

INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CURSO SUPERIOR DE AGRONOMIA

ALEJANDRO PIO DE SOUZA

**ESTRESSE HÍDRICO E FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À SECA DE RAMOS EM
CLONES DE *Coffea canephora***

Santa Teresa

2022

ALEJANDRO PIO DE SOUZA

**ESTRESSE HÍDRICO E FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À SECA DE RAMOS EM
CLONES DE *Coffea canephora***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenadoria do Curso de
Agronomia do Instituto Federal do Espírito
Santo, como requisito parcial para a
obtenção do título de Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Antônio Fernando de
Souza

Santa Teresa

2022

(Biblioteca Major Bley do Instituto Federal do Espírito Santo)

S729e Souza, Alejandro Pio de.

Estresse hídrico e fungos endofíticos associados à seca de ramos em clones de *Coffea canephora* / Alejandro Pio de Souza. – 2022.

35 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Fernando de Souza

Monografia (graduação em Agronomia) – Instituto Federal do Espírito Santo, Coordenadoria do Curso de Agronomia. Santa Teresa, 2022.

Inclui bibliografias.

1. Seca de ramos. 2. *Lasiodiplodia iranensis*. 3. Estresse hídrico. 4. Cafeeiro. I. Souza, Antônio Fernando de. II. Instituto Federal do Espírito Santo. III. Título.

CDD 23 - 632.4

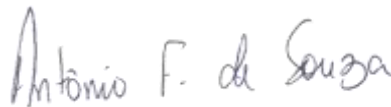
ALEJANDRO PIO DE SOUZA

**ESTRESSE HÍDRICO E FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS À SECA DE RAMOS EM
CLONES DE *Coffea canephora***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenadoria do Curso de Agronomia do Instituto
Federal do Espírito Santo como requisito parcial para
obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado em 19 de dezembro de 2022

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Antônio Fernando de Souza

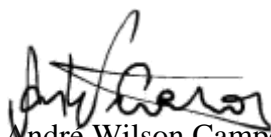
Instituto Federal do Espírito Santo

Orientador



Prof. Dr. Gustavo Haddade Souza Vieira

Instituto Federal do Espírito Santo



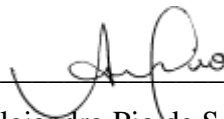
Eng. Dr. André Wilson Campos Rosado

Pesquisador colaborador no Dep. Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa

DECLARAÇÃO DO AUTOR

Declaro, para fins de pesquisa acadêmica, didática e técnico-científica, que este trabalho de Conclusão de Curso pode ser parcialmente utilizado, desde que se faça referência à fonte e ao autor.

Santa Teresa, 19 de dezembro de 2022.



Alejandro Pio de Souza

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me iluminar e abençoar em toda minha trajetória.

Aos meus pais Marluze Andrade Pio de Souza e Aloir Francisco de Souza, ao meu irmão Anthony Pio Monteiro e toda minha família por todo apoio e incentivo nessa jornada, bem como a confiança depositada em mim. Amo vocês!

Ao meu professor orientador Dr. Antônio Fernando de Souza pela paciência, incentivo e sabedoria que muito me auxiliou por boa parte da minha graduação e para conclusão deste Trabalho de Conclusão de Curso. Vou levar seus ensinamentos para vida, obrigado!

Aos meus amigos Carlos Avelino, Dyênici Rodrigues, Gabriela Reges, Kevilin Leite, Luciene Laurett, Mario Zanon, Matheus Ribeiro e Vinicius Auer por serem minhas maiores parceiras durante minha graduação. Quando temos pessoas tão especiais para compartilhar nossas vidas, tudo é mais belo e alegre. E eu tenho os melhores amigos que o mundo já conheceu. Agradeço pela lembrança, pelos momentos vividos e palavras de carinho e, acima de tudo, agradeço pelo amor, amizade e companheirismo que todos me dedicam sempre. Amo todos vocês e obrigado por tudo!

A equipe do Laboratório de Diagnóstico de Doenças de Plantas (LABDDP) que contribuíram muito com meu crescimento e desenvolvimento.

A todos os mestres e colegas que durante a minha jornada me ensinaram, incentivaram e ajudaram, direta ou indiretamente, contribuindo assim, para que eu pudesse crescer.

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho elucidar se *Lasiodiplodia iranensis* comporta-se como fungo endofítico no cafeeiro conilon e, se o déficit hídrico é um fator de predisposição das plantas à manifestação da doença. Visitas foram realizadas em lavouras cultivadas com os clones de *C. canephora* que apresentavam sintomas de seca de ramos. Brotações novas e assintomáticas, emitidas na base de plantas foram coletadas e levadas para o laboratório para o isolamento de fungos endofíticos. Após o crescimento nas placas, as colônias fúngicas foram caracterizadas com base nos aspectos morfológicos. Culturas com sete dias de crescimento foram inoculadas em brotos de plantas do clone 12V da variedade clonal Vitória Incaper 8142 para comprovação da patogenicidade do isolado. Para a avaliação da influência do estresse hídrico na predisposição de plantas clonais de *C. canephora* a fungos associados a seca de ramos, mudas de clone suscetível de *C. canephora* (Clone K61) foram cultivadas em vasos de 3,5 L, dispostos em delineamento em blocos casualizados, em esquema fatorial 5x2, com quatro repetições, sendo o fator A composto por cinco níveis de imposição de lâmina da irrigação (50%, 75%, 100%, 125% e 150% da capacidade de pote) e o fator B composto por dois níveis (com e sem inoculação do isolado ST145 de *L. iranensis*). A severidade foi avaliada a cada 2-3 dias por meio da medição do tamanho das lesões. A partir dos valores de severidade, a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi calculada. Os dados de AACPD foram submetidos às pressuposições da análise de variância que foram comparadas pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. O fator A teve a variável relacionada ao progresso da doença estudado através dos modelos de regressão. Verificou-se que brotos extraídos de plantas com sintomas de seca de ramos, coletados em lavoura comercial, apresentam *L. iranensis* colonizando endofiticamente seus tecidos. O estresse hídrico, isoladamente, não foi capaz de induzir morte ou seca de ramos em mudas de K61 não inoculadas. O patógeno *L. iranensis* tem a sua agressividade expressa em menor intensidade em plantas submetidas aos extremos de estresse hídrico.

Palavras-chaves: Seca de ramos. *Lasiodiplodia iranensis*. Estresse hídrico. Cafeeiro.

ABSTRACT

The objective of this work was to elucidate whether *Lasiodiplodia iranensis* behaves as an endophytic fungus in conilon coffee trees, and whether water deficit is a predisposing factor for plants to manifest the disease. Visits were made to crops cultivated with clones of *C. canephora* that showed symptoms of branch drought. New and asymptomatic shoots, internal to the base of plants, were collected and taken to the laboratory for the isolation of endophytic fungi. After growth on the plates, fungal colonies were characterized based on morphological aspects. Cultures with seven days of growth were inoculated in shoots of clone 12V plants of the clonal variety Vitória Incaper 8142 to prove the pathogenicity of the isolate. To evaluate the influence of water stress on the predisposition of clonal plants of *C. canephora* to fungi associated with drying out of branches, seedlings of a susceptible clone of *C. canephora* (Clone K61) were cultivated in 3.5 L pots, arranged in a design in randomized blocks, in a 5x2 factorial scheme, with four replications, with factor A consisting of five levels of irrigation depth imposition (50%, 75%, 100%, 125% and 150% of pot capacity) and factor B composed of two levels (with and without inoculation of the *L. iranensis* isolate ST145). Severity was assessed every 2-3 days by measuring the size of the lesions. From the severity values, the area under the disease progress curve (AUDPC) was continuous. The AUDPC data were tolerated by the assumptions of the analysis of variance that were detected by the F test at the 5% level of probability. Factor A had a variable related to the progress of the disease studied through regression models. It was verified that shoots extracted from plants with symptoms of branch dryness, collected in a commercial field, present *L. iranensis* endophytically colonizing their tissues. Water stress alone was not able to induce death or drying of branches in non-inoculated K61 seedlings. The pathogen *L. iranensis* has its aggressiveness expressed in lesser intensity in plants maintained at extremes of water stress.

Keywords: Branches dry. *Lasiodiplodia iranensis*. Hydrical stress. Coffee tree.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	08
2	DESENVOLVIMENTO.....	11
2.1	OBJETIVOS.....	11
2.1.1	Objetivo Geral.....	11
2.1.2	Objetivos Específicos.....	11
2.2	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.3	METODOLOGIA.....	17
2.3.1	Avaliação da presença de isolados endofíticos de <i>Lasiodiplodia iranensis</i> em clones de <i>C. canpenhora</i> suscetíveis a seca de ramos.....	17
2.3.1.1	Coleta do material vegetal.....	17
2.3.1.2	Isolamento de fungos endofíticos dos tecidos do cafeeiro.....	17
2.3.1.3	Preservação dos isolados.....	18
2.3.1.4	Caracterização morfológica dos isolados.....	18
2.3.1.5	Teste de patogenicidade.....	18
2.3.2	Avaliação do estresse hídrico na predisposição de plantas clonais de <i>C. canephora</i> a fungos associados à seca de ramos	19
2.3.2.1	Obtenção do isolado.....	19
2.3.2.2	Influência do estresse hídrico na predisposição de plantas clonais de <i>C. canephora</i> a fungos associados a seca de ramos.....	19
2.3.2.3	Avaliação das mudas inoculadas.....	21
2.3.2.4	Análise de dados.....	21
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
2.4.1	Avaliação da presença de isolados endofíticos de <i>Lasiodiplodia iranensis</i> em clones de <i>C. canpenhora</i> suscetíveis a seca de ramos.....	21
2.4.2	Avaliação do estresse hídrico na predisposição de plantas clonais de <i>C. canephora</i> a fungos associados a seca de ramos.....	25
3	CONCLUSÃO.....	29
	REFERÊNCIAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro é suscetível a várias doenças, que são capazes de afetar tanto a parte aérea quanto o sistema radicular das plantas. Tais doenças são responsáveis por danos e perdas significativas na cultura. Diversos agentes, bióticos e abióticos, constituem-se nas principais causas desses problemas fisiológicos que afetam o cafeeiro, podendo atuar isoladamente ou em associação.

Dentre os sintomas mais comuns que afetam a parte aérea do cafeeiro conilon está a seca de ramos. Esse é um problema complexo em que pode ter uma multiplicidade de causas envolvidas, englobando fatores genéticos, nutricionais, fisiológicos e fitossanitários (RENA; CARVALHO, 2003; ZAMBOLIM et al., 2006).

Em áreas de produção de café conilon no Espírito Santo, sul da Bahia e Rondônia têm-se observado a incidência crescente de plantas apresentando sintomas de seca de ramos. Normalmente, os sintomas iniciam-se com o amarelecimento das folhas, seguido de murcha e morte de uma ou mais hastes da planta. Ao observar com detalhes essas hastes nota-se a presença de rachaduras e áreas com estufamento da casca. Os sintomas são notados tanto em plantas jovens quanto em plantas adultas no campo. Em algumas lavouras novas, nota-se que a seca de ramos se inicia na parte superior e progride em direção a base das plantas. Abaixo dos tecidos mortos da haste é comum a planta emitir brotações novas. Os sintomas de cancro ficam restritos a casca e, em alguns casos, se observa escurecimento dos tecidos internos somente na área lesionada. A incidência é maior nos clones LB1, K61, 02 e 143. Outros clones, como MP3, e seleções dentro da variedade clonal G35 também apresentam esses sintomas.

Essa sintomatologia é diferente do que existe em relatos na literatura sobre a morte ou seca de ramos do cafeeiro, especialmente pela formação de cancrios nos ramos mortos. Muitos produtores e técnicos relacionam esse problema à possível ocorrência da traqueomicose (*Fusarium xylarioides*) nas lavouras (MATIELLO; JOSINO, 2015), mas tais sintomas são muito diferentes daqueles descritos para essa doença em outros países. É oportuno relatar que *F. xylarioides* é uma praga quarentenária ausente no Brasil e até o momento não houve relato oficial de sua entrada e estabelecimento em lavouras cafeeiras no país. Suspeita-se, portanto, que seja um novo agente fitopatológico associado a seca de ramos no cafeeiro conilon.

A Murcha-de-fusarium do cafeeiro conilon (MFCC) foi relatada por Belan et al. (2018) e três espécies de *Fusarium*, isto é, *F. decemcellulare*, *F. lateritium* e *F. solani*, foram identificadas como agentes etiológicos dessa doença em plantas de *C. canephora* no Brasil. Os sintomas

descritos pelos autores são redução do vigor, murcha e amarelecimento das folhas, desfolha, escurecimento dos tecidos vasculares, seca e morte de ramos plagiotrópicos e ortotrópicos, culminando na morte das plantas (BELAN et al., 2018). Em variedades suscetíveis, essa doença pode causar danos de até 100%. Belan et al., (2019) relatou a epidemia da MFCC em cafeeiros do clone CV02 no município de Jerônimo Monteiro, Espírito Santo.

Amostras de plantas sintomáticas foram coletadas nos municípios de Aracruz, Linhares, Sooretama, Rio Bananal, Nova Venécia, Montanha, São Roque do Canaã, Santa Teresa, e em Eunápolis na Bahia, e enviadas para o Laboratório de Diagnóstico de Doenças de Plantas do Ifes Santa Teresa. Em várias amostras, picnídios foram encontrados recobrendo os ramos plagiotrópicos das hastes mortas. Lâminas de microscopia foram preparadas e observadas em microscópio óptico. Na maioria das amostras analisadas, estruturas reprodutivas de fungos diferentes daquelas produzidas pelo gênero *Fusarium* foram encontradas. Tais estruturas são comuns a fungos pertencentes a família Botryosphaeriaceae, especialmente ao gênero *Lasiodiplodia*.

Isolamento foi realizado em amostras de plantas coletadas no município de Santa Teresa e os isolados obtidos foram inoculados em mudas sadias dos clones K61 e LB1 e em brotos novos do clone 02 coletados em uma área livres da doença. A patogenicidade do isolado de *Lasiodiplodia* foi confirmada, indicando que esse fungo tem associação com a seca de ramos do cafeeiro. A caracterização morfo-molecular do isolado indicou a presença de *Lasiodiplodia iranensis* como a espécie envolvida com a doença nas amostras coletadas (Dados não publicados).

O desenvolvimento de uma doença depende da interação entre a planta suscetível, o isolado virulento e as condições de ambiente favoráveis ao processo infeccioso. Dentre os fatores de ambiente, a temperatura e a umidade são os mais comumente envolvidos no progresso das epidemias. A primeira afeta a germinação e o crescimento dos fungos, enquanto a umidade é indispensável para a germinação dos esporos e penetração no hospedeiro. Além desses, a luminosidade, o pH e a fertilidade do solo, entre outros, são fatores que também influenciam a dinâmica da doença nas áreas de cultivo. A luz afeta a fotossíntese e conseqüentemente as reservas nutritivas dos hospedeiros, o que pode determinar uma eventual reação diante do ataque do patógeno. O pH do substrato influencia tanto as plantas como os patógenos, os fungos desenvolvem-se bem numa faixa entre 4,5 a 6,5. Em relação a fertilidade do solo, alguns patógenos infectam mais severamente plantas subnutridas, enquanto que outros preferem

plantas vigorosas e suculentas (MICHEREFF, 2001).

O estresse hídrico, estresses biológicos, competição entre as plantas, plantio de variedades em áreas desfavoráveis (altitude, tipo de solo, temperatura, etc) são alguns fatores responsáveis pela expressão da patogenicidade de fungos da família Botryosphaeriaceae (SLIPPERS; WINGFIELD, 2007). Dentre esses fatores, o estresse hídrico é o principal fator ambiental predisponente da infecção (ALVES et al., 2013). A seca pode exercer efeito direto sob o patógeno, outros organismos (vetores) ou ainda nas interações fisiológicas no hospedeiro (predisposição da planta ou a interação de estresses múltiplos). De certa forma, a predisposição do hospedeiro e a hipótese de estresses múltiplos podem interagir para o aparecimento de doenças (DESPREZ-LOUSTAU et al., 2006).

A sintomatologia característica que fungos dessa família podem provocar em seu hospedeiro são a morte descendente de ramos, cancos em caules, exsudação de resinose, podridões pedunculares em frutos, podridões do colo, dentre outros sintomas, os quais são agravados quando as plantas estão submetidas a condições adversas de estresse hídrico e ferimentos (SLIPPERS; WINGFIELD, 2007).

Espécies de *Lasiodiplodia* podem comportar-se como fungos endofíticos, ou seja, penetrar e colonizar os tecidos internos da planta sem causar sintomas (CARDOSO et al., 2004). Isso é, particularmente, uma preocupação quando se trata da possibilidade dos brotos utilizados para produção de mudas clonais poderem trazer o patógeno do campo para os viveiros e vice-versa.

A hipótese para esse trabalho é que *L. iranensis* está se comportando como endofítico em brotos de *C. canephora* e está sendo disseminado para novas áreas de plantio por meio de mudas assintomáticas. Em campo, as plantas submetidas a condições de estresse hídrico ficam mais predispostas ao fungo e possibilitam a expressão dos sintomas da seca de ramos do cafeeiro.

Diante desses aspectos, objetivou-se com o presente trabalho elucidar se *Lasiodiplodia iranensis* comporta-se como fungo endofítico no cafeeiro conilon e, se o déficit hídrico é um fator de predisposição das plantas à expressão da seca de ramos causada por esse patógeno.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo Geral

Avaliou-se se *Lasiodiplodia iranensis* comporta-se como fungo endofítico no cafeeiro conilon e, se o déficit hídrico é um fator de predisposição das plantas à expressão da seca de ramos causada por esse patógeno.

2.1.2 Objetivos Específicos

Avaliou-se a condição endofítica de *Lasiodiplodia iranensis* em brotos de clones suscetíveis de *Coffea canephora*.

Estudou-se a influência do déficit hídrico na predisposição do cafeeiro conilon a seca de ramos decorrente da infecção por *Lasiodiplodia iranensis*.

2.2 REVISÃO DE LITERATURA

O café é um dos mais importantes produtos agrícolas de exportação e uma das principais atividades agrícolas do Brasil que geram riquezas para o país, além de exercer importante função social na geração de empregos diretos e indiretos (SIMÃO et al., 2021).

O Brasil é o maior produtor mundial de café. Na safra de 2021, o país produziu 47.716 mil sacas de café beneficiado incluindo café arábica e conilon (CONAB, 2021). Para a safra de 2022, a terceira estimativa indica uma produção total de 50.380,5 mil sacas de café beneficiado, incluindo as espécies arábica e conilon. A área destinada à cafeicultura nacional é de aproximadamente 2,24 milhões de hectares, sendo 1,84 milhão de hectares destinados à produção (CONAB, 2022).

As espécies mais cultivadas são *Coffea arabica* L. e *C. canephora* Pierre ex Froehner (LIMA, 2015). A espécie *C. canephora* passou a ser cultivada no Brasil de forma expressiva, inicialmente, no Estado do Espírito Santo e, posteriormente, em Rondônia e na Bahia (MATIELLO; ALMEIDA, 2006).

No Espírito Santo, a cafeicultura está presente em todos os municípios e abrange 60 mil propriedades rurais e 130 mil famílias, das quais cerca de 70% são de base familiar. A cultura

se destaca como a principal atividade socioeconômica capixaba. O estado, tradicional produtor de café, encontra-se na segunda posição do ranking nacional na produção da cultura, ocupando a primeira posição entre os estados produtores de café conilon; e a terceira, de café arábica (FERRÃO et al., 2021).

O estado do Espírito Santo produziu, na safra de 2021, mais de 14 mil sacas de café beneficiadas. Para o café conilon, a produção foi de mais de 11 mil sacas, enquanto o arábica, a produção foi de quase 3 mil sacas (CONAB, 2021).

As espécies do gênero *Coffea* são nativas da África e Madagascar e pertencem à família Rubiaceae, compreendendo mais de 120 espécies (HENDRE et al., 2008; DE KOCHKO et al., 2010). Em termos gerais, são plantas dicotiledôneas, de folhas persistentes, flores hermafroditas, caule lenhoso e porte que vai do arbustivo para o arbóreo (LIVRAMENTO, 2010). A espécie *C. canephora* é uma planta alógama, diploide com característica reprodutiva de auto incompatibilidade genética do tipo gametofítica, sistema que impede a autofecundação e o cruzamento entre indivíduos dos mesmos alelos (FERRÃO et al., 2007). Em contrapartida, a espécie *C. arabica* L. apresenta-se como sendo autofértil, portanto autocompatível, reproduzindo-se predominantemente por autofecundação, com uma taxa de alogamia de aproximadamente 10%, em média (FAZUOLI et al., 1991).

Devido a essa incompatibilidade, a espécie *C. canephora* apresenta heterogeneidade quanto à arquitetura da parte aérea, vigor vegetativo, época e uniformidade de maturação dos frutos, formato e tamanho dos grãos, capacidade produtiva, suscetibilidade a pragas e doenças e tolerância à seca (BERTHAUD, 1986; CHARRIER; BERTHAUD, 1988; CARVALHO et al., 1991; FERRÃO et al., 2012).

Por meio do melhoramento genético foram desenvolvidos cultivares clonais que facilitam a disponibilização de material genético superior e uniforme para constituição das novas lavouras (FERRÃO et al., 2012). Contudo, no final da década de 90, o aumento na utilização de variedades clonais acarretou o estreitamento da base genética (FONSECA, 1999), tornando as lavouras mais vulneráveis ao ataque de pragas e doenças (FERRÃO et al., 2007a) e, mais frágeis a ambientes estressantes (VEASEY et al., 2011).

Um dos problemas comuns ao cafeeiro que pode estar relacionado a causa biótica, ou devido a ambientes estressantes, é a seca de ramos. Segundo Ribeiro Filho (1958), o quadro sintomatológico típico caracteriza-se, inicialmente, pela murcha, amarelecimento, morte,

escurecimento e queda das folhas. A esse sintoma, segue-se a seca e morte progressiva dos ramos ortotrópicos ou plagiotrópicos. Em alguns casos, os sintomas iniciam-se na base e desenvolvem-se em direção ao ápice causando a morte completa da planta.

A seca de ramos não deve ser considerada como uma simples doença, mas um quadro sintomatológico resultante de um complexo de causas em que fatores bióticos e abióticos estão comumente associados a esse distúrbio (ZAMBOLIM et al., 2006).

As tentativas que têm sido feitas para classificar os diferentes tipos de seca de ramos procuram estabelecer diferenças entre fatores de origem puramente fisiológicos e aqueles de origem patológicos (RENA; CARVALHO, 2003).

Em termos fisiológicos pode-se dizer que tais sintomas ocorrem devido ao depauperamento da planta causado por uma carga de frutos excessiva e pela demanda intensa de carboidratos; impedimento químico ou físico do solo sobre o desenvolvimento e formação das raízes; morte de raízes absorventes; escassez de nutrientes; falta ou excesso de umidade no solo; ação do frio ou do calor, ou ainda, à predisposição genética das plantas (RENA; CARVALHO, 2003). A formação de mudas clonais de *C. canephora* e o transplântio podem também exercer profundas modificações na estrutura e arquitetura das raízes com reflexos também na ocorrência de morte de ramos em cafeeiro conilon (VENTURA et al., 2007).

Em termos patológicos, a literatura registra a ocorrência, direta ou indireta, de diferentes organismos associados à seca de ramos do cafeeiro, tais como *Hemileia vastatrix*, *Cercospora coffeicola*, *Phoma costarricensis*, *Ascochyta coffeae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum kahawe*, *Fusarium xylarioides*, *Fusarium* spp. *Corynespora cassiicola*, *Rosellinia* spp., *Rhizoctonia solani*, *Pseudomonas syringae* pv. *garçae*, *Xylella fastidiosa*, *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. (ZAMBOLIM et al., 2006). Esses mesmos autores acrescentam ainda que alguns insetos como *Leucoptera Coffeella*, *Cicadoidea* spp., *Dactylopius coccus* e *Xylosandrus compactus* também podem estar associados à morte de ramos do cafeeiro.

A seca de ramos do cafeeiro decorrentes da presença de cancos em suas hastes foi descrita na Colômbia em 1953 (CASTAÑO, 1953), tendo como agente causal o fungo *Ceratocystis fimbriata*. Outra família de fungo capaz de provocar a seca ramos e o surgimento de cancos em haste de cafeeiro foi descrita Masee (1909) e Riley (1960), ambos citados por Goos (1961), que realizaram os primeiros relatos da associação de Botryosphaeriaceae ao cafeeiro.

A família Botryosphaeriaceae engloba 17 gêneros de fungos e cerca de 110 espécies caracterizadas tanto morfológicamente quanto molecularmente (PHILLIPS et al., 2013). Os gêneros mais conhecidos são *Diplodia*, *Lasiodiplodia*, *Neofusicoccum*, *Pseudofusicoccum*, *Dothiorella* e *Sphaeropsis* (CROUS et al., 2006). Seus membros têm uma distribuição mundial e ocorrem em uma grande variedade de plantas hospedeiras, incluindo monocotiledôneas, dicotiledôneas e gimnospermas (SLIPPERS; WINGFIELD, 2007). Alguns são patógenos de plantas, outros são endofíticos em plantas lenhosas e ainda há aqueles que têm hábitos saprofíticos (PHILLIPS et al., 2013).

O gênero *Lasiodiplodia* encontra-se associado a mais de 500 espécies de plantas (PUNITHALINGAM, 1980). O banco de dados *Fungal Database* da USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos) apresentou, em setembro de 2018, uma lista de 394 espécies vegetais infectadas pelo *L. theobromae* e suas respectivas fontes científicas (FARR; ROSSMAN, 2019). Dessas, 75 foram encontradas no Brasil. O fungo é característico das regiões tropicais e subtropicais, sobrevive na atmosfera, nos tecidos vegetais vivos ou mortos, é disseminado pelo vento, insetos e instrumentos de poda, e penetra a planta por meio de aberturas naturais e ferimentos provocados por insetos, pássaros e pelo próprio homem, por meio de práticas culturais. Tavares (2002) relata que em um intervalo de um ano temperaturas altas, com média em torno de 28°C, umidade relativa próxima de 60% e precipitação pluviométrica de, aproximadamente, 15 mm favorecem o seu desenvolvimento.

Várias espécies de *Lasiodiplodia* estão associadas às plantas como *L. theobromae*, *L. pseudotheobromae*, *L. iranensis*, *L. basiliensis*. Segundo Holliday (1980) *L. theobromae* era considerado um patógeno pouco agressivo, mas nos últimos anos tornou-se importante para diversas culturas. Tavares (2002) associa o aumento no número de hospedeiros a uma possível evolução da patogenicidade do fungo em decorrência das pressões ambientais. Freire et al. (2004) mencionaram que há um aumento no número de hospedeiros e na severidade do ataque de *Lasiodiplodia*. Os autores ainda completam dizendo que os fungos pertencentes a esse gênero são capazes de causar diferentes sintomas nas plantas infectadas, incluindo a seca descendente, cancro e lesões em diferentes partes da planta, além de incitar a morte de mudas e enxertos de diversos hospedeiros.

Lasiodiplodia theobromae é capaz de colonizar tecidos de plantas sem exibir sintomas de infecção, característica típica de comportamento endofítico (CARDOSO et al., 2004; MOHALI et al., 2005; MULLEN et al., 1991). Em relação ao *Lasiodiplodia iranensis*, Elsie et al., (2017)

relataram um possível comportamento endofítico, ao isolar o patógeno a partir de árvores de baobás saudáveis e doentes em Benin, Camarões, Senegal, África do Sul, Madagascar e Moçambique. *Lasiodiplodia iranensis* tem uma distribuição mundial e ampla gama de hospedeiros, tendo sido descrita de *Mangifera indica* no Irã e relatada em *Juglans* sp., *Citrus* sp. e *Salvadora persica* no mesmo país (ABDOLLAHZADEH et al., 2010; ISALAR et al., 2021). Essa espécie também foi isolada de *A. gregorii* na Austrália (SAKALIDIS et al., 2011).

O fungo *L. theobromae* representa grande ameaça à fruticultura no nordeste devido a sua disseminação assintomática através de sementes, propágulos vegetativos e porta-enxertos (CARDOSO et al., 1998). Assim como na fruticultura, na cafeicultura também são empregadas as mesmas técnicas de propagação, fato que também pode representar importante via de disseminação assintomática da doença, visto que, já foi descrita a associação de *L. pseudotheobromae* em café arábica, mas nenhum teste de patogenicidade foi realizado (TRAKUNYINGCHAROEN et al., 2015). Freitas-Lopes et. al. (2020) descreveram a patogenicidade de *L. pseudotheobromae* em plantas de *C. arabica* no estado de Pernambuco.

Devido ao caráter endofítico do fungo, os cafeicultores podem estar adquirindo plantas contaminadas, pois de acordo com Paulino et al. (1995) dentre as formas de propagação assexuada, a mais comumente adotada em viveiros comerciais de produção de mudas de café conilon é a clonagem por meio do uso de estacas obtidas de plantas matrizes adultas.

Cardoso et. al., (2009) levantaram a hipótese de um possível comportamento endofítico de *L. theobromae* em plantas de cajueiro anão. A propagação dessa planta também é efetuada predominantemente por meio de mudas, e, portanto, a alta incidência da resinose em áreas isoladas, indica a transmissão do patógeno por mudas assintomáticas. Dessa forma, *L. theobromae* sobreviveria nos tecidos da planta de forma endofítica, e quando as mudas fossem plantas em campo, o processo infeccioso seria induzido por estresses, principalmente aqueles de ordem fisiológica. O isolamento do fungo de tecidos de cajueiro aparentemente sadio vem reforçar essa hipótese que, no entanto, necessita ser comprovada.

Fungos endofíticos são aqueles que vivem sistemicamente no interior das plantas sem causar danos (RUBINI et al., 2005). Entretanto, sob condições especiais, alguns desses organismos podem, eventualmente, vir a causar doenças. A ocorrência endofítica de *L. theobromae* tem sido relatada em outros hospedeiros, sendo o processo de infecção induzido por estresses ambientais que causam o enfraquecimento do hospedeiro (MOHALI et al., 2005).

Apesar das condições climáticas serem desfavoráveis à maioria das doenças, algumas são favorecidas, tais como as causadas por vírus, nematóides, oídios e as causadas por fungos da família Botryosphaeriaceae (COSTA et al., 2010; MARQUES et al., 2013; NETTO et al., 2014). Tavares (2002) coloca que em regiões semiáridas é onde o fungo *L. Theobromae* apresenta alta severidade de doença, por encontrar condições climáticas mais ou menos uniformes durante o ano e favoráveis ao seu desenvolvimento, como temperaturas altas, com média em torno de 28°C, umidade relativa baixa, em torno de 60%, e baixa precipitação pluviométrica, em torno de 15mm.

Ao avaliar a dispersão anemófila do fungo *L. theobromae* em plantações de coqueiro, Correia e Costa (2005) observaram que a quantidade mensal de conídios relacionou-se de forma positiva com precipitações entre 25 e 80 mm, acima desse valor a relação foi negativa. A liberação dos conídios foi estimulada sempre que a pluviosidade atingia valores superiores a 25 mm. O ponto máximo de liberação de esporos foi registrado em 80 mm, a partir daí os mesmos passaram a precipitar do ar.

As doenças caracterizadas pelo cancro e morte descendente têm o estresse hídrico como o principal fator ambiental predisponente da infecção e severidade (ALVES et al., 2013; SLIPPERS; WINGFIELD, 2007). Lima et. al. (2013) relataram que o processo infeccioso do patógeno *L. theobromae* é facilitado nas regiões semiáridas devido ao estresse hídrico.

Tavares (1993) conclui que o fungo *Botryodiplodia theobromae* apresenta-se na região do Vale do São Francisco, Pernambuco, como um patógeno oportunista, instalando-se na planta quando essa apresenta um mínimo de predisponibilidade, como falta ou excesso de água, deficiência de cálcio, não proteção da planta após a poda, na condução de indução da produção, penetrando na planta através ou não de ferimentos.

Custódio et al., (2018) relataram que, durante um levantamento de doenças da mamona nos estados da Bahia e Paraíba, foram encontradas plantas apresentando sintomas de podridão do caule, colo e raiz, o que resultou em morte da planta. Os sintomas foram geralmente observados em plantas adultas durante os estágios de maturação das cápsulas, independentemente do tipo de solo, entretanto mais frequentes sob estresse hídrico. Após análise foi constatado a presença de *Lasiodiplodia hormozganensis*.

O estresse hídrico também foi associado a plantas com sintomas de morte descendente. Videiras expostas ao estresse hídrico apresentaram maior comprimento de lesão causadas por *L. theobromae*, quando comparadas a videiras não estressadas (VAN NIEKERK et al., 2011).

2.3 METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Diagnose de Doenças de Plantas (LABDDP) e no viveiro telado do Instituto Federal do Espírito Santo, em Santa Teresa-ES, no período de abril a dezembro de 2022.

2.3.1 Avaliação da presença de isolados endofíticos de *Lasiodiplodia iranensis* em clones de *C. canephora* suscetíveis a seca de ramos

2.3.1.1. Coleta do material vegetal

Visitas foram realizadas em lavoura comercial do município de Nova Venécia – ES, cultivada com clones de *C. canephora*, em especial LB1, K61 e MP3. Coletas foram realizadas em dois talhões correspondente as seguintes coordenadas geográficas: talhão 1 (18°43'00.9"S; 40°21'34.0"W) e talhão 2 (18°41'23.8"S; 40°20'53.5"W). Em cada talhão foram coletadas quinze brotações novas e assintomáticas, emitidas na base de plantas que apresentavam sintomas de seca de ramos e, levadas para o laboratório. As brotações foram acondicionadas e transportadas em sacola plástica e mantidas na geladeira até o seu processamento.

2.3.1.2. Isolamento de fungos endofíticos dos tecidos do cafeeiro

Em laboratório, das quinze brotações coletadas em cada talhão, foram escolhidas dez que estavam em melhor estado de conservação para serem submetidas ao processo de isolamento de fungos endofíticos. Os brotos do talhão 1 receberam os códigos T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9 e T10. As brotações do talhão 2 foram identificadas como T11, T12, T13, T14, T15, T16, T17, T18, T19 e T20. Os brotos foram lavados com sabão em água corrente. O meio de cultura utilizado para isolamento dos fungos foi o Batata Dextrose Agar (BDA), preparado utilizando-se 9,75g de meio comercial desidratado em 250ml de água destilada, autoclavados a 120 °C durante 20 min, conforme a metodologia descrita por Maier et al. (1997) para o isolamento de fungos endofíticos. Asépticamente, na capela de fluxo laminar e próximo à chama do bico de Bunsen, fragmentos de cerca de 2mm foram retirados da região do córtex do caule com o auxílio de pinça e bisturi e imersos em etanol 70% (1 minuto) e NaClO 1% (1 minuto), seguida de dupla lavagem em água estéril (3 minutos cada). A água da segunda

lavagem foi plaqueada para verificação da presença de fungos remanescentes. Cada broto compôs um tratamento e três fragmentos de cada caule utilizado no experimento foram depositados em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA. Para cada broto adotou-se três repetições e cada placa foi identificada com o código descrito acima. As placas foram mantidas em incubadora a 25 °C durante a condução do experimento. Repicagens foram realizadas para novas placas de Petri para a obtenção de culturas puras.

2.3.1.3 Preservação dos isolados

Os isolados dos fungos obtidos em cultura pura foram armazenados em triplicata utilizando o método de Castellani (1939), que constitui-se em colocar cubos de 1cm da cultura fúngica em frascos com água destilada esterilizada. Os frascos foram mantidos em temperatura ambiente.

2.3.1.4 Caracterização morfológica dos isolados

Após o crescimento nas placas, as colônias fúngicas foram caracterizadas e catalogadas através da macromorfologia: observação de características como superfície, cor do micélio e do verso da colônia, textura, pigmentação e estrutura da borda. Essas informações foram comparadas com aquelas existentes na literatura para as espécies de *Lasiodiplodia*. A presença dos fungos em tecidos internos do cafeeiro foi determinada com base nas características morfológicas.

2.3.1.5 Teste de patogenicidade

A partir do teste de isolamento de fungos endofíticos realizado no item 2.2.1.2, obteve-se cinco isolados no talhão 1 com características de *Lasiodiplodia*, codificados como T1, T4, T7, T8 e T9 e três isolados no talhão 2 codificados como T12, T17 e T18. Testou-se a patogenicidade desses isolados em brotos sadios do clone 12V da variedade clonal Vitória Incaper 8142. Os brotos desse clone foram coletados em plantas sadias do clone CV12 cultivadas em área sem histórico da seca de ramos, dentro do Ifes Campus Santa Teresa. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. Cada unidade experimental foi composta por uma estaca.

Os fungos isolados foram inoculados em brotos a mais ou menos 3 cm da base da estaca. Antes da inoculação, as estacas foram desinfestadas em hipoclorito de sódio (3:1) e em seguida lavadas em água destilada esterilizada.

A inoculação foi feita por meio de ferimento, através de perfuração no caule, com o auxílio de

um vazador metálico de 0,5 cm de diâmetro, que permitiu a retirada da casca e a exposição do lenho. Em cada orifício aberto na base da estaca foi colocado um disco de meio de cultura (BDA) com estruturas do fungo, de 0,5 cm de diâmetro, retirado da periferia do crescimento micelial das colônias em placas de Petri com 07 dias de idade, ficando o inóculo em contato com o lenho da estaca. Nas estacas testemunhas, foram colocados discos de meio de cultura (BDA) com estruturas do isolado de *L. iranensis*, registrado no Laboratório de Diagnose de Doenças de Plantas do Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Santa Teresa, com o código ST145. Esse isolado teve a sua patogenicidade testada, assim como também foram realizadas as caracterizações morfológicas e molecular.

Após a inoculação, os ferimentos foram envolvidos com algodão umedecido em água destilada esterilizada e parafilme® para proteger contra dessecação. As estacas foram colocadas em caixa de acrílico transparente do tipo “gerbox” forradas com papel toalha umedecido com água destilada esterilizada. As caixas foram deixadas sobre a bancada do laboratório durante o período necessário para a avaliação dos sintomas. Ao longo do tempo avaliou-se se o fungo foi capaz de expressar a sua patogenicidade e, se os sintomas apresentados eram semelhantes aos encontrados na testemunha.

Ao final da avaliação foi feito o reisolamento, a partir dos tecidos lesionados (conforme descrito em 2.2.1.2), para confirmação da presença do patógeno.

2.3.2 Avaliação do estresse hídrico na predisposição de plantas clonais de *C. canephora* a fungos associados à seca de ramos

2.2.2.1 Obtenção do isolado

O isolado patogênico de *L. iranensis* utilizado nesse experimento foi obtido de plantas de cafeeiro conilon e registrado no Laboratório de Diagnose de Doenças de Plantas do Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Santa Teresa, com o código ST145. O mesmo encontra-se preservado na forma de cultura pura no banco de fungos do laboratório.

2.3.2.2 Influência do estresse hídrico na predisposição de plantas clonais de *C. canephora* a fungos associados a seca de ramos

Mudas de clone suscetível de *C. canephora* (Clone K61) contendo 3 pares de folhas foram cultivadas em vasos de 3,5 L contendo ao final 3,5 Kg, somando a massa do solo mais a muda. Para a verificação da massa utilizou-se uma balança do tipo SF-400 com precisão de 1 grama.

O delineamento utilizado em blocos casualizados, em esquema fatorial 5x2, com quatro repetições, sendo o fator A composto por cinco níveis de reposição de lâmina da irrigação (50%, 75%, 100%, 125% e 150% da capacidade de pote) e o fator B composto por dois níveis (com e sem inoculação do isolado ST145 de *L. iranensis*).

A capacidade de pote (CP) foi obtida diretamente em vasos preenchidos com 3,5 kg de solo seco e determinada segundo o método gravimétrico direto. O método foi desenvolvido a partir de 4 vasos, contendo o equivalente a 3,5 kg de solo seco em estufa por 72 horas. Nos vasos, o solo foi umedecido até a saturação por capilaridade, através de furos no fundo dos mesmos, por um período de 12h; a partir de então, foram submetidos a drenagem por um período não inferior a 20h, até o total cessamento da drenagem livre, com a superfície dos vasos coberta com sacola plástica, para evitar a evaporação. Desse modo, através da diferença de massa entre o solo seco e úmido, foi determinado o conteúdo de água retido.

O tratamento de 100% correspondeu ao peso do vaso na capacidade de pote e por meio desse foram impostos os outros tratamentos. Para isso, os vasos desse tratamento foram pesados, diariamente, para determinação da quantidade de água evapotranspirada. Para a imposição dos diferentes níveis de estresse hídrico, foram aplicadas as lâminas de reposição da evapotranspiração, tomando-se como referência esse tratamento. Ou seja, foi aplicada a lâmina de água equivalente a 100% da evapotranspiração no período desde a última irrigação. Para os demais tratamentos, foram aplicadas lâminas proporcionais, equivalentes a 150, 125, 75 e 50% da lâmina evapotranspirada aos respectivos níveis de estresse hídrico.

As lâminas de água foram aplicadas utilizando-se provetas graduadas, com determinação dos volumes de água pela relação direta do volume pela massa, ou seja, volume de água (L) = massa de água (kg).

As mudas foram submetidas aos diferentes níveis de estresse hídrico durante 30 dias antes da inoculação do isolado fúngico. Após esse período, as mudas foram inoculadas com o isolado ST145 (*L. iranensis*). A inoculação foi feita por ferimento, através de perfuração no caule acerca de 5 cm acima da região do coleto, com o auxílio de um vazador metálico de 0,5 cm de diâmetro, que permitiu a retirada da casca e a exposição do lenho. Em cada orifício aberto na base da estaca foi colocado um disco de meio de cultura (BDA) com estruturas do fungo, de 0,5 cm de diâmetro, retirado da periferia do crescimento micelial das colônias em placas de Petri com 07 dias de idade, ficando o inóculo em contato com o lenho da estaca. Após a

inoculação, os ferimentos foram envolvidos com algodão umedecido em água destilada esterilizada e parafilme para proteger contra dessecação. As mudas permaneceram nas respectivas condições por mais 30 dias.

2.3.2.3 Avaliação das mudas inoculadas

A severidade da doença foi avaliada por meio da medição do tamanho das lesões. As avaliações foram realizadas a cada 2-3 dias dentro de um período de 30 dias após a inoculação. A partir dos valores de severidade, a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi calculada pelo método de integração trapezoidal, conforme proposto por Shaner e Finney (1977).

2.3.2.3 Análise de dados

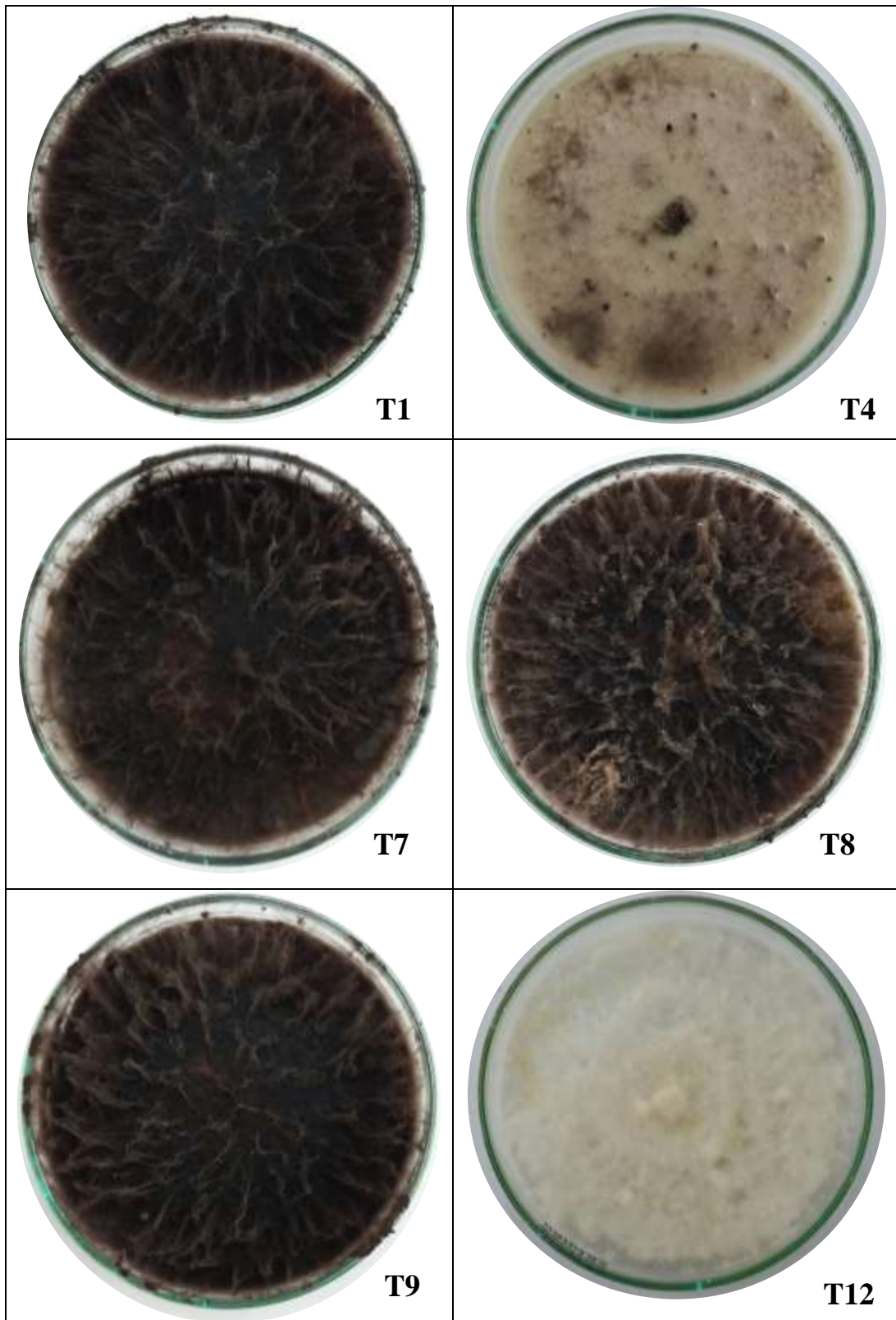
Inicialmente, para as análises estatísticas, os dados de AACPD foram submetidos às pressuposições da análise de variância, que foram comparadas pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Em seguida, os dados de AACPD obtido para os diferentes níveis do fator A composto por cinco níveis de reposição de lâmina da irrigação (50%, 75%, 100%, 125% e 150% da capacidade de pote) e o fator B composto por dois níveis (com e sem inoculação de *L. iranensis*) foram submetidos a análise de variância e posterior análise da interação. O fator A teve a variável relacionada ao progresso da doença estudado por meio dos modelos de regressão. A escolha do modelo que melhor se ajustou aos dados foi feita com base no coeficiente de determinação (R^2), da significância dos coeficientes da equação e menor quadrado médio do resíduo. As análises foram realizadas no programa estatístico RStudio (2022).

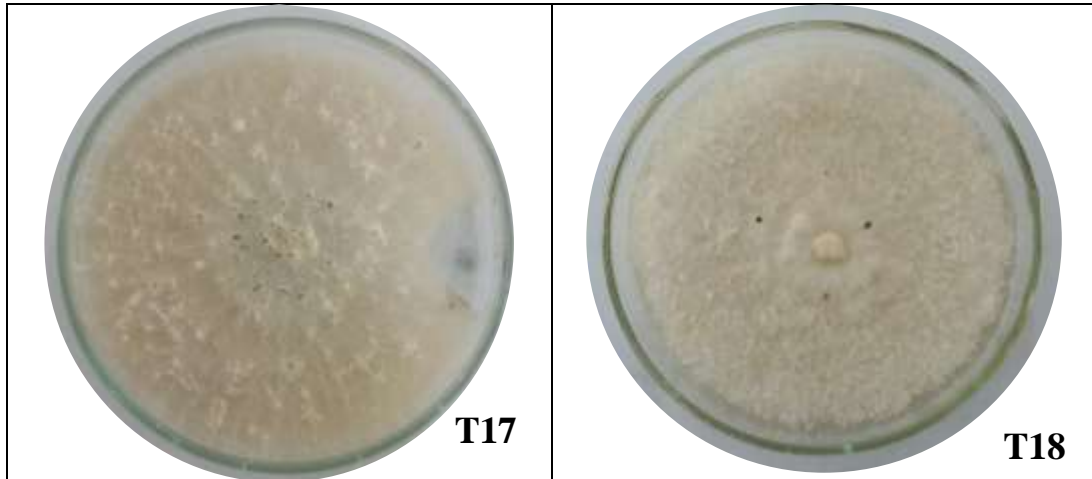
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Avaliação da presença de isolados endofíticos de *Lasiodiplodia iranensis* em clones de *C. canpenhora* suscetíveis a seca de ramos

Ao final do teste de isolamento de fungos endofíticos foram obtidos 8 isolados de fungos com características de *Lasiodiplodia* (Figura 1) a partir dos brotos coletados nos dois talhões.

Figura 1- Isolados obtidos por meio da técnica de isolamento de fungos endofíticos.





Fonte: O autor (2022)

Desses 8 isolados, 4 mostraram-se patogênicos (Figura 2) quando inoculados em brotos saudios do clone 12V da variedade clonal Vitória Incaper 8142. O isolamento desses isolados em cultura pura e comparação das colônias confirmou a patogenicidade deles.

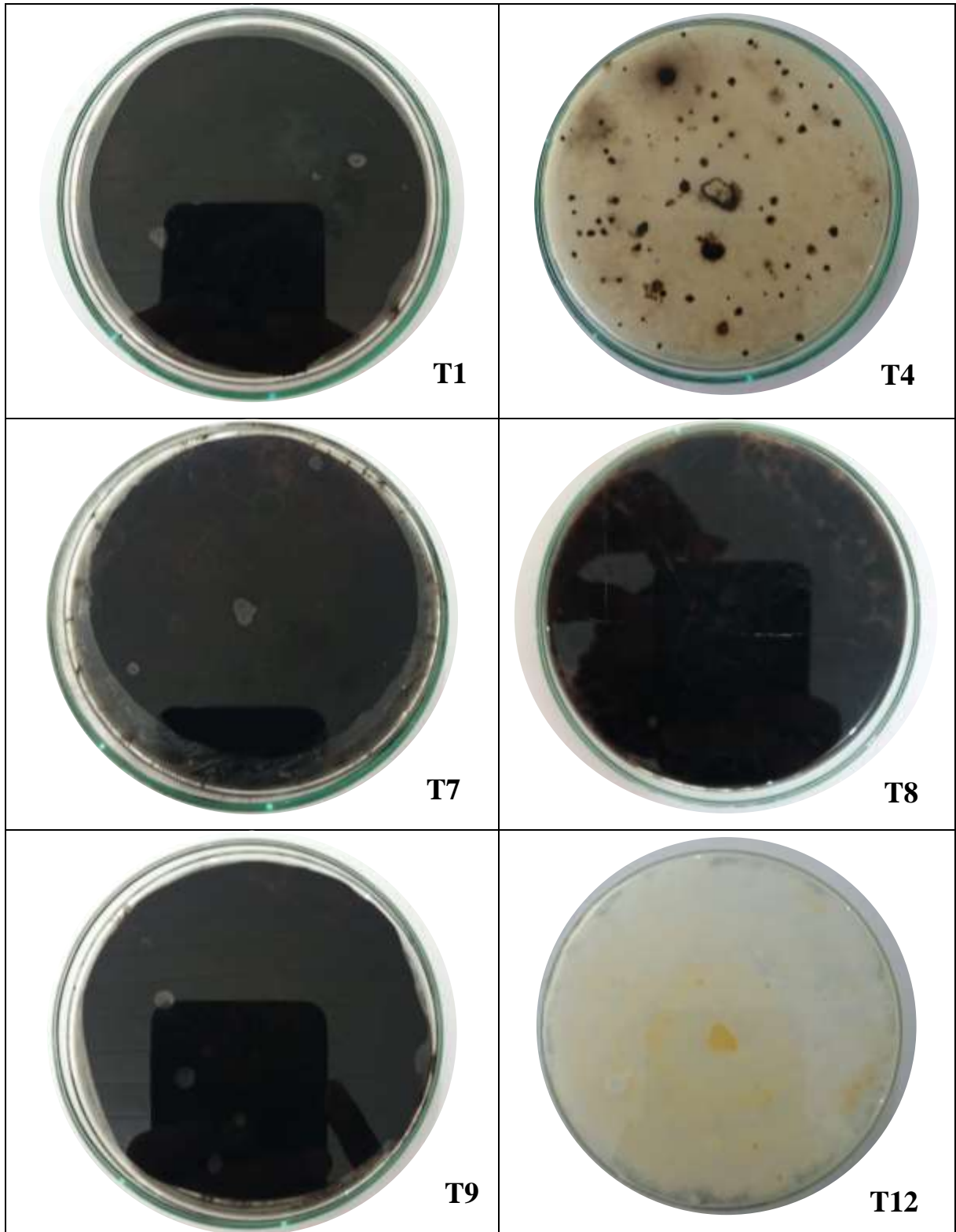
Figura 2- Isolados obtidos por meio do teste de patogenicidade em brotos saudios do clone 12V da variedade clonal Vitória Incaper 8142.

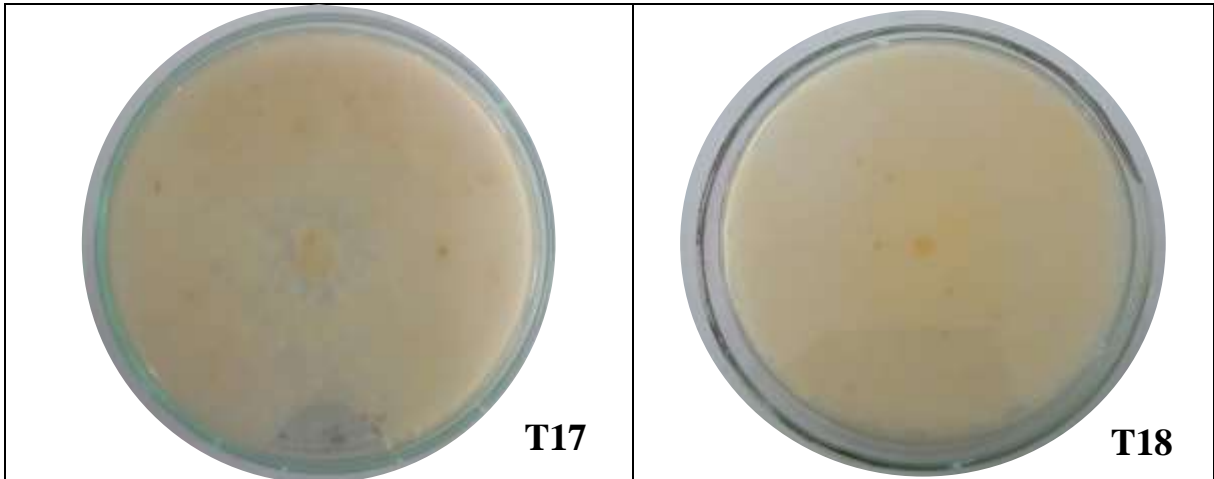


Fonte: O autor (2022)

Os isolados patogênicos possuíam características morfológicas idênticas às descritas na literatura para fungos do gênero *Lasiodiplodia*. De acordo com Marques et al., (2013) em cultura pura de BDA, as colônias de *Lasiodiplodia iranensis* apresentam inicialmente micélio aéreo branco, tornando-se cinza-esverdeado escuro ou acinzentado após 4-5 dias a 25 °C no escuro e ao reverso (Figura 3 – T1, T7, T8 e T9) da cultura em placa de Petri são foscas ou negras.

Figura 3 – Reverso das placas dos isolados obtidos por meio da técnica de isolamento de fungos endofíticos.





Fonte: O autor (2022).

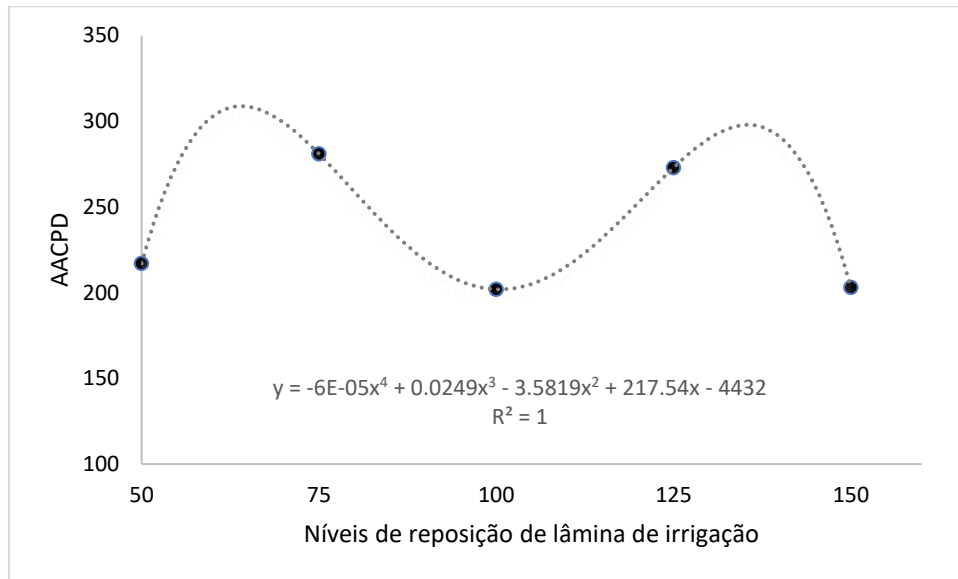
Essas características foram observadas após 15 dias de incubação, assim como, no trabalho de caracterização cultural, morfológica e patogênica de *Lasiodiplodia* desenvolvido por Lima et al. (2013).

2.4.2. Avaliação do estresse hídrico na predisposição de plantas clonais de *C. canephora* a fungos associados a seca de ramos

A análise de variância dos dados de AACPD indicou não haver diferenças significativas entre os fatores A (níveis de reposição de lâmina d'água) e B (com inoculação e sem inoculação). Ao analisar o fator A isoladamente, percebe-se que o patógeno *Lasiodiplodia iranensis* foi capaz de expressar a sua patogenicidade em todos os tratamentos levando parte das plantas à morte ou provocando sintomas de seca de ramos. O modelo polinomial de ordem 4 foi aquele que melhor se ajustou ao conjunto de dados.

Ao analisar o gráfico 1, percebe-se que houve uma tendência de redução na severidade da doença em plantas submetidas aos níveis extremos de estresse hídrico (50 e 150%). Plantas submetidas a essa condição podem apresentar uma má execução dos processos fisiológicos (RAMAKRISHNA; RAVISHANKAR, 2011; MEDEIROS et al. 2007) podendo levar a produção de espécies reativas do oxigênio (ERO), que é favorecida por vários fatores ambientais de estresse, tais como a exposição a níveis elevados de luminosidade, estresse hídrico, extremos de temperatura e radiação UV (MALLICK; RAÍ,1999).

Gráfico 1 – Regressão para os dados de AACPD de mudas de clone suscetível de *C. canephora* (Clone K61) em diferentes níveis de reposição de lâmina de irrigação.



Fonte: O autor (2022)

As ERO são formadas em etapas de redução univalente a partir do oxigênio molecular. O primeiro passo na redução de O_2 é produzir radicais de vida relativamente curta, os superóxidos. Esses radicais de oxigênio não conseguem atravessar membranas biológicas, ficando confinados no compartimento onde foram gerados (DOS SANTOS SOARES; MACHADO, 2007). As plantas protegem suas células e compartimentos subcelulares dos efeitos citotóxicos das ERO com o auxílio de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GSH), peroxiredoxina (Prx), catalase (CAT), polifenol oxidase (PPO) e metabólitos, como a glutathione, ácido ascórbico, a-tocoferol e carotenóides (SCANDALIOS, 1993; INZÉ; MONTAGU, 1995; MITTLER, 2002). As moléculas sinalizadoras produzidas estão associadas a ativação de múltiplas respostas de defesa das plantas (GADJEV et al., 2006), sendo assim, podem ter contribuído para a tendência de redução na severidade próximo aos níveis de 50 e 150% de reposição de lâmina de irrigação.

Observa-se um aumento da severidade de acordo com que distancia-se dos limites críticos, como pode ser observado no comparativo (Figura 4 – D e E) realizado entre mudas submetidas aos níveis de 125 e 150%. Entretanto, também existe uma tendência de diminuição quando nos aproximamos do tratamento de 100% de reposição de lâmina de irrigação. Ao se aproximar desse tratamento há uma tendência de diminuição do estresse abiótico sofrido pela muda e, uma aproximação do estado de homeostase. Mittler (2002) abordou que sob condições adequadas de desenvolvimento, a produção de ERO na célula é baixa, enquanto muitos estresses que

alteram a homeostase celular acentuam a sua produção. Portanto, com a diminuição do estresse hídrico, pode ter ocorrido uma redução na produção de ERO, desse modo, dando condições para o fungo penetrar, colonizar e levar o hospedeiro a morte.

A baixa severidade apresentada nas mudas que compõem o tratamento de 100% de reposição de lâmina de irrigação, possivelmente, se deve ao fato dessas plantas estarem em estado de homeostase pois, nesse tratamento o solo encontrava-se em sua capacidade de campo. Fungos do gênero *Lasiodiplodia*, em geral, preferem plantas sob estresse (ZAMBOLIM et al., 2002; MOHALI et al., 2005; CARDOSO et al., 2009; PEREIRA, 2009), fato que não ocorreu nesse tratamento (Figura 4 – C).

Figura 4- Comportamento da doença sob diferentes níveis de imposição da lâmina d'água.





Legenda: (A) Muda sob 10 % de imposição da lâmina d'água; (B) muda sob 75% de imposição da lâmina d'água; (C) muda sob 100% de imposição da lâmina d'água; (D) muda sob 125% de imposição da lâmina d'água e (E) muda sob 150% de imposição da lâmina d'água.

Fonte: O autor (2022).

Ao analisar o fator B isoladamente, percebe-se que, o fungo inoculado (*Lasiodiplodia iranensis*), foi capaz de expressar a sua patogenicidade levando algumas plantas à morte ou provocando sintomas de seca de ramos. O mesmo comportamento de morte não foi percebido em plantas que não foram inoculadas, ou seja, os níveis de déficit hídrico impostos no experimento não foram capazes de levar as plantas à morte ou provocar sintomas de seca de ramos, sendo necessário um agente biótico patogênico externo para levar a essa condição.

3 CONCLUSÃO

Brotos extraídos de plantas com sintomas de seca de ramos, coletados em lavoura comercial, apresentaram *Lasiodiplodia iranensis* colonizando endofiticamente seus tecidos.

O estresse hídrico não foi capaz de induzir morte ou seca de ramos em mudas de K61 não inoculadas.

O patógeno *Lasiodiplodia iranensis* tem a sua agressividade expressa em menor intensidade em plantas submetidas aos maiores níveis de estresse hídrico.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHZADEH, J.; JAVADI, A.; GOLTAPPEH, E. M.; ZARE, R.; PHILLIPS, A. J. L. Filogenia e morfologia de quatro novas espécies de *Lasiodiplodia* do Irã. **Filogenia Molecular Persoonia e Evolução dos Fungos**, v. 25, n.1, pág.1-10, 2010.
- ALVES, E.; CARDOSO, J.; SILVA, L.G.; LIMA, J. Interação das condições edafoclimáticas com a resinose do cajueiro. **Enciclopédia biosfera**, v.9, n.16, 2013.
- BELAN, L. L.; BERNABÉ, J. C. P.; SARTORIO, W. G.; BELAN, L. L.; DA SILVA XAVIER, A.; MORAES, W. B. Análise espaço-temporal da murcha de fusarium em plantas de cafeeiro conilon clone cv-02 da variedade vitória-incaper 8142. *In: X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, Vitoria, 2019.
- BELAN, L. L., BELAN, L. L., RAFAEL, A. M., LORENZONI, R. M., SOUZA-SOBREIRA, F. B., SOARES, T. C. B., OLIVEIRA, F. L., MORAES, W. B. First Report of Fusarium Species Associated with *Fusarium Wilt* in *Coffea canephora* Plants in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 9, p. 1859, 2018.
- BERTHAUD, J. Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Evaluation de la recherche génétique des populations sylvestres et ses mécanismes organisateurs. Consequences pour l'application, Montpellier, France: ORSTOM, 1986. 179 p.
- CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine & Hygiene**, Baltimore, v.24, p.270-276, 1939.
- CARVALHO, A.; MEDINA-FILHO, H. P.; FAZUOLI, L. C.; GUERREIRO-FILHO, O.; LIMA, M. M. A. Aspectos genéticos do cafeeiro. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 135-183, 1991.
- CARDOSO, J. E., BEZERRA, M. A., VIANA, F. M. P., SOUSA, T. R. M. D., CYSNE, A. Q., & FARIAS, F. C. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 262-266, 2009.
- CARDOSO, J.E.; SANTOS, F.J.S.; VIDAL, J.C.; SOUSA, R.N.M. Influência da poda e da lâmina de água de irrigação na produção e na incidência da podridão-seca em ateira. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Fortaleza: 2004. 17 p.
- CARDOSO, J.E; FREIRE, F. das C. O.; SÁ, F. T. de; SOUZA, R. N. M. Disseminação e controle da resinose em troncos de cajueiro decepados para substituição de copa. **Ci. Inf.** n. 17, Fortaleza.1998.
- CASTAÑO, J. J. Patogenia y epifitología en el estudio de la Lliga Macana del cafeto. **Boletín Informativo-Centro Nacional de Investigaciones de Café**, Colombia, v. 4, n. 39, p. 17-24.1953.
- COSTA, V. S. O.; MICHEREFF, S. J.; MARTINS, R. B.; GAVA, C. A. T.; MIZUBUTI, E. S. G.; CÂMARA, M. P. S. Species of *Botryosphaeriaceae* associated on mango in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v.127, n.4, p.509-519, 2010.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da**

safrã brasileira de café: Terceiro levantamento. Disponível em:
<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/café>. Acesso em: 08 dez. 2022.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de café. **Ci. Inf.** v.8 n. 4 Bras liadezembro 2021.

CORREIA, M. S; COSTA, J. L. S. Dispersão anemófila do fungo *Lasiodiplodia theobromae* em planta es de coqueiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.2, p. 150- 154, 2005.

CHARRIER A.; BERTHAUD, J. Principles and methods in coffee plant breeding: *Coffea canephora* Pierre. In: CLARKE, R.J.; MACRAE, R. **Coffee: Agronomy**. London: Elsevier Applied Science, p.167-198, 1988.

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

CUSTÓDIO, F. A; MACHADO, A. R; SOARES, D. J; PEREIRA, O.L. *Lasiodiplodia hormozganensis* causando podridão basal do caule em *Ricinus communis* no Brasil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 13, n. 1, p g. 1-6, 2018.

DESPREZ-LOUSTAU, M. L.; MAR AIS, B.; NAGELEISEN, L. M.; PIOU, D.; VANINI, A. Interactive effects of drought and pathogens in Forest trees. **Annals of Forest Science**, v.63, p. 597-612, 2006.

DE KOCHKO, A.; AKAFFOU, S.; ANDRADE, A.C.; CAMPA, C.; CROUZILLAT, D.; GUYOT, R.; HAMON, P.; MING, R.; MUELLER, L.A.; PONCET, V.; TRANCHANT-DUBREUIL, C.; HAMON, S.; JEAN-CLAUDE, K.; MICHEL, D. Advances in Coffea Genomics. In: DELSENY, M.; KADER, J.C. **Advances in Botanical Research**. Londres: UK. Academic Press, p. 23-63, 2010.

DOS SANTOS SOARES, A. M.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinaliza o qu mica e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tr pica–Ciências Agr rias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 10, 2007.

ELSIE, M. C.; BERNARD, S.; JOLANDA, R.; MICHAEL, J. Wingfield, Phylogenetic species recognition and hybridisation in *Lasiodiplodia*: A case study on species from baobabs. **Fungal Biology**, v.121, n. 4, p. 420-436, 2017.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant Physiology**, v. 101, p. 7-12, 1993.

FARR, D.F.; ROSSMAN, A.Y. **Fungal Databases, U.S.** National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved September 30, 2019. Disponível em: <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>. acesso em 04 de dezembro de 2021.

FAZUOLI, L. C. **Metodologia, critérios e resultados da sele o em progênies do café Icatu com resistência a *Hemileia vastatrix***. Campinas, 1991. 322 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, 1991.

FERRÃO, R.; DOS SANTOS, W. G.; FERRÃO, M.; SPADETO, J.; RIVA-SOUZA, E. M.;

- DA FONSECA, A. F. A. Indicação de cultivares de café arábica para o estado do Espírito Santo e avaliação comparativa com o conilon em altitude elevada. **Ci. Inf.** v. 6, Brasília.2021.
- FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A. da; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H.; VERDIM FILHO, A. C.; VOLPI, P. S.; MARQUES, E. M. A.; ZUCATELI, F. **Café conilon: técnicas de produção com variedades melhoradas.** 3 ed. Vitória: Incaper, 2012. 60 p.
- FERRÃO, M.A.G.; FONSECA, A.F.A.; VERDIN FILHO, A.C.; VOLPI, P.S. Origem, Dispersão, Taxonomia e Diversidade Genética de *Coffea Canephora*. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A. da.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. **Café Conilon.** Vitória: Incaper, p. 64-91, 2007.
- FERRÃO, R. G. *et al.* Plano estratégico de desenvolvimento da agricultura capixaba: novo pedreg : 2007-2025. **Estudo Setorial Cafeicultura.** Vitória, p. 45. 2007a.
- FONSECA, A. F. A. da. **Análises biométricas em café conilon (*Coffea canephora* Pierre).** 1999. 121 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- FREIRE, F. C. O.; VIANA, F. M. P.; CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. A. dos. **Novos hospedeiros do fungo *Lasiodiplodia theobromae* no Estado do Ceará.** 1. ed. Fortaleza: Embrapa Agroindustria Tropical, 2004.
- FREITAS-LOPES, R.L; MACHADO, A.R.; LOPES, U.P. Coffee Dieback Caused by *Lasiodiplodia pseudotheobromae* in Brazil. **Plant Diseases Notes** 2020. Disponível em:<https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-09-19-1957-PDN> . Acesso em 04 de dezembro de 2021.
- GADJEV, I.; VANDERAUWERA, S.; GECHEV, T.S.; LALOI, C.; MINKOV, I.N.; SHULAEV, V.; APEL, K.; INZE, D.; MITTLER, R.; BREUSEGEM, F.V. Transcriptomic Footprints Disclose Specificity of Reactive Oxygen Species Signaling in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 141, p. 436-445, 2006.
- GOOS, R.; COX, E.; STOTZKY, G. *Botryodiplodia theobromae* and its association with *Musa* species. **Mycologia**, v.53, n.3, p. 262–277. 1961.
- HENDRE, P.S; PHANINDRANATH, R.; ANNAPURNA, V.; LALREMRUATA, A.; AGGARWAL, R.K. Development of new genomic microsatellite markers from robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) showing broad cross-species transferability and utility in genetic studies. **BMC plant biology**, v. 8, n. 1, p. 1-19, 2008.
- HOLLIDAY, Paul. Fungus diseases of tropical crops. **Cambridge University Press**, p. 330-331,1980.
- ISALAR, O. F.; OGBUJI, N.G.; OKUNGBOWA, F.I.; ATAGA, A. E. Contaminantes Fúngicos Associados a Sementes de Amendoim (*Arachis hypogaea*). **Jornal de Bioinformática e Biologia de Sistemas** , v. 4, p. 182-193, 2021.
- INZÉ, D.; MONTAGU, M.V. Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 6, p. 153-158, 1995.
- LIMA, E.A. **Resistência múltipla de *Coffea Canephora* Conilon a *Meloidogyne* spp: mecanismos e genes candidatos.** 2015. 148 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) -

Universidade de Brasília, 2015.

LIMA, J. S., MOREIRA, R. C., CARDOSO, J. E., MARTINS, M. V. V., & VIANA, F. M. P. Caracterização cultural, morfológica e patogênica de *Lasiodiplodia theobromae* associado a frutíferas tropicais. **Summa Phytopathologica**, v. 39, p. 81-88, 2013.

LIVRAMENTO, D.E. Morfologia e fisiologia do cafeeiro. *In*: REIS, P.R.; CUNHA, L.R. **Café Arábica – do Plantio à Colheita**. Lavras: EPAMIG, p. 87-161, 2010.

MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R. **A ferrugem do cafeeiro no Brasil e seu controle**. Varginha: MAPA/ PROCAFÉ/ Embrapa Café, 2006. 106 p.

MATIELLO, J. B.; JOSINO, V. **Provável traqueomicose em cafeeiros robusta, em Pirapora-MG e no norte do ES**. 2015

MALLICK, N.; RAI, L.C. Response of the antioxidant systems of the nitrogen fixing cyanobacterium *Anabaena doliolum* to the copper. **Journal of Plant Physiology**, v. 155, RYA p. 146-149, 1999.

MARQUES, M. W.; LIMA, N. B.; DE MORAIS JÚNIOR, M. A.; BARBOSA, M. A. G.; SOUZA, B. O.; MICHEREFF, S. J.; PHILLIPS, A. J. L.; CÂMARA, M. P. S. Species of *Lasiodiplodia* associated with mango in Brazil. **Fungal Diversity**, v.61, n.1, p.181-193, 2013.

MAIER, W.; HAMMER, K.; DAMMANN, U.; SCHULZ, B.; DIETER, S. Accumulation of sesquiterpenoid cyclohexenone derivatives induced by an arbuscular mycorrhizal fungus in members of the Poaceae. **Planta**, v.202, p.36-42, 1997.

MEDEIROS, J.F.; SANTOS, S.C.L.; CÂMARA, M.J.T.; NEGREIROS, M.Z. Produção de melão Cantaloupe influenciado por coberturas do solo, agrotêxtil e lâminas de irrigação. **Revista Horticultura Brasileira** 25, 2007.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant in Science**, v. 9, p. 405-410, 2002.

MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de Plantas na Agricultura Sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2001. 368p.

MOHALI, S.; BURGESS, T.I.; WINGFIELD, M.J. Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat markers. **Forest Pathology**, Berlin, v.35, p.385-396, 2005.

MULLEN, J.M.; GILLIAM, C.H.; HAGAN, A.K.; MORGAN-JONES, G. Canker of dogwood caused by *Lasiodiplodia theobromae*, a disease influenced stress or cultivar selection. **Plant Disease**, St. Paul, v.75, p.886-889, 1991.

NETTO, M. S. B.; ASSUNÇÃO, I. P.; LIMA, G. S. A.; MARQUES, M. W.; LIMA, W. G.; MONTEIRO, J. H. A.; BALBINO, V. DE Q.; MICHEREFF, S. J.; PHILLIPS, A. J. L.; CÂMARA, M. P. S.; Species of *Lasiodiplodia* associated with papaya stem-end rot in Brazil. **Fungal Diversity**, v.67, n.1, p.127-141, 2014.

PAULINO, A. J.; MATIELLO, J. B.; PAULINI, A. E. Mudanças clonais de café conilon: tecnologia de produção. **Boletim Técnico**, v. 35. 1995.

- PEREIRA, A.V.S. **Sensibilidade a fungicidas e adaptabilidade de *Lasiodiplodia theobromae* patogênico ao mamão**. 2009. 57 f. Tese (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Rural de Pernambuco, 2009.
- PUNITHALINGAM, E. **Plant diseases attributed to *Botryodiplodia theobromae***. Vaduz: Pat. J. Cramer, 1980.
- PHILLIPS, A.J.; ALVES, A.; ABDOLLAHZADEH, J.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M.J.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. **Studies in Mycology**, v.76, n.1, p.51-167. 2013.
- RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signalling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720-1731, 2011.
- RENA, A.B.; CARVALHO, C.H.S. Causas abióticas da seca de ramos e morte de raízes em café. In: ZAMBOLIM, L. **Produção Integrada de Café**. Viçosa: Departamento de Fitopatologia, p.197-222, 2003.
- RIBEIRO FILHO, J. Estudo preliminar sobre incidência do "secamento de ponteiros" ou "die back" em algumas variedades de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Revista ceres**, v.59, 9.413-421, 1958.
- RUBINI, M.R.; SILVA-RIBEIRO, R.T.; POMELLA, A.W.V.; MAKI, C. S.; ARAÚJO, W. L.; SANTOS, D. R. D.; AZEVEDO, J. L. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosus*, causal agent of Witches' Broom Disease. **International Journal of Biological Sciences**, v. 1, p. 24-33, 2005.
- SAKALIDIS, M.L.; HARDY, G. E. S.; BURGESS, T. I. Endófitos como potenciais patógenos da espécie baobá *Adansonia gregorii*: um foco na *Botryosphaeriaceae*. **Ecologia Fúngica**, v. 4, n. 1, pág. 1-14, 2011.
- SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, v.67, p.1051-1056, 1977.
- SIMÃO, J.; DE SOUZA, M. A.; DA SILVA, M. V.; ZANÚNCIO JUNIOR, J. S. Denominação de origem Caparaó para Café Arábica. In: INCAPER EM REVISTA. **Indicações geográficas e certificação na agropecuária capixaba**. Vitória: Incaper, v. 11 e 12, p. 49-60, 2021.
- SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M.J. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal Biology Reviews**. v.21, p.90-106. 2007.
- TAVARES, S.C.C.H. Epidemiologia e manejo integrado de *Botryodiplodia theobromae* – situação atual no Brasil e no mundo. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.46-52. 2002.
- TAVARES, SCC de H. *Botryodiplodia theobromae* Lat. em mangueira no Submedio Sao Francisco. II-Condicoes predisponentes-controle. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 15, n. 1, p. 147-152, 1993.
- TRAKUNYINGCHAROEN, T.; LOMBARD, L.; GROENEWALD, J.Z.; CHEEWANGKON, R.; TO-ANUN, C.; CROUS, P.W. Caulicolous *Botryosphaeriales* from

Thailand. **Persoonia**, v.34, n.13, p. 87–99, 2015.

VAN NIEKERK, J.; STREVER, A.; DU TOIT, G.; HALLEEN, F.; FOURIE, P. Influence of water stress on *Botryosphaeriaceae* disease expression in grapevines. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 50, p. 151-165, 2011.

VEASEY, E. A.; PIOTTO, F. A.; NASCIMENTO, W. F. D.; RODRIGUES, J. F.; MEZETTE, T. F.; BORGES, A.; MISTRO, J. C. Processos evolutivos e a origem das plantas cultivadas. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1218-1228, 2011.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; SANTANA, E. N.; MARTINS, M. V. V. Diagnóstico e manejo das doenças do cafeeiro conilon. *In*: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. **Café Conilon**. Vitória: Incaper, p. 453-497, 2007.

ZAMBOLIM, L.; SOUZA, A.F.; ZAMBOLIM, E.M.; RENA, A.B. Seca de ramos do cafeeiro - Fatores bióticos e abióticos. *In*: ZAMBOLIM, L. **Boas Práticas Agrícolas na Produção de Café**. Viçosa: Departamento de Fitopatologia p.1-60, 2006.

ZAMBOLIM, L.; COSTA, H; VENTURA, J.A.; VALE, F.X.R. Controle de doenças em pós-colheita de frutas tropicais. *In*: ZAMBOLIM, L. **Manejo integrado de doenças e pragas de fruteiras tropicais**. Viçosa: Departamento de Fitopatologia, p. 443-500, 2002