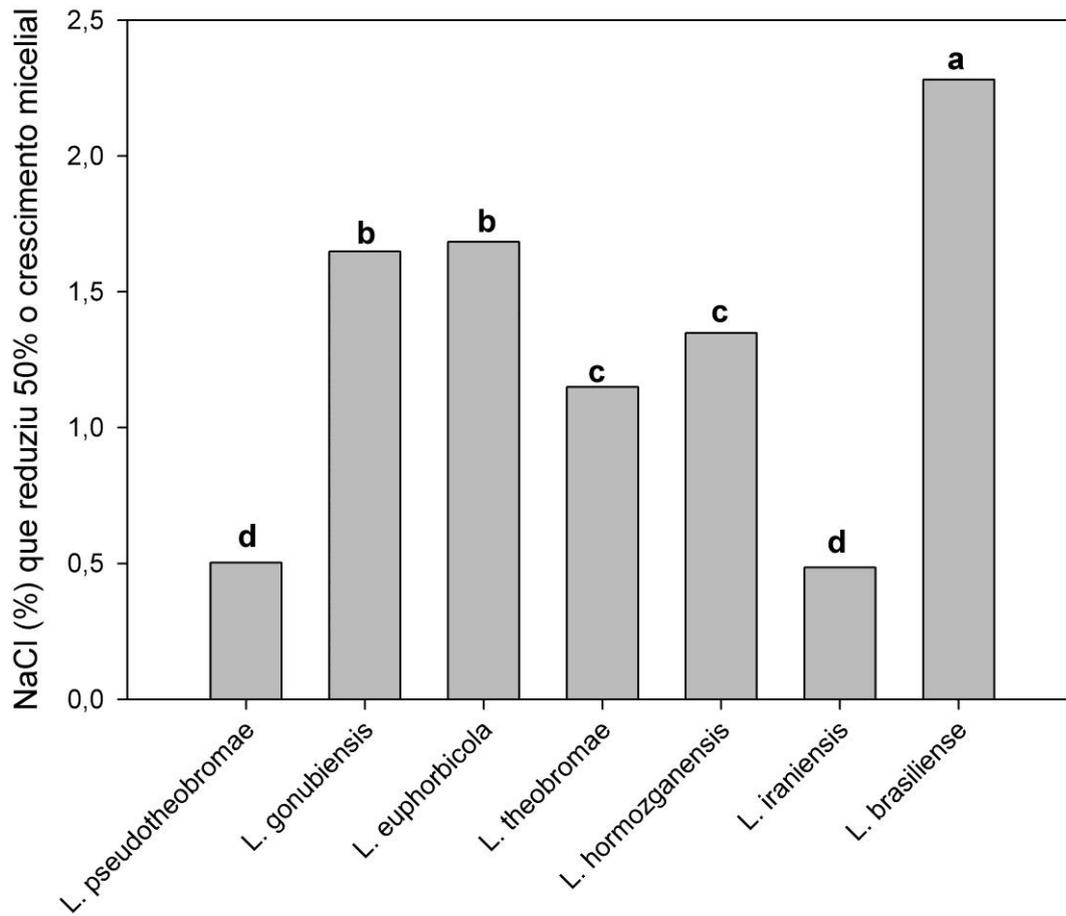


Figura 5. Variação da concentração de NaCl no meio de cultura BDA necessária para inibir 50% do crescimento micelial das diferentes espécies de *Lasiodiplida* spp. isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a gravidade da morte descendente na cultura da aceroleira, a qual pode levar a planta à morte, o presente trabalho fornece as primeiras informações sobre a base da sensibilidade desses agentes causais ao fungicida tiofanato metílico e o comportamento das espécies na presença de estresse salino. Além disso, este estudo pode servir como base para outros no que tange a definição das concentrações de ingrediente ativo nas formulações ou definição de intervalos de aplicações para o manejo da doença em campo. Trabalhos dessa natureza podem ser fundamentais para o manejo de doenças emergentes, uma vez que fungicidas podem ser fitotóxicos em altas doses e apresentar falha de controle em baixas doses, além de possibilitar a seleção de isolados resistentes do patógeno. Por fim, acreditamos que é necessário um estudo mais amplo, com uma maior quantidade de isolados de cada uma das espécies causadores de morte descendente na aceroleira para comprovar se há diferenças na sensibilidade dentro de uma mesma espécie.