



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FLORESTAIS E DA MADEIRA

GABRIEL AZEVEDO CARVALHO

Isolamento de fungos fitopatogênicos associados ao cancro do mogno-africano no  
Espírito Santo

JERÔNIMO MONTEIRO  
ESPÍRITO SANTO  
2023



GABRIEL AZEVEDO CARVALHO

Isolamento de fungos fitopatogênicos associados ao cancro do mogno-africano  
no Espírito Santo

Monografia apresentada ao Departamento  
de Ciências Florestais e da Madeira do  
Centro de Ciências Agrárias e Engenharias  
da Universidade Federal do Espírito Santo,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de Bacharel em Engenharia Florestal.

JERÔNIMO MONTEIRO

ESPÍRITO SANTO

2023

GABRIEL AZEVEDO CARVALHO

**Isolamento de fungos associados ao cancro do mogno africano no  
Espírito Santo.**

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia Florestal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Aprovação em: 26 de julho de 2023.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 LAIANE SILVA MACIEL  
Data: 27/07/2023 10:57:48-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

**Dr<sup>a</sup>. Laiane Silva Maciel**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Avaliador

Documento assinado digitalmente  
 MARCOS VINICIUS WINCKLER CALDEIRA  
Data: 26/07/2023 21:32:41-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

**Prof. Dr. Marcos Vinicius Winckler Caldeira**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Avaliador

Documento assinado digitalmente  
 ANDRE DA SILVA XAVIER  
Data: 26/07/2023 17:56:44-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

**Prof. Dr. André da Silva Xavier**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientador

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Alcenor Lopes Carvalho e a Maria do Carmo Azevedo Carvalho. Ao meu irmão Matheus Azevedo Carvalho. À Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes). Ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAUE-Ufes). Ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira (DCFM). A todos os professores do CCAUE-Ufes, entre eles não poderia deixar de mencionar o Professor José Carlos Lopes que desde o início da graduação me incentivou e orientou. Agradeço a professora Elzimar de Oliveira Gonçalves e ao professor Henrique Machado Dias pelas orientações. Ao professor André da Silva Xavier pela oportunidade, ensinamentos e paciência. Sou grato a Vanessa Sessa Dian pelo auxílio com as metodologias do laboratório e ao Pedro Henrique que igualmente se esforçou para a realização desse estudo. Agradeço também aos amigos Breno Oliveira, Emanuel Bizareli de Moraes, Francisco de Oliveira Rocha Junior, Gabriela Aguiar Amorim, Lavínia Botelho Mendes, Luiz Otávio Portella Cancio, Raquel Fernandes Zorzanelli, Raul Jacobem, Ricardo Sodré.

## RESUMO

O gênero *Khaya* atualmente inclui seis espécies, sendo elas: *K. anthotheca*, *K. comorensis*, *K. grandifoliola*, *K. ivorensis*, *K. madagascariensis* e *K. senegalensis*. São nativas de regiões tropicais, pertencentes a África continental subtropical, Madagascar e Comores. Sua madeira é altamente apreciada pelos aspectos tecnológicos e beleza. É relatado por diversos autores a presença de cancro em plantios de *Khaya* spp., os sintomas dessa doença, até então, foram associados apenas a uma espécie de fungo, *Lasiodiplodia theobromae* (*Botryosphaeriales*) a partir de levantamentos em plantios de *K. ivorensis* no estado do Pará. Objetivou-se com o presente estudo o isolamento e caracterização morfológica de fungos fitopatogênicos associados ao cancro em *Khaya ivorensis* no Espírito Santo. Foi feita a amostragem em árvores plantadas no Viveiro Florestal Universitário, localizado no Departamento de Ciências Florestais e da Madeira (CCAUE/Ufes), Jerônimo Monteiro. As amostras de ritidoma foram levadas ao Laboratório de Biotecnologia Agrícola e Ambiental (BIOTA), situado em Alegre e cultivados em BDA (Batata-Dextrose-Ágar) e postos em incubadora DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) até o desenvolvimento das colônias fúngicas. Com as colônias desenvolvidas as mais frequentes foram selecionadas e repicadas para caracterização. Para confecção de lâminas, foi feita a raspagem das colônias nas porções mais envelhecidas por meio de ponteiros de 100 microlitros, os fragmentos retirados foram corados com azul de metila e então feita a análise microscópica. Foram encontrados três isolados com características morfo-culturais de *Botryosphaeriales* com colônias cinzentas e presença de picnídios. Não foi possível observar os ascósporos no isolado 1, enquanto o isolado 2 apresentou ascósporos hialinos, fusiformes, asseptados, semelhantes aos gêneros *Botryosphaeria* spp. e *Neofusicoccum* spp., já no isolado 3, pode-se notar ascósporos dematiáceos de forma cilíndrica a elipsoidal e presença de um septo, dividindo os ascósporos em duas partes, assemelhando-se ao gênero *Lasiodiplodia* spp. e *Dothiorella* spp. A presença de picnídios, coloração e aspecto das colônias auxiliaram na seleção de diferentes isolados de *Botryosphaeriales*; as espécies encontradas nesse estudo apresentam similaridade morfocultural com espécies responsáveis pelo cancro em mogno africano e em outras espécies florestais, porém testes de patogenicidade e análises moleculares serão necessários para uma maior compreensão sobre a etiologia do cancro do mogno-africano. De acordo com os resultados, surge uma hipótese para uma possível etiologia complexa, podendo a doença estar associada a outro(s) fungo(s) fitopatogênico(s), além de *L. theobromae*.

**Palavras-chaves:** *Khaya*; Doenças de plantas; Etiologia; Fitopatógenos; Botryosphaeriaceae.

## ABSTRACT

The genus *Khaya* currently includes six species, namely: *K. anthotheca*, *K. comorensis*, *K. grandifoliola*, *K. ivorensis*, *K. madagascariensis*, and *K. senegalensis*. They are native to tropical regions in continental Africa, Madagascar, and Comoros. Their wood is highly valued for its technological properties and beauty. Several authors have reported the presence of canker in *Khaya* spp. plantations, and the symptoms of this disease have so far been associated only with one species of fungus, *Lasiodiplodia theobromae* (Botryosphaerales), based on surveys conducted in *K. ivorensis* plantations in the state of Pará. The objective of this present study was to isolate and morphologically characterize phytopathogenic fungi associated with canker in *Khaya ivorensis* in Espírito Santo. Sampling was performed on trees planted in the University Forest Nursery, located at the Department of Forestry and Wood Sciences (CCAUE/Ufes), Jerônimo Monteiro. Bark samples were taken to the Agricultural and Environmental Biotechnology Laboratory (BIOTA), situated in Alegre, and cultivated on Potato Dextrose Agar (PDA) and incubated at Biochemical Oxygen Demand (BOD) until fungal colonies developed. Among the developed colonies, the most frequent ones were selected and subcultured for further characterization. For slide preparation, scraping of the colonies' older portions was done using 100-microliter pipette tips. The removed fragments were stained with methylene blue and then subjected to microscopic analysis. Three isolates with morpho-cultural characteristics of Botryosphaerales were found, displaying gray colonies and the presence of pycnidia. Ascospores were not observed in isolate 1, while isolate 2 presented hyaline, fusiform, aseptate ascospores similar to the genera *Botryosphaeria* spp. and *Neofusicoccum* spp. On the other hand, isolate 3 exhibited dematiaceous ascospores, cylindrical to ellipsoidal in shape, with a single septum, resembling the genera *Lasiodiplodia* spp. and *Dothiorella* spp. The presence of pycnidia, colony appearance, and coloration aided in the selection of different isolates of Botryosphaerales; the species found in this study show morphocultural similarities with species responsible for canker in African mahogany and other forest species. However, pathogenicity tests and molecular analyses will be necessary for a better understanding of the etiology of African mahogany canker. According to the results, a hypothesis arises regarding a possible complex etiology, where the disease may be associated with other phytopathogenic fungus(es), in addition to *L. theobromae*.

**Keywords:** *Khaya*; Plant diseases; Etiology; Phytopathogens; Botryosphaeriaceae.

# Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	3
1.1.1 Objetivo geral:.....	3
1.1.2 Objetivos específicos: .....	3
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1 <i>Khaya</i> spp.....	4
2.2 Cancro em espécies lenhosas .....	5
2.3 Cancro do mogno-africano .....	7
2.4 Botryosphaeriales .....	8
2.4.1 Botryosphaeriaceae .....	10
3 METODOLOGIA.....	12
3.1 Coleta de amostras do ritidoma de <i>Khaya ivorensis</i> .....	12
3.2 Isolamento, repicagem e armazenamento das espécies fúngicas.....	13
3.3 Obtenção de lâminas e análise morfológica .....	15
4 RESULTADO E DISCUSSÃO .....	16
5 CONCLUSÃO.....	19
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	20

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Plantio de *Khaya ivorensis* A.Chev. localizado no Viveiro Florestal Universitário com aproximadamente 15 anos. **a**, *Khaya ivorensis* com cancro; **b**, gemas revestidas por catáfilos; **c** e **d**, fruto do tipo capsula ceptífraga geralmente encontrado com 5 (**c**) lóculos, porém pode ser observado frutos com 4 lóculos (**d**). ... 5
- Figura 2 – Plantio de mogno africano localizado no Viveiro Florestal Universitário. **a**, **b** e **c**, sintomas característicos do cancro do mogno; **d**, sinais do agente causal; **e** e **f**, sintomas de cancro ao longo do fuste; **g** e **h**, cancro em zonas de bifurcações; **i**, árvores infectadas. .... 13
- Figura 3 - Coleta de amostras de cancro em *Khaya ivorensis*. **a**, canivete utilizado para coleta; **b**, zona de coleta assintomática; **c**, armazenamento das amostras. .... 13
- Figura 4 - Meio de cultura Ágar Batata Dextrose (BDA). **a**, frasco de BDA; **b**, preparo de meio de cultura. .... 14
- Figura 5 - Acessórios e equipamento utilizados em Laboratório. **a**, placa de Petri; **b**, lamparina; **c**, ponteiras de 100 mililitros; **d**, caixa de ponteiras. .... 14
- Figura 6 - Cabine de Fluxo Laminar. **a**, luz ultravioleta ativada; **b**, repicagem dos isolado. .... 15
- Figura 7 - Microscópio utilizado para análise morfológica. .... 15
- Figura 8 - Colonias fúngicas ao sexto dia de isolamento: **a**, isolado 1; **b**, isolado 2 e **c**, isolado 3. .... 18
- Figura 9 - Colonias fúngicas com aproximadamente um mês de cultivo. Os isolados 2 e 3 apresentaram colônias cinzentas, já o isolado 1 apresentou colônias esbranquiçadas. .... 18
- Figura 10 - Ascósporos: **a** e **b**, isolado 2; **c** e **d**, isolado 3. .... 18

## 1. INTRODUÇÃO

A Família Meliaceae (Sapindales) apresenta distribuição Pantropical, onde muitas espécies são frequentemente encontradas em formações florestais, como as *Trichilia* spp. Esse gênero é representativo no Brasil com diversas espécies, algumas raras e sensíveis ao efeito de degradação ambiental devido a perda de habitat e redução do fluxo gênico. O declínio de populações nativas e a restrição da base genética também é um problema enfrentado por outras espécies da família, como a *Swietenia macrophylla* e *Cedrela fissilis*. Tais espécies possuem importância econômica e são cultivadas em diversas regiões do país, principalmente pelo alto valor agregado de suas madeiras. A exploração dessas espécies muitas vezes se deu de forma predatória, o que explica a inclusão no livro vermelho da flora do Brasil (Pinheiro *et al.*, 2011; Martinelli & Moraes, 2013). Grande parte das espécies do gênero *Khaya* são classificadas como vulneráveis, pela Lista de Espécies Ameaçadas de Extinção da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2022). Sua regeneração natural é dificultada pela alta demanda do mercado internacional, juntamente com o ataque da broca *Hypsipyla robusta* aos indivíduos regenerantes (Ofori *et al.*, 2007).

O termo mogno tem sido amplamente utilizado para designar diferentes espécies, estando vinculado a aparência da madeira e não se relacionando aos aspectos tecnológicos. Em *stricto sensu* o mogno se refere a madeira das espécies do gênero *Swietenia*, em *lato sensu* se refere as espécies da família Meliácea. Desde o ano de 1694 o termo mogno está presente no vocabulário francês. Em meados de 1600 Jamaica e Cuba já exportava madeiras de mogno para a Europa; por volta 1700 a madeira de mogno estava presente no mercado de Londres por meio de piratarias, como saques a embarcações espanholas. O mogno das Antilhas foi classificado inicialmente por Carl von Linné como *Cedrela mahogany*. Posteriormente, Nicolas Joseph Jacquin forneceu a nomenclatura aceita atualmente para a espécie: *Swietenia mahogany*, dedicada ao Gerald von Sweeten (Normand e Sallenave, 1958; Lamprecht, 1990; Pinheiro *et al.*, 2011).

No Brasil, um dos principais gargalos para a produção madeireira de meliáceas nativas como *Cedrela fissilis* e a *Swietenia macrophylla* é o ataque da broca das meliáceas (*Hypsipyla grandella*). A broca ataca as gemas apicais, gerando ramificações laterais e perda do valor comercial da madeira, restringindo a silvicultura de muitas espécies da família. Nesse cenário temos a introdução das espécies do gênero *Khaya* no território brasileiro, pois representam uma alternativa silvicultural e

madeira ao mogno-brasileiro (*Swietenia macrophylla*). O novo ambiente apresenta condições edafoclimáticas semelhantes ao continente de origem. Ademais, o gênero também apresenta maior resistência ao ataque da *H. grandella* (Ferreira *et al.*, 2005, Batista, 2005; Conde, 2006; Lorenzi *et al.*, 2003; Carvalho, 2007; Dionisio *et al.*, 2016; Oliveira, 2019) embora seja possível encontrar relatos de ataques em plantio comerciais (Zanetti *et al.*, 2017 e Lemes *et al.*, 2019). A introdução do gênero *Khaya* é relativamente recente em vários países, o que justifica os poucos estudos associados à fitossanidade. Em 1976, foram plantados os primeiros exemplares de *Khaya ivorensis* no Brasil, na sede da Embrapa Amazônica Oriental, em Belém no Pará. (Falesi; Baena, 1999).

Dentre os agentes causais de doenças de plantas os fungos ganham destaque devido a diversidade de espécies. Há uma variedade de espécies fúngicas que podem estar associadas a doenças de planta. Independente de qual for a espécie vegetal há uma correspondência de fungos com potencial fitopatogênico e a mesma espécie de fungo também pode estar associado a doença em diferentes espécies vegetais (Agrios, 2005). Fungo fitopatogênicas continuamente provocam prejuízos consideráveis, causando danos às culturas e conseqüentemente perdas econômicas, podendo refletir na economia de países. No Brasil existem diversas doenças fúngicas de importância econômica, como a Sigatoka-negra, uma grave doença de bananeira que está presente no país desde a década de quarenta. O mal-das-folhas da seringueira provocado pelo *Microcyclus ulei*, um Botryosphaerales que dizimou extensos seringais na Amazônia. Essa doença acarretou em perdas em outras regiões do país, provocando severa desfolha e reduzindo a vida útil do vegetal (Vale *et. al.*, 2004).

É relatado por diversos autores a presença de cancro em plantios de *Khaya* spp. Os sintomas geralmente são associados aos Botryosphaerales. Essa ordem representa ascomicetos de hábitos variados, comumente endófitos, permanecendo quiescentes até que algum estresse seja provocado a planta hospedeira (Slippers & Wingfield 2007; Slippers *et al.* 2017). Muita espécie de Botryosphaerales tem sido associada a doenças vasculares em plantas superiores, principalmente em angiospermas. O sucesso da infecção e a suscetibilidade das árvores ao ataque do patógeno estão intimamente ligadas às condições ambientais. A infecção do fungo pode ter origem em orifícios, como estômatos ou injúrias, abaixo das lesões provocadas pelo patógeno ocorre superbrotações, provocando mal formação do fuste e tornando-as impróprias para a produção de madeira. Em alguns casos pode ocorrer até mesmo a morte do indivíduo (Reche, 2009).

A silvicultura aplicada em espécies de meliáceas vem sendo desenvolvida no Brasil e gerando resultados. Entretanto, para atingir o máximo potencial produtivo novos desafios precisam ser superados e é necessário adequar metodologias para cada espécie cultivada (Oliveira, 2019). A antropização do ambiente, perda de diversidade e alterações climáticas pressionam a comunidade vegetal. As alterações ambientais proporcionam situações de estresse ao vegetal, prejudicando sua sanidade e facilitando os processos infecciosos. Portanto, em cenário de mudanças globais o estudo acerca da patologia de espécies vegetais ganha relevância (Desprez-Loustau *et al.*, 2007, Sturrock *et al.*, 2011). O cancro do mogno africano tem sido associado a espécies de Botryosphaerales por alguns autores. Para aprimorar o controle acerca da disseminação desses patógenos é necessária uma compreensão clara da diversidade desses organismos, assim como a identificação precisa das espécies. Dado isso, as estratégias de manejo podem ser empregadas adequadamente, bem como o ajuste de regulamentos de quarentena, resultando em um produto final de maior qualidade.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo geral:**

Isolar e caracterizar morfológicamente fungos associados aos tecidos sintomáticos de cancro em *Khaya ivorensis*.

### **1.1.2 Objetivos específicos:**

Realizar o isolamento dos fungos associados aos sintomas de cancro;

Caracterizar morfológicamente espécimes de maior frequência;

Revisão

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Khaya* spp.

O gênero *Khaya* atualmente inclui seis espécies, sendo elas: *K. anthotheca*, *K. comorensis*, *K. grandifoliola*, *K. ivorensis*, *K. madagascariensis* e *K. senegalensis*. Podem apresentar médio a grande porte, são nativas de regiões tropicais, pertencentes a África continental subtropical, Madagascar e Comores (Panshin, 1933; Pinheiro *et al.*, 2011; CITES, 2022). Tal gênero é caracterizado por apresentar folhas paripenadas, com folíolos inteiros, opostos ou alternos, apresenta gemas revestidas por catafilos. A inflorescência é definida, as flores são pequenas e unissexuais, podendo ser tetrâmeras ou pentâmeras, os filetes dos estames são unidos, os frutos consistem em cápsulas lenhosas septífragas, (Flores, 2020). Sua taxonomia é dificultada pela semelhança entre as espécies, principalmente as originárias do leste da África e no Congo (Guimarães *et al.*, 2004). Em campo os indivíduos de *Khaya* spp. podem ser identificados com base em suas características morfológicas, embora a variabilidade intraespecífica dificulte a identificação de indivíduos com características intermediárias, podendo se tratar de híbridos (Bouka Dipelet, 2019). Sua madeira é altamente apreciada pelos aspectos tecnológicos e beleza (Arnold, 2004) o que têm embasado o investimento na silvicultura de mogno-africano em áreas tropicais mundiais (Ribeiro *et al.*, 2017). O autor Lemmens (2008) destaca seu uso em lutheria para fabricação de instrumentos musicais, como violões, guitarras e contrabaixos, devido a qualidade acústica dessa madeira.

Autores como Santos *et al.* (2020) concluíram que a madeira *k. ivorensis* apresentou características tecnológicas adequadas para movelaria e construções externas, mostrando potencial competitivo para atuar no setor. Pela alta demanda dessa madeira, o gênero sofre ameaça em seu continente de origem principalmente por conta da demanda internacional, o que afeta as suas populações nativas, pois já sofrem com a baixa taxa de regeneração natural (CITES, 2022).

Entre os grandes importadores da madeira de espécies de mogno pode-se destacar a China. Entre os anos de 2015 e 2019 a China importou produtos de mogno equivalente a 23 milhões de kg de *Khaya* spp. Outros importantes importadores são os Estados Unidos da América e a União Europeia. O gênero *Khaya*, com exceção da espécie *K. comorensis*, foram categorizadas como vulnerável pela IUCN em 1998, apenas *K. madagascariensis* foi atualizado em 2020 (CITES, 2022). Em 2022, na 19ª Conferência das Partes da Convenção sobre Comércio Internacional de Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (CITES) foram incluídos os mognos

africanos em sua listagem de espécies ameaçadas, reforçando a atenção para sua utilização e comercialização.

O relatório final lançado pela CITES afirmou que a exploração de *Khaya* em populações nativas é considerada uma ameaça primária para o gênero. A inclusão das *Khaya* spp. na listagem da CITES fomenta o mercado exterior de madeira sustentável, onde o controle de origem é atestado, como o caso de muitos plantios brasileiros (ABPMA, 2023). Estima-se que há por volta de 66.300 hectares plantados de *Khaya* distribuídos por 9 estados brasileiros, em grande parte no estado de Minas Gerais (66 % dos plantios). Desses 66.300 ha, 42.000 ha são plantios de *K. grandifoliola*, 23.000 ha de *K. senegalensis*, 800 ha de *K. anthotheca* e 500 ha de *K. ivorensis*. O espaçamento utilizado em plantios no Brasil é variável, desde plantios com 3 m x 3 m até espaçamentos mais amplos como 5 m x 5 m, 6 m x 5 m ou 6 m x 6 m (Scolforo e Ferraz Filho 2014). Em uma roda de conversas da Associação Brasileira dos Produtores de Mogno Africano em agosto de 2021, acerca dos custos da implantação de povoamentos de *Khaya* constatou-se que o valor investido era em torno de R\$10.000,00 por hectare (ABPMA, 2023).

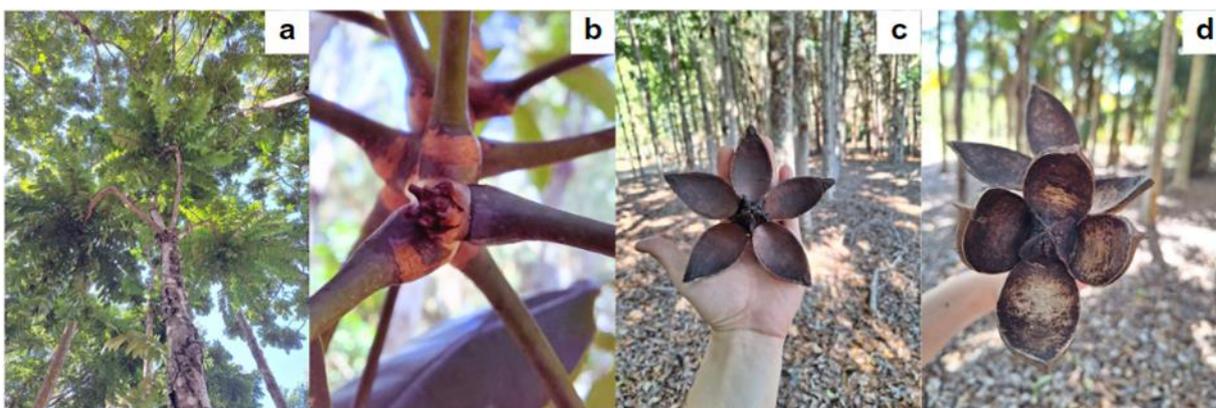


Figura 1: Plantio de *Khaya ivorensis* A.Chev. localizado no Viveiro Florestal Universitário com aproximadamente 15 anos. **a**, *Khaya ivorensis* com cancro; **b**, gemas revestidas por catáfilos; **c** e **d**, fruto do tipo capsula ceptífraga geralmente encontrado com 5 (**c**) lóculos, porem pode ser observado frutos com 4 lóculos (**d**).

Fonte: Autoria própria, 2023

## 2.2 Cancro em espécies lenhosas

O cancro no ritidoma é caracterizado pela necrose, gomose e brotamento excessivo acima das zonas afetadas (Amorim, 2016). Porções próximas do caule podem apresentar estrias (Úrbez-Torres e Gubler, 2009) e assim acarretando a morte de brotos e ramos em plantas jovens, precedido por uma descoloração escura da medula e alburno nas regiões circundantes (Smith *et al.*, 1994). O início do processo infeccioso ocorre por meio de ferimentos ou aberturas naturais. Para que a infecção ocorra é necessário que haja suscetibilidade das árvores a infecção. A predisposição

ao início do processo infecciosos está intimamente relacionado as condições genéticas e o ambientais, altas e baixas temperaturas, umidade e outras formas de estresse contribuem com a infecção, causando cancos em caules e galhos, podendo provocar morte (Amorim, 2016). Em 1994, na África do Sul, Smith *et al.* estudando cancro em espécies de *Eucalyptus* spp. relataram a presença de *Botryosphaeria dothidea* em tecidos sintomáticos, o fungo já havia sido associado em espécie de eucalipto anteriormente (Crous *et al.*, 1989), porém não havia sido associado aos sintomas de cancro. O cancro em eucalipto tem sido tratado como uma das principais causas de perda de qualidade do produto, impedindo a sua utilização pelas indústrias.

Pérez *et al.* (2017) relata a perda de 70 % da massa e uma redução energética. Na Etiópia algumas espécies de fungos vêm sendo associados ao cancro em eucalipto, como *Teratosphaeria zuluensis*, *Botryosphaeria dothidea* e *Botryosphaeria parvum* (atualmente *Neofusicoccum parvum*) (Alemu *et al.*, 2003a; Alemu *et al.*, 2003b; Alemu *et al.*, 2005; Pérez *et al.*, 2009b; Aylward *et al.*, 2018). Admasu *et al.* (2022) apontam, por meio de análise morfológica e molecular, três espécies coinfectantes de fungo, causadores de cancro em *E. camaldulensis* na Etiópia, sendo eles: *Neofusicoccum parvum*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Aplosporella hesperidica* (Botryosphaeriales), espécies de distribuição continental. Outra Myrtaceae atacada por Botryosphaeriaceae é o *Syzygium cordatum*, espécie nativa da África do Sul. Pavlic *et al.* (2007) identificou 8 espécies desses fungos (*N. ribis*, *N. parvum*, *N. luteum*, *N. australe*, *N. mangiferae*, *B. dothidea*, *L. theobromae* e *L. gonubiensis*), por meio de coleta de folhas e galhos infectados, todas elas apresentam capacidade de infectar e causar lesões nos caules em clones de *E. grandis* x *camaldulensis*.

Na cultura do cajueiro no semiárido nordestino, a gomose, causada pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae* é apontada como a principal doença de seu cultivo (Moreira *et al.*, 2013). A hipótese de transmissão do patógeno é por meio de plântulas assintomáticas, pois o fungo apresenta comportamento endofítico (Cardoso *et al.*, 2009). Desta forma, autores como Alves *et al.* (2020) concluem que o volume das chuvas e as temperaturas máximas e mínimas não se relacionam diretamente com a gomose do cajueiro; por outro lado a amplitude térmica, altitude e latitude são os principais fatores ambientais envolvidos na gomose do cajueiro; foi identificado também que sua ocorrência é similarmente entre os municípios com variáveis climáticas semelhantes. Na Califórnia, McDonald *et al.* (2009) fizeram o primeiro relato de *Neofusicoccum australe*, *N. luteum* e *N. parvum* associado ao cancro do abacate, os sintomas observados incluíam escurecimento da casca, aspecto friável e seco, exsudato branco e pulverulento.

Espécies de Botryosphaeriaceae (*Botryosphaeria dothidea*, *B. stevensii*, *B. obtusa* e *N. australe* por exemplo) são reconhecidos pela doença no tronco de videiras, causando cancrs e outros sintomas de morte nas principais regiões vitícolas do mundo (Lehoc-zky, 1974; Phillips, 1998; Larignon e Dubos, 2000; Niekerk *et al.* 2004, Úrbez-Torres e Gubler, 2009). A maioria dos fungos isoladas de amendoeiras (*Prunus* spp.) nos estudos de Gramaje *et al.* (2012) são conhecidas por serem também patógenos de videiras, como consequência uma espécie pode vir a ser fonte de inóculo a outra. Em um estudo acerca da diversidade de espécies de Botryosphaeriaceae em amêndoas californianas, Inderbitzin *et al.* (2010) relataram seis novos registros para o hospedeiro, sugerindo que além da *B. dothidea* outras espécies como *Neofusicoccum* spp. podem estar envolvidas na formação do cancro.

### 2.3 Cancro do mogno-africano

A necrose dos tecidos é induzida pela ação do patógeno, a área afetada desenvolve-se anormalmente, forma rachaduras e escurece, culminando na formação de pequenos cancrs. Por sua vez, progridem para a descamação da casca e formação de novos cancrs, gerando nós e podendo promover a rebrota da espécie arbórea. Ciclos de infecções e rebrota resultam no desenvolvimento de ramos laterais, o que prejudica a qualidade do fuste, podendo também levar a espécie arbórea à morte (Reche *et al.*, 2009, Souza *et al.*, 2015).

Os primeiros registros de ocorrência de cancro em *Khaya* spp. no Brasil remontam a 1998, na região da Bahia (MÜLLER *et al.*, 2002). Naquela ocasião, constatou-se uma diversidade de microrganismos presentes na área lesada. Um teste de patogenicidade foi conduzido utilizando um isolado de *Fusarium solani*; No entanto, os sintomas observados não correspondiam aos observados em condições de campo. Tremacoldi *et al.* (2013) relataram a presença do cancro em plantios de *K. ivorensis* no estado do Pará, atribuindo o *Lasiodiplodia theobromae* como agente causal. Na região do Triângulo Mineiro foram observados cancrs em troncos de *K. grandifoliola*, atingindo uma incidência média de 12 %, foi registrado o máximo de 45 % em uma parcela, sua ocorrência foi associada a mariposa de focinho (*Ectomyelois muriscis*) (Coelho *et al.*, 2021). Do Carmo *et al.* (2018) relataram em seus estudos a presença de manchas aureoladas nas folhas e cancrs nos troncos de *Khaya ivorensis*, em Janaúba, Minas Gerais (Do Carmo *et al.*, 2018). Souza *et al.* em 2015, caracterizaram a ocorrência de cancro em plantios comerciais de *K. ivorensis* em sete municípios do estado de Minas Gerais e em Castanhal, no Pará. Na Bahia, Reche *et al.* (2009) estudaram *K. ivorensis* com sintomas de cancro, causado por *Botryosphaeria rhodina*, fornece evidências de que o limonóide angolensato de metila

está presente em maiores concentrações em árvores com sintomas de cancro, desempenhando um papel no patossistema, provavelmente como uma fitoanticipina.

## 2.4 Botryosphaeriales

A Ordem Botryosphaeriales (Dothideomycetes) foi introduzida em 2006 para acomodar a família Botryosphaeriaceae, pois estudos filogenéticos demonstraram que seu clado não poderia ser associado a outro (Schoch *et al.* 2006), em 2017 Wijayawardene *et al.* propuseram 9 famílias: Aplosporellaceae, Botryosphaeriaceae, Endomelanconiopsisaceae, Melanopsaceae, Phyllostictaceae, Planistromellaceae, Pseudofusicoccumaceae, Saccharataceae e Septorioideaceae. Atualmente, seis famílias são aceitas em Botryosphaeriales: Aplosporellaceae, Botryosphaeriaceae, Melanopsaceae, Phyllostictaceae, Planistromellaceae e Saccharataceae (Phillips *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2021). Algumas famílias foram sinonimizadas, como Endomelanconiopsisaceae atualmente pertence a um clado dentro de Botryosphaeriaceae, enquanto Pseudofusicoccumaceae e Septorioideaceae foram sinonimizadas e formam clados distintos em Phyllostictaceae e Saccharataceae, respectivamente (Phillips *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2021; Rathnayaka *et al.*, 2023). Grande parte dos táxons em Botryosphaeriales são endófitos, comumente associados a espécies lenhosas, infectam galhos, folhas, frutos e sementes, podem viver por longos períodos nos tecidos saudáveis de plantas lenhosas, seu hábito alimentar pode ser variado, de saprobiótico a patogênico (Slippers, B.; Wingfield, M.J.; 2007). As características morfológicas variam entre as famílias desta ordem. Os ascósporos podem ser pigmentados ou hialinos, septadas ou asseptadas, com (Melanopsaceae e Phyllostictaceae) ou sem bainha mucilaginosas (Aplosporellaceae, Botryosphaeriaceae, Planistromellaceae e Saccharataceae), os ascostromas podem ser uniloculados (Pseudotécio) ou multiloculados, de forma solitária ou em agregados. Melanopsaceae e Planistromellaceae são caracterizados por ascostromas multiloculados, já Botryosphaeriaceae, Phyllostictaceae e Saccharataceae possuem ascostromas uniloculados. Geralmente em Botryosphaeriaceae os ascostromas são uniloculados e solitários, porém em alguns gêneros como Botryosphaeria, Diplodia e Neofusicoccum podem se assemelhar aos multiloculados por conta da agregação. Em Saccharataceae e Phyllostictaceae foram catalogados ascostromas solitários e uniloculados. Ascósporos de Melanopsaceae, Phyllostictaceae e Planistromellaceae, são hialinas, enquanto em Saccharataceae são pálidas de forma distinta, em Botryosphaeriaceae e Aplosporellaceae os ascósporos podem ser hialinos ou pigmentados, a depender do gênero ou espécie. (Phillips *et al.*, 2018)

As linhagens de Botryosphaerales se divergiram no cretáceo tardio, estimam-se que sua origem datada por volta de 103 milhões de anos (Slippers *et al.*, 2013), 114 milhões de anos (Liu *et al.*, 2017) ou mesmo 110 milhões de anos (Phillips *et al.*, 2018). Estas foram as maiores linhagens que evoluíram nas primeiras angiospermas e sobreviveram até a chegada das plantas atuais (Phillips *et al.*, 2018). Estudos sugerem que os Botryosphaerales mais primitivos apresentavam conídios hialinos, asseptados. Já no período Paleogeno seus conídios se pigmentam e formam septos. Essa diversificação é em resposta a condições ambientais adversas (Rathnayaka *et al.*, 2023), pois a morfologia dos esporos influencia na sobrevivência da espécie. A espessura da parede do esporo assim como a pigmentação são defesas primárias a condições ambientais adversas (Halbwachs *et al.*, 2015; Wong *et al.*, 2019). Uma parede celular mais espessa oferece vantagens contra predação de microrganismos e resistência na passagem do trato digestivo de animais. As melaninas apresentam enzimas hidrolíticas, propriedades antifúngicas e fotoprotetoras, possuem até mesmo um papel osmótico na penetração da parede celular vegetal pelo apressório e proteção contra enzimas (Belozerskaya *et al.*, 2017). Enquanto os esporos não pigmentados morrem sob forte radiação UV dentro de poucos minutos, os esporos melanizados sobrevivem (Ho e Hyde, 2004; Belozerskaya *et al.*, 2017).

Segundo Rathnayaka *et al.* (2023) a maioria dos táxons Botryosphaerales eram patógenos (46 %) e poucos endófitos (26 %), porém amostragem desequilibrada de táxons pode exibir viés para o hábito do patógeno, pois há poucos estudos realizados com microrganismos endofíticos, em comparação com os saprofíticos e patogênicos. Importantes questões sobre a maioria das espécies de Botryosphaerales refere-se à sua biologia. O entendimento acerca de questões fundamentais desses fungos ainda permanece incipiente, como seu processo reprodutivo, se são homotálicas ou heterotálicas, e se estão passando por reprodução sexuada (Slippers *et al.* 2017).

Por possuírem esporos esponjosos, a dispersão está associada ao ar e chuva, em menor proporção por insetos (Van Niekerk *et al.*, 2010, Mehl *et al.*, 2013, Moyo *et al.*, 2014 Valencia *et al.* ., 2015), portanto é esperado que sua disseminação seja mais local, no entanto são endófitos cosmopolitas que se distribuem em diversas partes do mundo (Slippers & Wingfield 2007). A circulação de plantas vivas e produtos vegetais frescos contribuem significativamente para seu padrão de distribuição global (Crouss *et al.*, 2016b, Burgess *et al.*, 2017). Uma ampla gama de hospedeiros é infectada por esses patógenos, gimnospermas, angiospermas (Crous *et al.*, 2017) e até mesmo líquens (Barr, 1987; Von Arx, 2008) Alguns patógenos causam a doença após fatores de estresse, seja por déficit hídrico ou ataque de outro patógeno, estes

são chamados de patógenos quiescentes, como *Botryosphaeria* e *Lasiodiplodia* (Wyka e Broders, 2016; 5; Prusky *et al.*, 2016).

#### 2.4.1 Botryosphaeriaceae

Inicialmente Theissen e Sydow (1918) introduziram Botryosphaeriaceae como uma subfamília em Pseudosphaeriaceae para acomodar o gênero *Botryosphaeria*, *Dibotryon* e *Phaeobotryon*. A família apresenta uma linhagem clara e monofilética (Phillips *et al.* 2018). Membros dessa família estão dispersos por todo o mundo e apresentam vários nichos ecológicos, podem apresentar hábitos saprobios, endófitos e parasitas (Liu *et al.* 2012, Phillips *et al.* 2013). Com base na morfologia e análises moleculares, Liu *et al.* (2012) deram suporte para 29 gêneros em Botryosphaeriaceae. Phillips *et al.* (2013) descreveram 17 gêneros em Botryosphaeriaceae. Burgess *et al.* (2019) e Garcia *et al.* (2021) incluíram 24 gêneros na família. Porém, Dissanayake *et al.* (2021) mencionam que esta família consiste em 22 gêneros. Por tanto a maior família em Botryosphaeriales (Zhang *et al.*, 2021; Wijayawardene *et al.*, 2022).

Os principais caracteres morfológicos de valor taxonômico dos fungos da família são: a largura, o comprimento, a septação, a espessura da parede e a coloração dos picnidiósporos, a presença ou não de paráfises, e células conidiogênicas, bem como o formato de picnídios, quando identificados com base no estágio assexuado; assim como o formato e as dimensões de ascos e ascósporos quando identificados com base no estágio sexuado (Crous *et al.*, 2006; Schoch *et al.*, 2006; Phillips *et al.*, 2013).

O táxon apresenta uma variada morfologia conidial, podendo variar de fusiformes a ovoides ou elípticas, sua parede pode ser fina ou espessa e seus ascósporos são grandes, regularmente hialinos, asseptados, podendo se tornar escuros e septados com o tempo, possuem ascos bitunicados (parede dupla) dentro de um estroma (cavidade) unilocular ou multilocular, conhecidos como pseudotécios ou ascostroma (Sivanesan, 1984; Phillips *et al.*, 2005). Em *Diplodia* e *Lasiodiplodia*, conídios podem permanecer hialinos por longo período e tornarem-se marrons e uniseptados somente após sua liberação dos conidiomas (Phillips *et al.*, 2013). As estruturas sexuais dos fungos Botryosphaeriaceae são difíceis de serem observadas, tanto em condições naturais quanto experimentais (Phillips *et al.*, 2013).

Em um estudo acerca da patogenicidade de Botryosphaeriaceae endofíticas de espécies nativas da Caatinga, Gonçalves *et al.* (2016) observaram maior agressividade nas espécies: *Lasiodiplodia theobromae* e no complexo *N. parvum/ribis*. A presença de espécies de fungos comuns a plantas nativas e exóticas sugere um alto grau de transmissão desses fungos. Se baseando em relatórios de

doenças anteriores Wingfield *et al.* (2011) afirmou que os táxons de botryosphaeriaceae aumentariam sua agressividade ao se afasta de seu hábitat nativo, por conta da diversidade de organismos endofíticos no ambiente nativo ser superior ao de outros locais. Fungos endofíticos podem se tornar patogênicos sob certas condições ambientais. É relatado que fatores de estresse como intensidade luminosa, alta ou baixa temperatura, umidade relativa e condições do solo podem estimular mudanças no hábito do microrganismo, assim como danos físicos ao vegetal, deficiência de nutrientes e competição entre plantas, são responsáveis por desencadear uma transição de organismos endofíticos ou sapróbios para patogênicos, porém esses mecanismos ainda não foram determinados (Agrios 2005; Slippers & Wingfield 2007, Amponsah *et al.* 2011, Wunderlich *et al.* 2011).

Certas Botryosphaeriaceae são mais generalistas, infectam tanto gimnospermas quanto angiospermas, como exemplo, *B. dothidea*, *L. theobromae*, já outros são mais especializados como: *Neofusicoccum eucalyptorum* e *N.eucalypticola* ocorrem apenas em Eucalyptus; *N.protearum* e *Saccharata protea* ocorrem apenas em Proteaceae. Diplodia e Lasiodiplodia podem ocorrer tanto em angiosperma quanto gimnosperma, as demais linhagens Botryosphaeriaceae, exceto *Macrophomina*, *Guignardia*, *Saccharata* e "*Botryosphaeria*" quercuum, são predominantemente encontrados em angiospermas, raramente em gimnospermas. Poucas espécies são conhecidas exclusivamente de gimnospermas, as únicas gimnospermas relatadas foram as araucárias e um pinheiro não nativo do hemisfério Sul. Os resultados sugerem que a linhagem das Botryosphaeriaceae se adaptou inicialmente às angiospermas e mais tarde colonizaram e especiaram em gimnospermas (Wet *et al.*,2007). A complexidade de identificação das espécies de Botryosphaeriaceae pode ser exemplificada pelo complexo *D. pinea*, com anamorfos semelhantes a Diplodia. Todas as espécies com conídios demáceos associados a sintomas de doença em *Pinus* spp. foram tratados inicialmente como *D. pinea* (Waterman, 1943, Punithalingam, 1970), com o passar do tempo e com o auxílio de técnicas moleculares foi possível diferenciar os morfotipos e agrupar em diferentes espécies.

### 3 METODOLOGIA

A pesquisa foi conduzida no Viveiro Florestal Universitário, localizado no Departamento de Ciências Florestais e da Madeira (CCAUE/Ufes), Jeronimo Monteiro – ES, juntamente ao Laboratório de Biotecnologia Agrícola e Ambiental (BIOTA), situado em Alegre – ES.

#### 3.1 Coleta de amostras do ritidoma de *Khaya ivorensis*

Foram observados indivíduos de *Khaya ivorensis* com sintomas característicos de cancro (figura 1) no plantio experimental do Viveiro Florestal Universitário, o plantio ocorreu entre os anos de 2010 e 2011, com espaçamento de 2 x 3 metros. Em dezembro de 2022 para realização da coleta fez-se um caminhamento em zigue-zague na área de plantio, neste percurso a presença de árvores com cancro foi mais representativa, com uma menor parcela de arvores assintomáticas. Coletou-se amostras do ritidoma de 22 árvores de *Khaya ivorensis*, entre elas 16 indivíduos apresentavam cancro e 6 não apresentavam. As árvores amostradas foram marcadas com GPS e fragmentos da casca foram retiradas por meio de um canivete (figura 2, a e b), o canivete foi desinfestado com hipoclorito de sódio a 1 % antes e durante a amostragem, cada amostra foi acondicionada em sacos plásticos diferentes (figura c) para evitar contaminação e levadas ao Laboratório de Biotecnologia Agrícola e Ambiental (BIOTA).



Figura 2 – Plantio de mogno africano localizado no Viveiro Florestal Universitário. **a, b e c**, sintomas característicos do cancro do mogno; **d**, sinais do agente causal; **e e f**, sintomas de cancro ao longo do fuste; **g e h**, cancro em zonas de bifurcações; **i**, árvores infectadas.

Fonte: Autoria própria, 2023.

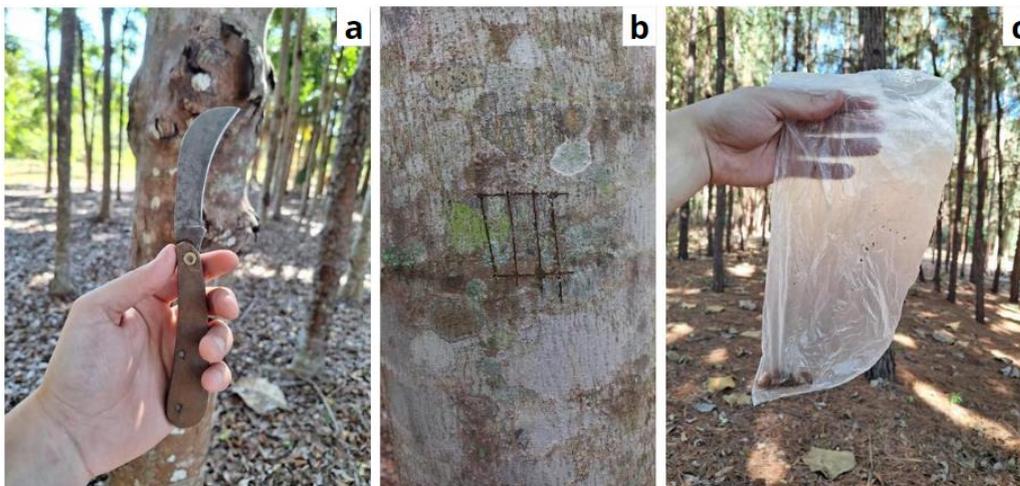


Figura 3 - Coleta de amostras de cancro em *Khaya ivorensis*. **a**, canivete utilizado para coleta; **b**, zona de coleta assintomática; **c**, armazenamento das amostras.

Fonte: O próprio autor, 2023.

### 3.2 Isolamento, repicagem e armazenamento das espécies fúngicas

Em laboratório foram confeccionados meios de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) (figura 2) para cultivo das colônias infectantes. Previamente ao uso da Cabine de Fluxo Laminar (figura 4) houve higienização com álcool 70 % e hipoclorito de sódio a 1 % e esterilização com luz ultravioleta durante 20 minutos, esse processo se repete durante a utilização da câmara para o isolamento, repicagem e armazenamento. No decorrer da manipulação do material foi necessário o uso de lamparina (figura 1, b) assim como ventilação ativa na câmara. Foram vertidas placas de Petri (figura 1, a) com BDA e as amostras do ritidoma foram então desinfestadas, dispendo-as em placas de Petri com álcool 70 % durante 30 segundos, seguido de Hipoclorito de Sódio a 1 %, por 3 minutos, posteriormente enxaguados com água destilada e autoclavada. As amostras foram postas em placas Petri contendo meio ágar-alga e armazenadas em um fotoperíodo de 12 horas por 48h. Após o isolamento as placas de Petri foram postas em uma estufa incubadora a 24-16 °C, por fotoperíodo de 12h, até o desenvolvimento das colônias fúngicas,

Posterior ao desenvolvimento das colônias por aproximadamente 20 dias, foram selecionadas as de maior frequência para caracterização, realizando repicagens por meio de ponteiras de 100 mililitros (figura 3, c e d) para novas placas, contendo BDA. As amostras fúngicas foram repicadas regularmente em câmara de

fluxo, com o auxílio de ponteiras de 100 mililitros, utilizados para recortar discos das colônias fúngicas já desenvolvidas, esses discos então eram plaqueados em placas Petri contendo BDA, dispondo-se 4 discos por placa, realizando quatro repetições por isolados. Para a preservação foram utilizadas frascos-ampolas contendo água destilada, ambos autoclavados, onde discos das colônias de cada isolado foram depositados e armazenados na coleção de fungos e bactérias do BIOTA



Figura 4 - Meio de cultura Ágar Batata Dextrose (BDA). **a**, frasco de BDA; **b**, preparo de meio de cultura.

Fonte: O próprio autor, 2023.

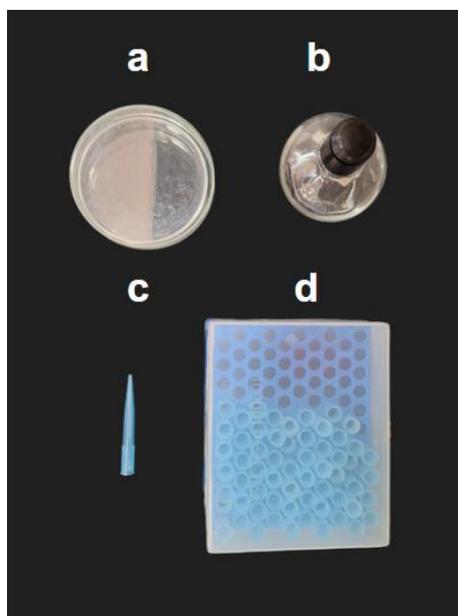


Figura 5 - Acessórios e equipamento utilizados em Laboratório. **a**, placa de Petri; **b**, lâmparina; **c**, ponteiras de 100 mililitros; **d**, caixa de ponteiras.

Fonte: O próprio autor, 2023.

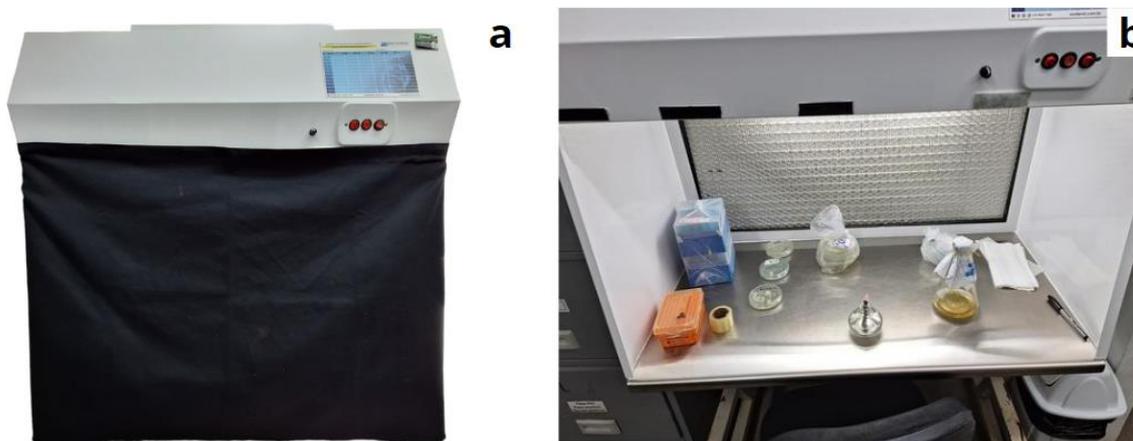


Figura 6 - Cabine de Fluxo Laminar. **a**, luz ultravioleta ativada; **b**, repicagem dos isolado.

Fonte: O próprio autor, 2023.

### 3.3 Obtenção de lâminas e análise morfológica

Os conídios foram provenientes da raspagem das colônias nas porções mais envelhecidas, por meio de ponteiros de 100 mililitros, para confecção de lâminas as colônias fúngicas foram coradas com azul de metila e então feita a análise microscópica. A identificação foi realizada com base nas colônias e na morfologia conidial. Os patógenos identificados foram comparados com relatos da literatura relacionados aos agentes causadores de cancro, associados ao mogno africano e outras espécies florestais.



Figura 7 - Microscópio utilizado para análise morfológica.

Fonte: O próprio autor, 2023

## 4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Dentre os organismos mais representativos da amostra se encontravam colônias semelhantes a Botryosphaeriaceae com micélio aéreo fofo cinzentos que se desenvolveram juntamente com as amostras do ritidoma da *Khaya ivorensis* em meio de cultura BDA. Foi possível observar os conidióforos protegidos por estruturas globosas, denominadas picnídios, essas estruturas características juntamente com o aspecto da colônia auxiliaram na seleção inicial do isolados de Botryosphaeriales, três isolados foram selecionados. No início de seu desenvolvimento, os isolados tendem a apresentar micélios esbranquiçados a cinzentos, como é possível observar na da figura 7, à medida que envelhecem geralmente há o escurecimento das colônias e o surgimento de diversos picnídios.

Foi observado na colônia do isolado 1 aspecto hialino e ao desenvolverem geravam hifas aéreas esbranquiçadas com aspecto fofo (figura 8), após sua repicagem a colônia apresentou novamente aspecto cinzento. Não foi possível observar os ascósporos no isolado 1, alguns autores relatam a dificuldade de esporulação de certos Botryosphaeriales, como em *B. fusicolor* que não ocorreu esporulação durante os trinta dias de cultivo nos estudos de Liu *et al.* (2012), à ausência de esporulação impediu a análises morfológicas em *Lasiodiplodia* de diferentes clados, entre eles uma possível nova espécie (Abreu, 2015).

Vieira *et al.* (2021) estudaram metodologias de esporulação para fungos da família Botryosphaeriaceae por esses apresentarem dificuldade de esporulação. Foram encontrados ascósporos nos isolados 2 e 3, esses se diferem pela forma, cor e septação, como é possível observar pela figura 1. O isolado 2 possui ascósporos hialinos, fusiformes, asseptados (figura 9 a e b), semelhante aos gêneros *Botryosphaeria* spp. e *Neofusicoccum* spp. (Li *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2021), já no isolado 3, pode-se notar ascósporos dematiáceos de forma cilíndrica a elipsoidal e presença de septo, dividindo os ascósporos em duas partes (figura 9, c e d), assemelhando-se aos gêneros *Lasiodiplodia* spp. e *Dothiorella* spp. (Liu *et al.* 2012; ZHANG *et al.* 2021). Rathnayaka *et al.* (2023) analisaram diferentes espécies da Ordem, *Aplosporella thailandica* e *Sphaeropsis* sp. apresentaram conídios marrons, porém não possuíam septos, já *Dothiorella viticola* apresentou conídios marrons e septados, assemelhando-se ao isolado 3 (figura 9, c e d). Os isolados de *Botryosphaeria dothidea*, hialinos e asseptados com as extremidades afiladas, se assemelha ao isolado 2 (figura 9, a e b).

Em um estudo sobre classificação natural de Botryosphaeriales, diversos organismos foram isolados, alguns semelhantes aos isolados do presente estudo,

como o *Botryosphaeria fuispora*, suas colônias inicialmente são pálidas, porém ao desenvolverem-se atingiam da coloração cinzenta a negra. Seus ascósporos são hialinos, asseptados, sua forma varia de elipsoidal a fusiforme.

*Auerswaldia lignicola*, proveniente de madeira morta, possuem colônias cinzentas, esporos bitunicados, dematiáceos e asseptados, enquanto *Auerswaldia dothiorella*, proveniente no colmo de bambus, apresentaram colônias marrons, conídios bitunicados, inicialmente hialinos e asseptados, tornando-se marrons ao amadurecer (Liu *et al.* 2012). Esse táxon se aproxima morfologicamente de *Dothiorella*, porem em *Dothiorella* os conídios são marrons e septados enquanto ainda estão ligados a célula conidiogênica (Crous *et al.* 2006), já em *Auerswaldia dothiorella* os conídios tornam-se marrons ao envelhecer.

*Neofusicoccum* spp. provenientes de ramo morto de linho, possuem ascósporos hialinos, asseptados, de forma elipsoidal a fusiforme, geralmente mais largo no centro. Seus micélios permanecem brancos na primeira semana, depois de uma a duas semanas tornam-se negros (Liu *et al.* 2012). Há relatos de *Neofusicoccum parvum* no cancro do eucalipto na Etiópia, segundo Admasu *et al.* (2023) outros organismos além do *Neofusicoccum parvum*, como o *Lasiodiplodia theobromae* e a *Aplosporella hesperidica* são responsáveis pelo cancro em *E. camaldulensis*.

Em um estudo acerca da podridão pós colheita do abacate foram analisadas espécies pertencentes à família Botryosphaeriaceae, entre eles o *Neofusicoccum parvum*, o mais abundante no estudo. Suas colônias aos dois dias de incubação apresentavam aspecto pálido, já aos seis dias as colônias estavam pigmentadas. Seus conídios eram hialinos com presença ou não de septos. (LOPES, 2018).

Em Gana, Linnakoski *et al.* (2010) estudaram fungos endofíticos presentes em folhas assintomáticas de *K. anthotheca*, entre eles estava a espécies pertencentes ao complexo *Lasiodiplodia theobromae*. Dentre as espécies semelhantes aos isolados deste estudo pode-se destacar o *Lasiodiplodia theobromae*, há registros da sua ocorrência tanto no cancro em mogno africano (Tremacoldi *et al.*, 2013) como em outras espécies florestais (Moreira *et al.*, 2013; Admasu *et al.*, 2022).

Estudos filogenéticos têm conduzido a um aumento no número de espécies de Botryosphaeriales (ZHANG *et al.* 2021), reforçando a dificuldade de uma classificação precisa baseada unicamente em dados morfológicos. Algumas características morfológicas dentro de Botryosphaeriaceae apresentam instabilidade, como a pigmentação de conídios e septação (Slippers *et al.* 2013). Rathnayaka *et al.* (2023). Outro ponto a ser considerado são as espécies crípticas, que não podem ser

distinguidas com base apenas na morfologia (Alves *et al.* 2008; PAVLIC *et al.*, 2004, Wijayawardene *et al.*, 2022).

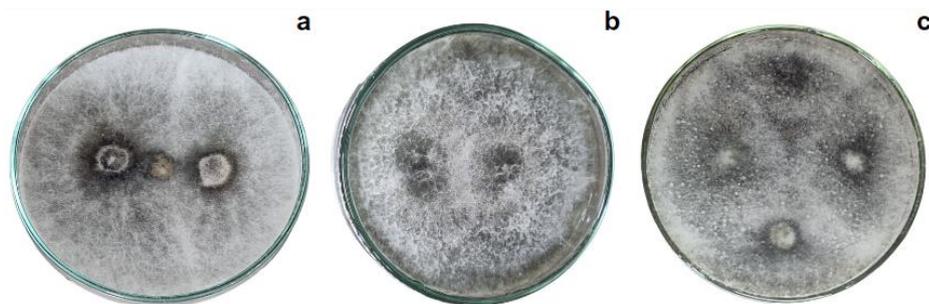


Figura 8 - Colonias fúngicas ao sexto dia de isolamento: **a**, isolado 1; **b**, isolado 2 e **c**, isolado 3.

Fonte: O próprio autor, 2023.



Figura 9 - Colonias fúngicas com aproximadamente um mês de cultivo. Os isolados 2 e 3 apresentaram colônias cinzentas, já o isolado 1 apresentou colônias esbranquiçadas.

Fonte: O próprio autor, 2023.

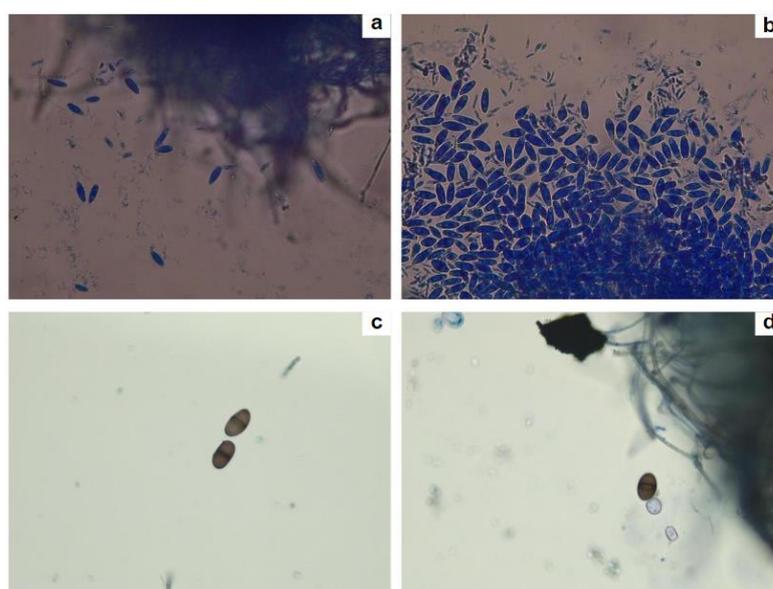


Figura 10 - Ascósporos: **a** e **b**, isolado 2; **c** e **d**, isolado 3.

Fonte: O próprio autor, 2023.

## 5 CONCLUSÃO

A presença de picnídios, coloração e textura das colônias auxiliaram na seleção de diferentes isolados de Botryosphaeriales;

As espécies de Botryosphaeriales encontradas nesse estudo se apresentaram similaridade morfocultural com espécies responsáveis pelo cancro em mogno-africano e outras espécies florestais;

A ocorrência de espécies crípticas assim como as diferentes formas que esses organismos podem expressar a depender das condições de desenvolvimento dificulta a identificação das espécies dos isolados quando utilizado apenas caracteres morfológicos, sendo necessário também análises moleculares.

De acordo com os resultados, surge uma hipótese para uma possível etiologia complexa do cancro do mogno africano, podendo este estar associado a outro(s) fungo(s) fitopatogênico(s), além de *L. theobromae*.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, V. P. **Botryosphaeriales endofíticos e fitopatogênicos causadores de podridões pós-colheita em frutos de goiabas**. 2015. 30 p. Dissertação (Mestrado em (taxonomia e filogenia molecular de fungos fitopatogênicos) - Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa.
- ADMASU, W.; SINTAYEHU, A.; GEZAHGNE A.; TEREFEWOR Z. Survey and identification of coinfecting Botryosphaeriales causing stem canker diseases of *Eucalyptus camaldulensis* in Ethiopia. **Journal of Arid Environments**, n. 210, mar. 2023.
- AYLWARD, J.; ROETS, F.; DREYER, L. L.; Wingfield, M. J. Theratosphaeria stem canker of *Eucalyptus*: two pathogens, one devastating disease **Molecular Plant Pathology**, n. 20, p. 8-19, 2018.
- ALVES, A.; CROUS, P.W.; CORREIA, A.; PHILLIPS, A.J.L. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. **Fungal diversity**, n. 28, p. 1-13, 2008.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E A. (ed.). **Manual de fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v.2 p. 772
- ARNOLD, R. J. **Khaya senegalensis – current use from its natural range and its potential in Sri Lanka and elsewhere in Asia**. *In: Prospects for high-value hardwood timber plantations in the 'dry' tropics of Northern Australia*, Australia, 2004.
- BARR, M.E. **Prodromus to Class Loculoascomycetes**; University of Massachusetts: Amherst, Estado Unidos, 1987.
- BATISTA, T.F.C. **Resistência induzida ao mogno brasileiro *Swietenia macrophylla* King por meliáceas resistentes no controle da broca *Hypsipyla grandella* Zeller, em consórcio e em sistema agroflorestal**. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, Pará. 81 pp. 2005.
- BELOZERSKAYA, T.A.; GESSLER, N.N.; AVER, A.A. Melanin Pigments of Fungi. **Fungal Metabolites**, p. 263–291, 2017.
- BURGESS, T.I.; TAN, Y.P.; GARNAS, J.; EDWARDS, J.; SCARLETT, K.A.; SHUTTLEWORTH, L.A.; DANIEL, R.; DANN, E.K.; PARKINSON, L.E.; DINH, Q.; et al. Current status of the Botryosphaeriaceae in Australia. **Australasian Plant Pathology**, n. 48, p. 35–44, 2019.
- CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. **Doenças causadas por fungos da família Botryosphaeriaceae em cajueiro**. Embrapa Agroindústria Tropical-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2018.
- CARDOSO, J. E. et al 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, P. E. R. **Mogno – *Swietenia macrophylla***. Colombo: Embrapa, 2007. 12p. (Circular técnico, 140).
- COELHO, L., NASCIMENTO, A.R.T., SANTOS, J.C. ET AL. Unveiling an important interaction in forestry: *Ectomyeloides muriscis* and *Khaya grandifoliola* cankers and tree growth. **Journal of Forestry Research**. n. 32, p. 1287–1293, 2021.

CONDE, R. A. R. **Controle silvicultural e mecânico da broca do mogno *Hypsipyla grandella*** (Zeller, 1948) (Lepidoptera; Pyralidae) em sistema agroflorestal. 2006. 190 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2006.

CONVENTION ON INTERNATIONAL TRADE IN ENDANGERED SPECIES OF WILD FAUNA AND FLORA (CITES), 14 - 25 Nov 2022. Disponível em: <https://cites.org/sites/default/files/documents/E-CoP19-Prop-40.pdf>

CROUS, P.W.; KNOX-DAVIES, P.S.; WINGFIELD, M.J. Newly-recorded foliage fungi of *Eucalyptus* spp. in South Africa. **Phytophylactica**, n. 21, p. 85-8, 1989.

CROUS, P. W.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J.; RHEEDER, J.; MARASAS, W. F. O.; PHILLIPS, A. J. L.; ALVES, A.; BURGESS, T. BARBER, P.; GROENEWALD, J. Z. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. **Studies in Mycology**, n. 55, p. 235-253, 2006.

DIONISIO, L. F. S., LIMA, A. C. S., CASTRO, T. M. M. G. DE, CORREIA, R. G., MARTINS, W.B.R. AND ABREU, V.S. 2016. Ocorrência de *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae) no Sul do Estado de Roraima. **EntomoBrasilis**. v. 9, n. 2, 97-100, 2016.

DISSANAYAKE, A. J.; CHEN, Y. Y.; CHEEWANGKON, R.; LIU, J. K. Occurrence and morpho-molecular identification of Botryosphaeriales species from Guizhou Province. **Journal of Fungi**, China, v. 7, n. 11, 2021.

DO CARMO, R. F. NAKAJIMA, N. Y., da Silva, S. A., Mattar, E. A. DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Khaya ivorensis* EM PLANTIO IRRIGADO. **Nativa**, v. 6, n. 2, p. 159-164, 2019.

FLORES, T. B. Meliaceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB614222>>. Acesso em: 09 jul. 2023.

FURTADO, E. L.; BENSO, L. A. Doenças. In: Reis CAF, Oliveira, EB, Santos AM (eds) **Mogno-Africano (*Khaya* spp.): atualidades e perspectivas do cultivo no Brasil**. EMBRAPA, Brasília, p. 235–250, 2019.

GARCIA, J. F.; LAWRENCE, D. P.; MORALES-CRUZ, A.; TRAVADON, R.; MINIO, A.; HERNANDEZ-MARTINEZ, R.; ROLSHAUSEN, P. E.; BAUMGARTNER, K.; CANTU, D. Phylogenomics of plant-associated Botryosphaeriaceae species. **Frontiers in Microbiology**, 2021.

GEZAHGNE A. Coniothyrium stem canker of *Eucalyptus*, new to Argentina and Vietnam. **South African Journal Science**, 2003 a.

GEZAHGNE, A.; ROUX, J.; WINGFIELD, M. J. Diseases of exotic plantation *Eucalyptus* and *Pinus* species in Ethiopia **South African Journal Science**, p. 29-33, 2003 b.

GEZAHGNE, A.; CORTINAS, M.; WINGFIELD, M. J.; ROUX, J. Characterization of the Coniothyrium stem canker pathogen on *Eucalyptus camaldulensis* in Ethiopia. **Australasian Plant Pathology**, n. 34, p. 85-90, 2005.

GONÇALVES, F. J. T., FREIRE, F. C. O., LIMA, J. S., MELO, J. G. M., CÂMARA, M. P. S. Patogenicidade de espécies de Botryosphaeriaceae endofíticas de plantas da Caatinga do estado do Ceará em manga e umbu-cajá. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 1, p. 43-52, 2016.

GRAMAJE D, AGUSTÍ-BRISACH C, PÉREZ-SIERRA A, et al. Fungal trunk pathogens associated with wood decay of almond trees on Mallorca (Spain). **Persoonia** 28: 1–13. 2012.

GUIMARÃES, K.; MARINHO, P. S. B.; SILVA, M. F. G. V.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; MÜLLER, M. W. **Limonóides isolados na família Meliaceae**. In: **XXVI Reunião Anual sobre**

**Evolução, Sistemática e Ecologia Micromoleculares**, 2004.

HO, W. H.; HYDE, K. D. A new type of conidial septal pore in fungi. **Fungal Diversity**, v. 15, p. 171–186, 2004.

HALBWACHS, H.; BRANDL, R.; BÄSSLER, C. Spore wall traits of ectomycorrhizal and saprotrophic agarics may mirror their distinct lifestyles. **Fungal Ecology**, v. 17, p. 197–204, 2015.

INDERBITZIN, P.; BOSTOCK, R. M.; TROUILLAS, F. P.; MICHAILIDES, T. J. A six locus phylogeny reveals high species diversity in Botryosphaeriaceae from California almond. **Mycologia**, v. 102, p. 1350–1368, 2010.

IUCN. 2022. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2. <https://www.iucnredlist.org>. Accessed on 09 July 2023.

RECHE, K. V. G.; SOUZA, G. D.; TRAPP, M. A.; RODRIGUES-FILHO, E.; SILVA, S. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; MULLER, M. W.; DA SILVA, M. F. G. F. Methyl angolensate changes in *Khaya ivorensis* after fungal infection, **Phytochemistry**, v. 70, p. 17–18, 2009.

LARIGNON P.; B. DUBOS. Le Black dead arm. Mala-die nouvelle à ne pas confondre avec l'esca. **Phytoma**, v. 538, p. 26–29, 2001.

LEHOCZKY, J. Black dead arm disease of grapevines caused by *Botryosphaeria stevensii* infection. **Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae** 9, 319–327. 1974.

LEMES, PEDRO G.; ZANUNCIO, ANTÔNIO JOSÉ VINHA; OLIVEIRA, L. S.; MATOS, M. F. ; LEITE, G. L. D. ; SOARES, MARCUS ALVARENGA ; ZANUNCIO, JOSÉ C. ; ASSIS JUNIOR, S. L. *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) boring *Khaya ivorensis* (Meliaceae) fruits and seeds in Brazil: first report. **Florida Entomologist**, v. 102, p. 266, 2019.

LARIGNON P. AND B. DUBOS. Le Black dead arm. Mala-die nouvelle à ne pas confondre avec l'esca. **Phytoma**, v. 538, p. 26–29, 2001.

LIU, J. K.; PHOOKAMSAK, R.; DOILOM, M.; WIKKEE, S.; LI, Y. M.; ARIYAWANSHA, H.; HYDE, K. D. "Towards a natural classification of Botryosphaeriales. **Fungal Diversity**. p. 149-210, 2012.

LAMPRECHT, H. Forestry in the tropics. Eschborn: (GTZ) Gmbh. (Trad. Of Guilherme de Almeida Silks and Gilberto Calcagnotto). 343 p., 1990.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. São Paulo: Nova Odessa. 385 p. 2003.

MARTINELLI, G. & MORAES, M.A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Andrea Jakobsson, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1100p. 2013.

MCDONALD, V.; LYNCH, S.; ESKALEN, A. First report of *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, and *N. parvum* associated with avocado branch canker in California. **Plant Disease**, v. 93, n. 9, 967 p., 2009.

MEHL, J.; SLIPPERS, B.; ROUX, J.; WINGFIELD, M.; GONTHIER, P.; NICLOTTI, G. Cankers and other diseases caused by the Botryosphaeriaceae. **Infectious Forest Diseases**, Amsterdam, p. 298-317, 2013.

MOYO, P.; ALLSOPP, E.; ROETS, F.; MOSTERT, L.; HALLEEN, F. Arthropods vector grapevine trunk disease pathogens. **Phytopathology**, São Paulo, v. 104, p. 1063-1069, 2014.

- NIEKERK, J. M.; VAN, CROUS, P. W.; GROENEWALD, J. Z.; FOURIE, P. H.; HALLEEN, F. DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevines. **Mycologia**, v. 96, p. 781–798, 2004.
- NORMAND, D.; SALLENAVE, P. Term Equity et proprietes des Acajous (*Swietenia* et *Khaya*). **Revue Bois et Forêts des Tropiques**, n. 59, 1958.
- OFORI, D. A.; OPUNI-FRIMPONG, E.; COBBINAH, J. R. Provenance variation in *Khaya* species for growth and resistance to shoot borer *Hypsipyla robusta*. **Forest Ecology and Management**, v. 242, p. 438-443, 2007.
- OLIVEIRA, L.; SANTOS, P.; SILVA, L.; CORREIA, L.; LAFETÁ, B. Meliaceae trees cultivated in Brazil. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 12, n.2, p. 139-151, 2020.
- PAKULL, B.; EKUÉ, M. R. M.; BOUKA DIPELET, U. G. et al. Genetic diversity and differentiation among the species of African mahogany (*Khaya* spp.) based on a large SNP array. **Conservation Genetics**, v. 20, n. 5, p. 1035–1044, 2019.
- PANSHIN, A. J. Comparative anatomy of the woods of the Meliaceae, sub-family Swietenioideae. **American Journal of Botany**, p. 638-668, 1933.
- PAVLIC, D.; SLIPPERS, B.; COUTINHO, T. A. e WINGFIELD, M. J. *Botryosphaeria* occurring on native *Syzygium cordatum* in South Africa and their potential threat to *Eucalyptus*. **Plant Pathology**, v. 56, p. 624-636, 2007.
- PAVLIC, D.; SLIPPERS, B.; COUTINHO, T. A.; Gryzenhout, M.; Wingfield, M. J. *Lasiodiplodia gonubiensis* sp. nov., a new *Botryosphaeria* anamorph from native *Syzygium cordatum* in South Africa. **Studies in Mycology**, v. 50, p. 313-322, 2004.
- PHILLIPS A. J. L. *Botryosphaeria* dothidea and other fungi associated with excoiiose and dieback of grape-vines in Portugal. **Journal of Phytopathology**, v. 146, p. 327–332, 1998.
- PHILLIPS, A. J. L.; ALVES, A.; ABDOLLAHZADEH, J.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. The *Botryosphaeria* genera and species known from culture. **Studies in Mycology**, v. 76, p. 51–167, 2013.
- PINHEIRO, A. L, COUTO, L.; PINHEIRO, D. T.; BRUNETTA, J. M. F. C. Ecologia, silvicultura e tecnologia de utilizações dos mogno-africanos (*Khaya* spp.). Viçosa: **Sociedade Brasileira de Agrossilvicultura**, 2011.
- PHILLIPS, A. J. L.; HYDE, K. D.; ALVES, A.; LIU, J. K. Families in *Botryosphaeriales*: A phylogenetic, morphological and evolutionary perspective. **Fungal Diversity**. v. 94, p. 1–22, 2019.
- PRUSKY, D.; ALKAN, N.; MENGISTE, T.; FLUHR, R. Quiescent and Necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. **Annual Review of Phytopathology**, v. 51, p. 155–176, 2013.
- RATHNAYAKA, A. R.; CHETHANA, K. W. T.; PHILLIPS, A. J. L.; LIU, J. K.; SAMARAKOON, M. C.; JONES, E. B. G.; KARUNARATHNA, S. C.; ZHAO, C. L. Re-Evaluating *Botryosphaeriales*: Ancestral State Reconstructions of Selected Characters and Evolution of Nutritional Modes. **Journal of Fungi**, v. 9, p. 184, 2023.
- RECHE, K. V. G.; SOUZA, G. D.; TRAPP, M. A.; RODRIGUES-FILHO, E.; SILVA, S. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C, MULLER, M. W; SILVA, M. F. G. F. Methyl angolensate changes in *Khaya ivorensis* after fungal infection. **Phytochemistry**, v.70, p. 2027–2033, 2009.
- SANTOS, L. H. DE O.; ALEXANDRE, F. S.; HURTADO DE MENDOZA, Z. M. DOS S.; SOUZA, ÉDILA C.; BORGES, P. H. DE M.; MARIANO, R. R.; DIAZ, L. M. G. R.; NUNES, C. A. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E FÍSICAS DA MADEIRA DE MOGNO AFRICANO (*Khaya*

ivorensis A. Chev.). **Nativa**, 8(3), 361-366. 2020.

SOUZA, R. M.; RIBEIRO, A.; FERRAZ-FILHO, A. C. Novos registros da incidência do cancro em árvores de mogno-africano. In: SIMPÓSIO DE MEIO AMBIENTE, 8., 2015, Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG: UFV, 2015.

SCHOCH, C. L.; SHOEMAKER, R. A.; SEIFERT, K. A.; HAMBLETON, S.; SPATAFORA, J. W.; CROUS, P. W. A multigene phylogeny of the Dothideomycetes using four nuclear loci. **Mycologia**. 98, 1041–1052, 2006.

SCOLFORO, J. R. S.; FERRAZ FILHO, A. C. Silvicultura e manejo das espécies madeireiras. In: Coelho L, Nascimento ART, Lemes EM (eds) Espécies nobres no cerrado. I - Silvicultura e perspectivas de produção. Editora Comoser, Uberlândia, pp 11–24, 2014.

SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: Diversity, ecology and impact. **Fungal Biol. Rev.** 2007, 21, 90–106.

SLIPPERS, B.; BOISSIN, E.; PHILLIPS, A. J. L.; GROENEWALD, J. Z.; LOMBARD, L.; WINGFIELD, M. J.; POSTMA, A.; BURGESS, T.; CROUS, P.W. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriales: A systematic and evolutionary framework. **Studies in Mycology** 76(1): 31–49, 2013.

SLIPPERS, B. CROUS, P. W.; JAMI, F.; *et al.* Diversity in the Botryosphaeriales: Looking back, looking forward. **Fungal Biology**, v. 121, p. 307–321, 2017.

SMITH, H.; KEMP, G. H. J.; WINGFIELD, M. J. Canker and die-back of Eucalyptus in South Africa caused by Botryosphaeria dothidea. **Plant Pathology**, v. 43, p. 1031–1034, 1994.

THEISSEN, F.; SYDOW, H. Vorentwurfe zu den Pseudosphaeriales. **Annales Mycologici**, v. 16, p. 1–34, 1918.

TREMACOLDI, C. R.; LUNZ, A. M.; COELHO, I. L.; BOARI, A. J. Cancro em mogno africano no estado do Pará. **Pesquisa florestal brasileira**. v. 33, n. 74, 2013.

WIJAYAWARDENE, N. N.; HYDE, K. D.; LUMBSCH, H. T.; LIU, J. K.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; EKANAYAKA, A. H.; TIAN, Q.; PHOOKAMSAK, R. Outline of Ascomycota: 2017. **Fungal Diversity**, v. 88, p. 167–263, 2018.

WIJAYAWARDENE, N. N.; PHILLIPS, A. J. L.; PEREIRA, D. S. *et al.* Forecasting the number of species of asexually reproducing fungi (Ascomycota and Basidiomycota). **Fungal Diversity**, v. 114, p. 463–490, 2022.

WONG, H. J.; MOHAMAD-FAUZI, N.; RIZMAN-IDID, M.; CONVEY, P.; ALIAS, S. A. PROTECTIVE mechanisms and responses of micro-fungi towards ultraviolet-induced cellular damage. **Polar Science**, v. 20, p. 19–34, 2019.

WU, N. A.; DISSANAYAKE, A. J.; MANAWASINGHE, I. S.; RATHNAYAKA, A. R.; LIU, J. K.; PHILLIPS, A. J. L.; PROMPUTTHA, I.; HYDE, K. D. <https://botryosphaeriales.org/>, an online platform for up-to-date classification and account of taxa of Botryosphaeriales. Database 2021.

WYKA, S. A.; BRODERS, K. D. The new family Septorioideaceae, within the Botryosphaeriales and Septorioides strobi as a new species associated with needle defoliation of Pinus strobus in the United States. **Fungal Biology**, v. 120, p. 1030–1040, 2016.

ÚRBEZ-TORRES, J. R.; GUBLER, W. D. Pathogenicity of Botryosphaeriaceae species isolated from grapevine cankers in California. **Plant Disease**, v. 93, p. 584–592, 2009.

VALE, F. X. R.; JESUS JR. W. C.; ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 531 p., 2004.

VALENCIA, D.; TORRES, C.; CAMPS, R.; LOPEZ, E.; CELTIS-DIEZ, J. L.; BESOAIN, X. Dissemination of Botryosphaeriaceae conidia in vineyards in the semiarid Mediterranean climate of the Valparaiso Region of Chile. **Phytopathologia Mediterranea**, Roma, v. 54, p. 394-402, 2015.

VAN NIEKERK, J. M.; CALITZ, F. J.; HALLEEN, F.; FOURIE, P. H. Temporal spore dispersal patterns of grapevine trunk pathogens. **European Journal of Plant Pathology**, Amsterdam, v. 127, p. 375-390, 2010.

VIEIRA, R. F. B. S.; BRASIL, S. O. S.; FONSECA, W. L.; LIMA, W. N.; CARDOSO, J. E. Sporulation methodology for fungi of the Botryosphaeriaceae family. **Summa Phytopathologica**, v. 47, n. 1, p. 62-64, 2021.

VON ARX, J. A. Plant pathogenic fungi. **Mycologia**, n.87, p. 919–920, 1987.

ZANETTI, R; ABREU, C. S.; SILVEIRA, S. H. P.; ANDRADE, E. D. First report of *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) on African mahogany *Khaya ivorensis*. **Scientia Agrícola**, v. 74, n. 6, p. 492-494, 2017.

ZHANG, W.; GROENEWALD, J. Z.; LOMBARD, L.; SCHUMACHER, R. K.; PHILLIPS, A. J. L.; CROUS, P. W. Evaluating species in Botryosphaeriales. *Persoonia*. **Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, v. 46, p. 43-63, 2021.