



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

AMANDA CUPERTINO DE QUEIROZ BRITO

**TAXONOMIA, FILOGENIA E DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE
BOTRYOSPHERACEAE CAUSADORAS DA PODRIDÃO NEGRA DAS RAÍZES
E PODRIDÃO SECA DAS MANIVAS DE MANDIOCA
(*MANIHOT ESCULENTA*) NO BRASIL**

Recife

2019

AMANDA CUPERTINO DE QUEIROZ BRITO

**TAXONOMIA, FILOGENIA E DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE
BOTRYOSPHAERIACEAE CAUSADORAS DA PODRIDÃO NEGRA DAS RAÍZES
E PODRIDÃO SECA DAS MANIVAS DE MANDIOCA
(*MANIHOT ESCULENTA*) NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia Aplicada

Orientador: Alexandre Reis Machado
Coorientador: Sami J. Michereff

Recife
2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Brito, Amanda Cupertino de Queiroz

Taxonomia, filogenia e diversidade de espécies de Botryosphaeriaceae causadoras da podridão negra das raízes e podridão seca das manivas de mandioca (*Manihot esculenta*) no Brasil / Amanda Cupertino de Queiroz Brito - 2019.

66 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Alexandre Reis Machado

Coorientador: Sami J. Michereff

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos. Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Fungos 2. Mandioca 3. Botryosphaeriales

I. Machado, Alexandre Reis (orient.) II. Michereff, Sami J. (coorient.)

III. Título

579.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-216

AMANDA CUPERTINO DE QUEIROZ BRITO

**TAXONOMIA, FILOGENIA E DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE
BOTRYOSPHERACEAE CAUSADORAS DA PODRIDÃO NEGRA DAS RAÍZES
E PODRIDÃO SECA DAS MANIVAS DE MANDIOCA
(*MANIHOT ESCULENTA*) NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais para a obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos.

Aprovada em: 25/02/2019

BANCA EXAMINADORA

Profº Dr. Alexandre Reis Machado (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profª Dra. Neiva Tinti de Oliveira (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº Dr. André Angelo Medeiros Gomes (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Ao meu Orientador prof. Dr. Alexandre Reis Machado pelos ensinamentos, atenção, dedicação e paciência;

Aos meus colegas de mestrado e de laboratório pelos momentos que passamos juntos, foi uma convivência maravilhosa;

À minha mãe Euse Cupertino por estar presente em todos os momentos e as minhas amigas e parceiras de laboratório Juliana Ferreira de Mello e Thays Gabrielle Lins de Oliveira pela amizade, apoio e compreensão nos momentos bons e ruins durante esses anos de mestrado;

Ao Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco onde pude desenvolver minhas pesquisas;

A CNPq e a FACEPE pelo suporte financeiro;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

RESUMO

A mandioca é uma raiz tuberosa, rica em amido, o que confere à planta um alto valor calórico, razão pela qual é utilizada para alimentação humana e animal e como insumo para as indústrias. A podridão negra da raiz e a podridão seca de manivas são doenças da mandioca que comprometem a qualidade do produto e podem reduzir drasticamente o rendimento das culturas. Diante disso, o estudo teve como objetivo identificar as espécies de Botryosphaeriaceae associadas a essas duas doenças em áreas do Nordeste brasileiro e do estado de Minas Gerais e inferir uma correlação entre essas doenças. A identificação dos isolados foi feita por meio de uma combinação de morfologia e análise filogenética das regiões gênicas do fator de alongação da tradução (TEF1 - α) e do espaçador transcrito interno (ITS). Cinco espécies foram identificadas relacionadas à podridão negra de raiz e a podridão seca de maniva (*Lasiodiplodia parva*, *L. euphorbicola*, *L. theobromae*, *L. hormozganensis*, *Neoscytalidium dimidiatum*) e seis à podridão seca de maniva (*L. brasiliense*, *L. laeliocattleyae*, *L. caatinguensis*, *L. pseudotheobromae*, *L. iraniensis*, *Macrophomina pseudophaseolina*). Todas as espécies identificadas neste estudo foram capazes de causar podridão negra de raiz e podridão seca de manivas em mandioca. Em ordem, as espécies mais freqüentemente isoladas neste levantamento foram *L. theobromae*, *N. dimidiatum* e *L. euphorbicola*. Este é o primeiro relato de *L. parva*, *L. brasiliense*, *L. laeliocattleyae*, *L. hormozganensis*, *L. caatinguensis*, *L. iraniensis* e *Macrophomina pseudophaseolina* associadas a doenças de mandioca no mundo.

Palavras-chave: Botryosphaeriales. Filogenia. Fitopatógenos. Fungos. Mandioca. Taxonomia.

ABSTRACT

Cassava is a tuberous root, rich in starch, which gives the plant a high caloric value, reason why is used for human and animal food and as an input for industries. Black root rot and stem rot are cassava diseases that compromise product quality and can drastically reduce crop yields. In view of this, the study aimed to identify Botryosphaeriaceae species associated with those both diseases in areas of Northeast Brazil and Minas Gerais state and to infer a correlation between these diseases. The isolates identification was made by a combination of fungi morphology and phylogenic analyses of the genic regions of translation elongation factor 1 α (TEF1- α) and internal transcribed spacer (ITS). Five species were identified related to black root rot and stem rot (*Lasiodiplodia parva*, *L. euphorbicola*, *L. theobromae*, *L. hormozganensis*, *Neoscytalidium dimidiatum*) and six to stem rot (*L. brasiliense*, *L. laeliocattleyae*, *L. caatinguensis*, *L. pseudotheobromae*, *L. iraniensis*, *Macrophomina pseudophaseolina*). All species identified in this survey were capable to cause cassava black root rot and stem rot. In order, the most frequently isolated species in this survey were *L. theobromae*, *N. dimidiatum* and *L. euphorbicola*. This is the first report of *L. parva*, *L. brasiliense*, *L. laeliocattleyae*, *L. hormozganensis*, *L. caatinguensis*, *L. iraniensis* and *Macrophomina pseudophaseolina* associated with cassava diseases in the world.

Keywords: Botryosphaeriales. Cassava. Fungi. Phylogeny. Plant pathogens. Taxonomy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Sintomas de podridão em manivas e raízes de <i>Manihot esculenta</i> causados por espécies de Botryosphaeriaceae	30
Figura 2 –	Árvore filogenética de <i>Lasiodiplodia</i> gerada a partir da análise Bayesiana da região gênica TEF1- α	35
Figura 3 –	Árvore filogenética dos gêneros <i>Neoscytalidium</i> e <i>Macrophomina</i> gerada a partir da análise Bayesiana da região gênica TEF1- α	36
Figura 4 –	Árvore filogenética de <i>Lasiodiplodia</i> gerada a partir da análise Bayesiana baseada nas sequências combinadas das regiões ITS e TEF1- α	37
Figura 5 –	Árvore filogenética do <i>Neoscytalidium</i> e da <i>Macrophomina</i> gerada a partir da análise Bayesiana baseada nas sequências combinadas das regiões ITS e TEF1- α	38
Figura 6 –	Características morfológicas do gênero <i>Lasiodiplodia</i> e do <i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	47
Figura 7 –	Resultado do teste de patogenicidade mostrando espécies de Botryosphaeriaceae causando podridão negra em raízes de mandioca sete e dez dias após inoculação dos fungos.....	49
Figura 8 –	Resultado do teste de patogenicidade mostrando espécies de Botryosphaeriaceae causando podridão em mudas de mandioca 42 dias após a inoculação dos fungos.....	50
Gráfico 1 –	Comprimento médio das lesões (mm) em mudas de mandioca causados por espécies de Botryosphaeriaceae associadas a doenças da mandioca no Brasil 42 dias após a inoculação dos fungos.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Números de acesso do Genbank das seqüências de DNA de Botryosphaeriaceae usadas nas análises filogenéticas.....	32
Tabela 2 –	Comparação das características morfológicas das espécies examinadas neste estudo com estudos anteriores.....	48

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1	<i>MANIHOT ESCULENTA</i> : é mandioca ou macaxeira?	13
2.2	PRAGAS E DOENÇAS QUE AFETAM O CULTIVO DA MANDIOCA.....	16
2.2.1	Podridão negra das raízes e podridão seca das manivas de mandioca	18
2.3	BOTRYOSPHAERIACEAE	20
2.3.1	<i>Lasiodiplodia</i>	23
2.3.2	<i>Neoscytalidium</i>	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	COLETA DAS AMOSTRAS E ISOLAMENTO DOS FUNGOS.....	25
3.2	ESTUDO MORFOLÓGICO.....	25
3.3	EXTRAÇÃO DE DNA.....	26
3.4	AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO.	26
3.5	ANÁLISES FILOGENÉTICAS	27
3.6	TESTES DE PATOGENICIDADE	28
3.6.1	Inoculação em raízes de mandioca.	28
3.6.2	Inoculação em mudas de mandioca.....	29
4	RESULTADOS	30
4.1	SINTOMATOLOGIA E ISOLAMENTO DOS FUNGOS	30
4.2	SEQUENCIAMENTO DO DNA E ANÁLISES FILOGENÉTICAS.....	31
4.3	TAXONOMIA.....	38
4.4	PATOGENICIDADE	48
5	DISCUSSÃO.....	52
6	CONCLUSÕES.....	56
	REFERÊNCIAS.....	57

1 INTRODUÇÃO

Manihot esculenta Crantz é uma espécie de planta dicotiledônea, pertencente à família Euphorbiaceae (CARVALHO, 2006), que apresenta raízes tuberosas capazes de armazenar grande quantidade de amido, o que confere um alto valor energético à planta. Dependendo da quantidade de ácido cianídrico, substância tóxica encontrada nas raízes, é separada em mandioca mansa, também chamada de macaxeira ou aipim, destinada ao uso doméstico para alimentação humana e animal e em mandioca brava, ou apenas mandioca, usada para fins industriais, tais como, a fécula e a fabricação da farinha de mandioca (MATTOS, 2006a).

Atualmente o Brasil ocupa o primeiro lugar na América Latina e o quarto lugar no mundo na produção de mandioca, ficando atrás da Nigéria, o atual líder mundial, da Tailândia e Indonésia (FAO, 2017). Aliado ao seu alto valor calórico, a mandioca é uma planta resistente, adaptada ao clima quente dos trópicos e a solos pobres em nutrientes, o que a torna uma cultura importante para a agricultura familiar, garantindo alimento, emprego e renda para as populações de baixa renda no Brasil, principalmente nos locais mais carentes da região nordeste do país (EMBRAPA, 2003; MATTOS, 2006a; SOUZA & SOUZA, 2006; FAO, 2013).

Apesar da sua importância social e econômica, poucos são os estudos realizados sobre as doenças que acometem a cultura da mandioca. Dentre elas estão às doenças provocadas por fungos que comprometem a qualidade do produto e podem reduzir drasticamente a produtividade da cultura (MICHEREFF et al., 2005). Como exemplos de tais doenças, temos a podridão negra das raízes e a podridão seca das manivas de mandioca, cuja incidência vem aumentando significativamente nos últimos anos.

De acordo com Massola Jr. et al. (2016), plantas afetadas com a podridão negra das raízes, apresentam amarelecimento e queda das folhas, o que pode ocasionar a morte dessas plantas ainda no campo. Ao incidir sobre as manivas, os fungos causadores dessa doença, diminuem a capacidade de germinação das gemas. Ainda, segundo Massola Jr. et al. (2016), a podridão seca das manivas gera plantas doentes devido à diminuição da viabilidade do material propagativo contaminado, o que também pode acarretar a morte das plantas no campo. O aumento da incidência dessas doenças na região nordeste do Brasil pode estar associado ao fato de grande parte do plantio de mandioca ser feito em pequenas propriedades rurais utilizando baixo nível tecnológico e material propagativo (manivas) de baixa qualidade fisiológica e fitossanitária (SILVA et al., 2013).

No Brasil, a condição de agente causal da podridão negra das raízes era associada ao fungo *Scytalidium lignicola* (LARANJEIRA et al., 1994). Porém, recentemente verificou-se, com base em análises filogenéticas, que os agentes etiológicos se tratavam de *Lasiodiplodia* spp. e *Neoscytalidium hyalinum* (= *N. dimidiatum*) (MACHADO et al., 2014a), enfatizando assim a importância de estudos mais aprofundados em trabalhos de diagnose. Apesar dessa recente contribuição, a podridão negra das raízes ainda precisa ser mais bem estudada, uma vez que Machado et al., (2014a) realizaram um estudo com apenas 6 isolados provenientes dos estados do Maranhão e Paraíba, sendo então uma amostragem restrita e pouco representativa.

Contudo, este estudo forneceu fortes indícios de uma possível elevada diversidade de espécies de Botryosphaeriaceae associadas a essa doença, da mesma forma como ocorreu para outros patossistemas como as podridões causadas pelo complexo *Lasiodiplodia* spp. em manga (MARQUES et al., 2013a), em mamão (NETTO et al., 2014) e para podridão radicular e do colo do pinhão-manso (*Jatropha curcas*) no Brasil, em que nove espécies de Botryosphaeriaceae foram relatadas, das quais quatro eram novas para a ciência (MACHADO et al., 2014b). Na pouca literatura existente a respeito da podridão seca das manivas, o fungo *Lasiodiplodia theobromae* (MASSOLA JR. et al., 2016) tem sido relatado como o agente causal dessa doença. Todavia, os dados em relação à etiologia, tanto da podridão negra das raízes, quanto da podridão seca das manivas de mandioca, ainda são incipientes.

Os gêneros *Neoscytalidium* e *Lasiodiplodia* estão incluídos na família Botryosphaeriaceae (Botryosphaeriales, Dothideomycetes, Ascomycota), um grupo que nos últimos anos vêm sofrendo significativas alterações na taxonomia, sistemática e na nomenclatura, em razão do uso de sequências de DNA em análises filogenéticas (PHILLIPS et al., 2013). O advento da biologia molecular unida à análise morfológica permitiu a descoberta de diversas espécies crípticas ainda desconhecidas para a ciência, cuja tarefa seria praticamente impossível utilizando apenas a análise da morfologia (ALVES et al., 2008; TRAKUNYINGCHAROEN et al., 2015).

Assim, considerando a importância da cultura da mandioca no Brasil, dos fungos da família Botryosphaeriaceae relacionados às culturas de importância econômica e social e a carência de estudos acurados relacionados à etiologia da podridão negra das raízes e à podridão seca das manivas de mandioca, cuja incidência vem crescendo na região nordeste do país e no estado de Minas Gerais, se faz necessário à investigação dessas doenças e a identificação de seus agentes causais, uma vez que estas informações certamente contribuirão

para futuros estudos envolvendo variedades resistentes, como também para a definição de estratégias de controle dessas doenças.

Tendo em vista o que foi exposto, o estudo teve como objetivos (I) identificar as espécies de Botryosphaeriaceae associadas com podridão negra das raízes e podridão seca das manivas de mandioca em áreas do nordeste brasileiro e de Minas Gerais; (II) avaliar a patogenicidade e a agressividade dos isolados obtidos; (III) verificar se as espécies encontradas em raízes são as mesmas encontradas em manivas inferindo uma possível correlação entre essas doenças.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *MANIHOT ESCULENTA*: é mandioca ou macaxeira?

Incluída na família Euphorbiaceae, a *Manihot esculenta* Crantz é uma planta rústica e arbustiva que exibe um sistema radicular rico em fécula, um caule ereto e quebradiço munido de nós salientes e com folhas simples insertas, e flores unissexuadas e monoclamídeas. Apresenta uma elevada diversidade genotípica que em parte é atribuída ao seu sistema de cruzamento (alógamo) e a preservação das plantas com traços diferentes, por parte dos indígenas e agricultores, proveniente da germinação de suas sementes botânicas (CARVALHO, 2006).

Com indícios de seu cultivo datando há 5.000 anos na América Latina, o Brasil é o provável centro de origem e domesticação da *M. esculenta*, sendo essa hipótese reforçada pelo fato do País apresentar a maior diversidade biológica do gênero, com 80% das espécies silvestres de *Manihot*, com polimorfismo vegetativo significativo, estarem presentes em seu território (CARVALHO, 2006). Já a sua disseminação pelo mundo ocorreu por meio dos portugueses na África e por mercadores espanhóis na Ásia, após a descoberta da América. Por fim, em meados de 1.800, alcançou a Índia onde tem uma distribuição e importância alimentar expressiva (ALBUQUERQUE, 2008).

Capaz de se adaptar a diferentes ecossistemas e bem habituada ao clima tropical e subtropical, a *M. esculenta* foi cultivada por povos ameríndios desde a antiguidade (FUKUDA, 2006a; SOUZA & SOUZA, 2006) e até hoje se faz presente na dieta das pessoas em diversas partes do mundo. Com capacidade de produzir amido nas folhas e armazená-lo em seus tecidos de reserva, é uma planta de aproveitamento integral, podendo ser utilizada na alimentação humana e animal e para fins industriais (OTSUBO et al., 2001; MATTOS, 2006a; FIALHO et al., 2009).

De acordo com a concentração de ácido cianídrico (HCN) presente em suas raízes, a *M. esculenta* é separada em duas grandes categorias. Conforme, Mattos (2006a) as raízes que apresentam uma concentração maior que 100mg de HCN/kg são classificadas como variedades bravas ou amargas, enquanto as que apresentam valores inferiores a 100mg de HCN/kg são consideradas variedades mansas ou doces. A produção de HCN por essa planta é uma consequência da hidrólise de um glicosídeo cianogênico, a linamarina ($C_{10}H_{17}NO_6$) (FUKUDA, 2006a; MATTOS, 2006a). Esse ácido, que também é conhecido como ácido

prússico, é uma substância tóxica que além de provocar intoxicações, pode ser letal sobre certas circunstâncias, tanto para humanos, quanto para animais.

As variedades bravas de *M. esculenta*, conhecidas como mandioca, são destinadas para fins industriais, pois devido a sua alta concentração de HCN precisam ser processadas antes de serem consumidas. A partir dessa variedade de raiz são obtidas vários tipos de farinha e a fécula que é o amido proveniente da raiz de mandioca. A fécula pode ser utilizada na alimentação humana ou como fonte de matéria-prima para indústrias. Entre suas aplicações podemos citar o uso da fécula fermentada para a produção de polvilho, a fécula modificada para a obtenção de dextrina, glucose, sorbitol, vitamina C e a fécula na forma *in natura* utilizada na fabricação de tapioca, goma para tecidos, fermento químico, álcool e papéis (EMBRAPA, 2003).

As variedades mansas ou doces são destinadas ao uso doméstico para alimentação humana e animal. Conhecidas como macaxeira, aipim ou mandioca de mesa, não precisam ser processadas antes de serem consumidas. O simples cozimento e/ou fritura é o bastante para eliminar o HCN presente nesse tipo de raiz. Além das raízes, que são ricas em calorias, as folhas dessa planta são ótimas fontes de minerais, vitaminas A, C e do complexo B e proteínas, podendo, inclusive, serem utilizadas como suplemento alimentar para crianças (MATTOS, 2006a; FIALHO et al., 2009).

Além da alta ou baixa presença de compostos cianogênicos que confere as raízes um sabor amargo ou doce, respectivamente, não temos como separar essas duas variedades apenas pela aparência da planta. Outrora, segundo Cunha & Neto (2016), essa diferenciação foi realizada pelos povos antigos mediante a observação da suscetibilidade menor, por parte da planta, a ataque de insetos, animais e a doenças, já que concentrações maiores desses compostos proporcionam maior proteção à planta. Hoje, ainda segundo os mesmos autores, temos que confiar no conhecimento dos produtores que trabalham e conhecem esse material há mais tempo ou fazer testes em laboratório para realizar essa diferenciação entre as variedades.

Fonte de alimento para milhões de pessoas, principalmente nos países em desenvolvimento da América Latina, África, Ásia e apontada pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) como a quarta cultura de produção de alimentos de maior importância do mundo (FILGUEIRAS & HOMMA, 2016), a mandioca vem passando por um crescimento em sua demanda global, estimulada, principalmente, pelos setores de etanol, em especial na Ásia (FAO, 2017).

O Brasil que já foi responsável por 12,7% da produção total de mandioca, ocupando a vice-liderança mundial nesse mercado (EMBRAPA, 2003), vem sofrendo com a expansão da produção asiática dos últimos anos. Tal expansão vem sendo impulsionada pela modernização e o alto desempenho das fecularias que contam com o auxílio de grandes empresas associadas à mandioca (FAEP, 2015). Esse crescimento da produção Asiática resultou em uma queda de posição do Brasil no ranking mundial, passando a ocupar o quarto lugar, contribuindo com apenas 7,7% da produção total, ficando atrás da Nigéria, o atual líder mundial (19,5%), Tailândia (10,9%) e Indonésia (8,6%) (FAEP, 2015).

Cultivada em todo o território nacional, o Brasil é líder de produção na região da América Latina e Caribe, produzindo atualmente uma média de 25 milhões de toneladas por ano de mandioca, sendo 83% dessa produção oriunda de fazendas familiares e estando os estados do Pará, Paraná e Bahia entre os principais produtores nacionais. (FAEP, 2015; FAO, 2017; CONAB, 2017). O seu cultivo assume propósitos diferentes de acordo com a região do País onde é plantada. No norte e nordeste, a mandioca, é voltada para a produção de farinha e fonte de subsistência, enquanto na região centro-sul que compreende os estados do Paraná, Santa Catarina, Mato Grosso do Sul e São Paulo a mandioca é destinada ao processamento e utilizada pelas indústrias têxtil de química e papelaria e de alimentos (OTSUBO, 2012).

A mandioca é uma cultura de grande importância no combate à pobreza e a fome. Fornece segurança alimentar e nutricional as pessoas e atua na geração de emprego e renda, sobretudo nas partes mais carentes do mundo, incluindo as zonas mais pobres da região nordeste do Brasil. Devido a sua eficiência em se adaptar as condições impostas pelo ambiente, tais como, solos pobres em nutrientes, solos ácidos, possuem raízes bastante calóricas e poder ser inteiramente utilizada (MATTOS, 2006a; FIALHO et al., 2009; FAO, 2013), a mandioca é plantada, sobretudo, em pequenas propriedades, num sistema de agricultura familiar. Tal sistema é o principal responsável pela produção da maioria dos alimentos consumidos pela população brasileira, só no nordeste do Brasil 89% dos estabelecimentos são de fazendas familiares (BRASIL, 2014).

Apesar de a mandioca apresentar sementes, o método mais rápido e eficaz para a sua propagação é a utilização das manivas-semente que são fragmentos das hastas e do caule da planta. As manivas quando plantadas, em condições favoráveis, dentro de quinze dias já exibem raízes, ramos aéreos e folhas, enquanto as sementes passam por períodos extensos de permanência no solo para germinarem (CARVALHO, 2006). A fim de obter uma boa produção é importante que o material a ser plantado esteja saudável e livre de pragas e doenças. Em vista disso, além da seleção do material, o ideal é que a mandioca seja colhida e

plantada no mesmo período do ano, pois manivas armazenadas durante longos períodos acabam perdendo a qualidade (ALVES, 2006).

Em relação às formas de cultivo, a mandioca pode ser cultivada em diferentes sistemas de plantio, dentre eles temos o plantio em nível, em leirões ou camalhões, cultivo em faixas, sistemas de consórcio e rotação de culturas com feijão, milho, arroz e amendoim, como exemplos. Essas práticas visam uma melhor preservação do solo quanto as suas propriedades químicas, físicas e biológicas, redução da erosão e de encharcamentos em solos de drenagem baixa e diminuição da ocorrência de pragas e doenças como a podridão radicular (SILVA, 2016). Sua colheita pode ser realizada entre o 6º e o 18º mês após o plantio (FAO, 2013) e depois da colheita as raízes não devem permanecer no campo por mais de 24 horas (MATTOS, 2006b), pois suas raízes são perecíveis e de rápida deterioração.

2.2 PRAGAS E DOENÇAS QUE AFETAM O CULTIVO DA MANDIOCA

Entre os problemas enfrentados no cultivo da mandioca estão às pragas e as doenças que dependendo da velocidade da sua proliferação, agressividade do agente etiológico e da suscetibilidade da planta ao invasor podem causar perdas severas na cultura. O mandarová e os ácaros são as principais pragas que acometem o plantio da mandioca. A primeira é causada pelas lagartas das espécies *Erinnys ello* e *E. alope* que podem ingerir as partes novas das hastes, as gemas e desfolhar as plantas por completo, podendo levar a uma perda de até metade da produção. Com frequência encontrada nas cores marrom ou verde, o mandarová, além de sua grande eficiência em consumir as folhas, também está relacionado com outro problema enfrentado pelo cultivo da mandioca, ele pode disseminar a bacteriose, doença que será abordada mais adiante (FARIAS, 2006; FIALHO et al., 2009).

Os ácaros, de maneira geral, causam nas plantas queda da taxa fotossintética, em vista, da diminuição da área foliar, acarretando em perdas do material propagativo da mandioca e da produtividade de suas raízes. Apontada como as pragas mais severas da mandioca ataca o plantio preferencialmente nos períodos secos do ano, começando por plantas isoladas, seguidamente por grupos pequenos de plantas em focos locais, e por fim ocupam todo o cultivo. No Brasil temos como principais representantes o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*) e o ácaro-verde (*Mononychellus tanajoa*). Além das pragas mencionadas, as plantações de mandioca podem sofrer ataque de formigas, cupins, mosca-branca, mosca-do-broto, mosca-da-fruta, percevejos-de-renda, cochonilha-das-raízes e brocas-do-caule (FARIAS, 2006; NORONHA, 2016).

Assim como as pragas, as doenças ocasionadas por vírus, bactérias e fungos podem ser fatores limitantes importantes na produção da mandioca, especialmente nas áreas onde ela é a principal opção agrícola, servindo como fonte de subsistência e renda ao agricultor. Dentre as viroses que podem acometer a cultura estão o CBSD (*Cassava Brown Streak Disease*), o mosaico-africano e os mosaico-comum e mosaico-das-nervuras, sendo esses dois últimos as principais doenças viróticas da mandioca no Brasil (HOHENFELD, 2016; TREMACOLDI, 2016), bem como a couro-de-sapo que tem como agente etiológico um fitoplasma, contudo sua etiologia ainda precisa ser mais bem compreendida (ALVAREZ et al., 2009). Como sintomas gerais típicos das viroses observa-se intensa clorose entre as nervuras primárias e secundárias e o retorcimento do limbo foliar como sintoma mais grave da doença (FUKUDA, 2006b). Já os danos da couro-de-sapo são mais evidentes nas raízes que acabam não armazenando amido, se apresentando finas e fibrosas e com rachaduras longitudinais na epiderme (TREMACOLDI, 2016).

A bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis* é a responsável por uma das doenças mais relevantes da mandioca no Brasil, a bacteriose ou murcha (MASSOLA JR. et al., 2016).

Entre os sintomas causados por essa bactéria estão a diminuição na brotação do material propagativo da mandioca, presença de pus bacteriano ou goma em hastes novas da planta, do ápice para a base do vegetal ocorre a murcha e secagem das folhas e morte dos brotos novos, culminando na perda total da planta (FIALHO et al., 2009). Em culturas atacadas pela

bacteriose pode ocorrer sinergismo com patógenos secundários que invadem os tecidos contaminados pela bactéria, tais como o *Colletotrichum* spp. e *Choanephora cucurbitarum*, aumentando ainda mais as perdas da cultura, que sob circunstância climática favorável, em variedades suscetíveis a doença pode oscilar entre 50% a 100% (MASSOLA JR. et al., 2016).

Dentre as doenças provocadas por fungos está a antracnose, encontrada de forma mais severa nas regiões nordeste e sudeste do Brasil devido às condições ambientais locais, tem como

agente causador o *Colletotrichum gloeosporioides*. Entre os sinais típicos da doença estão a formação de cancrios profundos e elípticos, nos pecíolos e nas hastes jovens e a produção de uma massa de esporos com coloração rósea no centro dessas lesões em condições de umidade alta. Nas variedades suscetíveis, toda a parte aérea da mandioca pode acabar comprometida, quando infectadas em sua fase juvenil (MASSOLA JR. et al., 2016). O superalongamento tem

como agente etiológico o ascomiceto *Sphaceloma manihoticola*. Tal enfermidade pode ser disseminada pelos esporos do fungo dispersos pelos ventos e chuvas, contaminando as plantas sadias da lavoura, ou pelo material propagativo infectado, alastrando o patógeno para outras plantações. A produção excessiva de ácido giberélico induzido por

esse ascomiceto causa na mandioca um crescimento excessivo, dando origem a longos entrenós e ramas finas (FUKUDA, 2006b; TREMACOLDI, 2016).

Estando entre as doenças menos estudadas e pouco compreendidas da mandioca, as podridões radiculares vêm se tornando cada vez mais um significativo fator limitante no cultivo de mandioca, principalmente na África e no Brasil, provocando alto impacto econômico e social (BANDYOPADHYAY et al, 2006; NOTARO et al., 2013). No Brasil Machado et al. (2014a) listam o *Fusarium solani*, *Phytophthora capsici*, *P. drechsleri*, *P. nicotianae* var. *parasitica*, *P. richardiae*, *Scytalidium lignicola*, *Rhizoctonia solani*, *Rosellinia necatrix*, *Diplodia manihotis* e *Lasiodiplodia theobromae* como fungos relacionados a essas podridões em mandioca, porém os dados a respeito das perdas de produção correlacionadas aos vários fungos fitopatógenos já relatados ainda são poucos. Como seus sintomas de apodrecimento estão confinados as raízes, a percepção da doença torna-se difícil, sendo notada apenas quando as mesmas são colhidas. Essa dificuldade pode ocorrer até mesmo nos ataques mais severos da doença, pois a mandioca tem a capacidade de permanecer de pé sem exibir sintomas em sua parte aérea, devido o seu extenso sistema radicular e o fato de ser uma planta bem resistente (MSIKITA et al., 2005). Além da queda de produtividade, essas podridões acabam também inutilizando os locais para plantio durante os ciclos da cultura (NOTARO et al., 2013).

2.2.1 Podridão negra das raízes e podridão seca das manivas de mandioca

As plantas acometidas com podridão negra das raízes podem ser identificadas nas plantações de mandioca pela visualização dos seguintes sintomas: amarelecimento e queda das folhas e morte da planta. Porém, seus sintomas primários, ocorrem no subterrâneo, confinados às raízes na forma de podridão negra (MASSOLA JR. et al., 2016) o que dificulta a observação da doença e do impacto provocado por ela. Foi relatada pela primeira vez no Brasil, no estado de Pernambuco, por Laranjeira et al. (1994) que identificaram o *Scytalidium lignicola* como o agente causal dessa doença. Esse fungo também já foi relatado causando a mesma doença em outros estados brasileiros como no Pará (POLTRONIERI et al., 1998), Alagoas (MUNIZ et al., 1999) e Maranhão (SERRA et al., 2009).

Apesar de *S. lignicola* ter sido relatado como o agente causal da podridão negra, Machado et al. (2014a) em seu trabalho com isolados de mandioca obtidos dos Estados do Maranhão e Paraíba verificaram, por meio na análise molecular e filogenética, que os fungos *Lasiodiplodia theobromae*, *L. pseudotheobromae*, *L. euphorbicola* eram os patógenos

responsáveis pela podridão negra nessas áreas, bem como o *Neoscytalidium hyalinum* (= *N. dimidiatum*) que é morfológicamente semelhante ao *S. lignicola*, enfatizando assim a importância dos estudos moleculares em trabalhos de diagnose. Além disso, Machado et al. (2014a) também apresentaram evidências da possibilidade de haver uma alta diversidade de espécies associadas a essa doença dentro de uma mesma família (Botryosphaeriaceae).

À podridão seca das manivas tem sido associada ao fungo *Lasiodiplodia theobromae* que provoca avarias no material propagativo da mandioca dando origem a plantas enfraquecidas, devido à queda de sua viabilidade, e que com frequência acabam morrendo no campo (MASSOLA JR. et al., 2016). Tal material de propagação é conhecido como manivas-sementes, manaíbas ou apenas manivas e são provenientes da parte intermediária da planta, caules ou ramos, que são cortados e plantados para a multiplicação do plantio no campo (EMATER, 2012). A qualidade dessas manivas-sementes é o principal obstáculo da cultura, já que além de serem responsáveis pela manifestação do potencial genético da lavoura, denominadas como variedades, quando estão infectadas se tornam propagadores de diversas doenças (FIALHO et al., 2009), dentre elas a podridão seca das manivas. Segundo Massola Jr. et al., 2016, em locais com temperaturas e umidades altas, manivas injuriadas podem ser invadidas pela *L. theobromae* que a princípio forma nos tecidos internos dessas manivas zonas pardo-acinzentadas ou amareladas que com a progressão da infecção se tornam escuras, podendo alcançar à medula.

Dados referentes à etiologia dessas doenças ainda são incipientes, apesar de atualmente estar ocorrendo elevada incidência de ambas as podridões em diversas áreas cultivadas na região nordeste do Brasil e no estado de Minas Gerais. Como considerável parte da produção de mandioca é realizada no sistema de agricultura familiar, as manivas-sementes não são selecionadas previamente pelos agricultores que acabam utilizando para o plantio material propagativo já debilitado e de qualidade fisiológica e fitossanitária reduzida, provocada pela multiplicação constante do material. Esses fatores aliados ao armazenamento inadequado dos feixes de manivas, que costumam ser deixados expostos no campo até o próximo plantio, o baixo nível tecnológico utilizado nessas pequenas propriedades rurais e a ausência de um sistema rotacional de culturas (NOTARO, 2012; SILVA et al. 2013; MODESTO JR. & ALVES, 2016), estão correlacionados a uma maior vulnerabilidade da cultura a ambas as podridões. Dessa forma, o aumento da ocorrência de podridão negra das raízes pode ter relação com a utilização de material propagativo doente, ou seja, com sintomas de podridão seca das manivas.

2.3 BOTRYOSPHAERIACEAE

A família Botryosphaeriaceae está inserida dentro da ordem Botryosphaeriales (Dothideomycetes, Ascomycota) que compreende numerosas espécies de fungos com relevância econômica e ecológica (SLIPPERS et al., 2013). A princípio, a ordem Botryosphaeriales foi proposta por Schoch et al. (2006) para acomodar apenas Botryosphaeriaceae, mas atualmente inclui também as famílias Planistromellaceae (*Kellermania*), Phyllostictaceae (*Phyllosticta*), Aplosporellaceae (*Aplosporella* e *Bagnisiella*), Saccharataceae (*Saccharata*) e Melanopsaceae (*Melanops*) (TRAKUNYINGCHAROEN et al., 2015).

Sendo a principal família dentro da ordem, Botryosphaeriaceae está conectada a mais de 2000 nomes de espécies, distribuídas em diversos gêneros, dos quais são mais comumente encontrados *Botryosphaeria*, *Diplodia*, *Lasiodiplodia*, *Dothiorella*, *Sphaeropsis* e *Fusicoccum* (SLIPPERS & WINGFIELD, 2007). Os fungos da família Botryosphaeriaceae são caracterizados principalmente por produzir colônias com micélio aéreo variando da cor cinza ao preto, que vista pelo lado reverso da placa de Petri, pode variar do cinza a indigo-cinza ou preto (SLIPPERS & WINGFIELD, 2007). Em sua fase assexual formam picnídios, geralmente com estroma, e seus conídios podem apresentar parede fina e estreita, com formato fusiforme a ovoide, sem septos e hialinos a pigmentados com o tempo (tipo-*Fusicoccum*) ou conídios de parede grossa e larga, ovóides, hialinos a castanhos, com ou sem septos (tipo-*Diplodia*). Quanto a sua fase sexual, ocorre à formação de ascoma uni ou multiloculado, asco bitunicado fissitunicado e seus ascósporos exibem formato fusiforme a ovoide, de coloração hialina ou pigmentada, sem ou com 1-2 septos (PHILLIPS et al., 2013).

As espécies contidas dentro do grupo vêm passando por significativas e constantes mudanças na taxonomia, sistemática, nomenclatura e na metodologia aplicada em sua identificação. Anteriormente a identificação de espécies dependia bastante da análise de características morfológicas, como exemplo, a pigmentação, forma, dimensões e a septação dos ascósporos e conídios, mas nos últimos anos a utilização de análises baseadas em sequências de DNA e a inferência filogenética vêm provocando grandes mudanças na sistemática de Botryosphaeriaceae (SLIPPERS et al., 2013; PHILLIPS et al., 2013). Foi empregando essa nova metodologia, apoiada também por análises morfológicas, que em seu trabalho, Phillips et al. (2013) sequenciaram cinco regiões gênicas SSU, ITS, LSU, TEF1- α e β -tubulina que forneceram suporte filogenético para 17 gêneros em Botryosphaeriaceae, são eles, *Barriopsis*, *Botryobambusa*, *Botryosphaeria*, *Cophinforma*, *Diplodia*, *Dothiorella*,

Endomelanconiopsis, *Lasiodiplodia*, *Macrophomina*, *Neodeightonia*, *Neofusicoccum*, *Neoscytalidium*, *Phaeobotryon*, *Pseudofusicoccum*, *Spencermartinsia*, *Sphaeropsis* e *Tiarosporella*.

Da mesma forma, este tipo de abordagem vem permitindo a descoberta de espécies crípticas e a descrição de novas espécies dentro do grupo, o que seria impossível tendo como suporte apenas a morfologia. Como exemplo, podemos citar Alves et al., (2008) que fizeram uma análise, a partir do sequenciamento dos *loci* ITS e TEF1- α , da variabilidade genética de isolados até então identificados como *Lasiodiplodia theobromae*. Entre os resultados encontrados, foram reconhecidas duas espécies novas a *L. pseudotheobromae* e a *L. parva*, ambas estreitamente associadas com *L. theobromae* revelando que esse fungo, na verdade, se trata de um complexo de diferentes espécies crípticas. Posteriormente, vários outros estudos foram realizados utilizando a mesma abordagem, a partir dos quais diversas outras espécies novas foram descritas (e.g. ABDOLLAHZADEH et al., 2010; SLIPPERS et al., 2013, 2014; TRAKUNYINGCHAROEN et al., 2015; ÚRBEZ- TORRES et al., 2016; DOU et al., 2017a,b).

Além da contribuição à taxonomia e sistemática desse grupo de fungos os estudos filogenéticos utilizando sequências de DNA aliados à análise morfológica vêm auxiliando os trabalhos de diagnose de doenças fúngicas em plantas. Vários membros de Botryosphaeriaceae vêm sendo identificados e associados a doenças em diversas culturas de importância econômica como, por exemplo, as podridões em manga (*Mangifera indica* L.) e mamão (*Carica papaya*) causadas por um complexo de espécies de *Lasiodiplodia* (MARQUES et al., 2013a; NETTO et al., 2014). Além de *Lasiodiplodia* spp., já foram relatadas também mais sete espécies de Botryosphaeriaceae patogênicas em manga, nomeadamente, *Botryosphaeria dothidea*, *B. mamane* (= *Cophinforma mamane*), *Fusicoccum fabicercianum*, *Neofusicoccum brasiliense*, *N. parvum*, *Neoscytalidium dimidiatum* (= *N. hyalinum*) e *Pseudofusicoccum stromaticum* (MARQUES et al., 2013b).

Em mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), foram identificados causando podridão negra *L. euphorbicola*, *L. pseudotheobromae* e *N. dimidiatum* (MACHADO et al., 2014a). Já associadas à podridão radicular e do colo em pinhão-mansão nove espécies foram detectadas, das quais oito eram patogênicas, *N. dimidiatum*, *L. egypticae* (= *L. laeliocattleyae*), *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae*, *L. euphorbicola*, *L. jatrophiicola* (= *L. iraniensis*), *L. macrospora* e *L. subglobosa*, e dentre elas, as quatro últimas eram novas para a ciência (MACHADO et al., 2014b). Trakunyingcharoen et al. (2015), em diversos hospedeiros na

Tailândia, identificaram entre outros Botryosphaeriaceae as espécies novas *Diplodia neojuniperi*, *Lasiodiplodia thailandica* e *Pseudofusicoccum artocarp*.

Em um estudo realizado no sul do deserto da Califórnia, Mayorquin et al. (2016) relatou a presença de *N. dimidiatum* em citrus; enquanto na Venezuela em associação com *Acacia mangium* e *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, Úrbez-Torres et al. (2016) relataram a presença de *L. theobromae*, *L. venezuelensis* e *Diplodia guayanensis* sp. nov. Ainda no mesmo ano temos, no Brasil, o trabalho realizado por Rosado et al. (2016) em coco (*Cocos nucifera* L.) onde foram identificados causado podridão pós-colheita a *L. brasiliense*, *L. egyptiacae*, *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae*. Correia et al. (2016a) constataram a presença de *L. brasiliense*, *L. crassispora*, *L. egyptiacae*, *L. euphorbicola*, *L. hormozganensis*, *L. jatrophiicola*, *L. pseudotheobromae* e *L. theobromae* como agentes causais da morte descendente em uvas de mesa (*Vitis vinifera*) no Vale de São Francisco a principal região exportadora dessa cultura no Brasil.

No ano seguinte, Coutinho et al. (2017) detectaram seis espécies de *Lasiodiplodia* associadas à morte descendente e gomose em frutas tropicais na região Nordeste do Brasil. Dentre elas duas espécies eram novas para a ciência, especificamente *L. caatinguensis* e *L. pontae*, além de *L. brasiliense*, *L. euphorbicola*, *L. pseudotheobromae* e *L. theobromae*. Netto et al. (2017) relatou pela primeira vez as espécies *L. brasiliense*, *L. euphorbicola*, *L. gonubiensis*, *L. iraniensis*, *L. pseudotheobromae*, *Neofusicoccum batangarum* e *Pseudofusicoccum stromaticum* como agentes causais da gomose em caju (*Anacardium*) no Brasil, assim como identificou uma nova espécie a *Lasiodiplodia gravistriata* também patogênica a este mesmo hospedeiro. Em 2018 temos o primeiro relato de *L. theobromae* causando podridão em berinjela (*Solanum melongena*) no Brasil (VIEIRA et al., 2018).

Em termos gerais, Botryosphaeriaceae é composta por fungos geograficamente difundidos, podendo sobreviver na condição de sapróbios, endófitos ou patógenos, porém pouco se sabe sobre seus padrões biogeográficos e sua ecologia (PHILLIPS et al., 2013; SLIPPERS et al., 2014). É sabido que eles têm a capacidade de infectar o hospedeiro através suas aberturas naturais, estômatos, lenticelas e/ou feridas e a manifestação de doenças está relacionada a condições de estresse do hospedeiro, bem como, condições ambientais desfavoráveis ao crescimento das plantas, tais como, frio ou calor extremo, pressão biológica de pragas e agentes patogênicos (SLIPPERS & WINGFIELD, 2007). Sendo assim, o grupo possui grande importância em termos quarentenários, uma vez que podem sobreviver em material propagativo assintomático (infecção latente), serem levados para outras regiões

geográficas e com o estresse do hospedeiro, podem surgir os sintomas e iniciar disseminação do patógeno em uma nova área. (SLIPPERS & WINGFIELD, 2007).

2.3.1 *Lasiodiplodia*

Lasiodiplodia spp. são comuns nas faixas tropicais e subtropicais (DAMM et al., 2007; ISMAIL et al., 2012; CHEN et al., 2013; COMONT et al., 2016; CARDOSO et al., 2017) e já foram associados a mais de 1000 hospedeiros (FARR & ROSSMAN, 2018), dentre eles, espécies economicamente importantes como *Mangifera indica*, *Carica papaya*, *Manihot esculenta*, *Cocus nucifera* e *Vitis vinifera*. (MARQUES et al., 2013a; NETTO et al., 2014; MACHADO et al., 2014a, ROSADO et al., 2016; CORREIA et al., 2016a). Além de patógenos importantes em culturas de destaque, também podem se comportar como endófitos (MOHALI et al., 2005) e sapróbios em madeira recentemente morta (LIU et al., 2012).

Lasiodiplodia é um gênero coelomiceto dentro de Botryosphaeriaceae que foi introduzido como *L. tubercicola* por Ellis em 1894 (HYDE et al., 2014) e tem hoje *L. theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. como a espécie representativa do grupo. Como morfologia geral, esses fungos apresentam conidioma picnidial com paráfises hialinas e conídios jovens sem septos e hialinos a pigmentados e septado medianamente quando maduros com paredes grossas e aparência longitudinalmente estriada, em razão do depósito de grânulos de melanina (ALVES et al., 2008). Tais características morfológicas aliadas a análises filogenéticas das regiões gênicas ITS e TEF1- α vêm auxiliando na distinção de espécies em *Lasiodiplodia*, tendo em vista que se trata de um gênero composto por espécies crípticas (ALVES et al., 2008).

2.3.2 *Neoscytalidium*

O *Neoscytalidium* foi um gênero proposto em Crous et al. (2006) para acomodar o *N. dimidiatum* em razão de suas características morfológicas, tais como, conídio jovem hialino e não-septado, conídio maduro septado com célula central mais escura, formação de sinanamorfo tipo-*Scytalidium* e micélio aéreo pulverulento e desarticulado. Apesar de o gênero ser relativamente novo, *N. dimidiatum* foi originalmente descrito em Sydow et al. (1916) como *Dothiorella mangiferae* e, mais tarde, como *Hendersonula toruloidea* por Nattrass (1933) devido a observação de conídio pigmentado (CROUS et al., 2006).

Atualmente, além de *N. dimidiatum* que é a espécie-tipo deste gênero, mais duas espécies encontram-se inseridas dentro do grupo o *N. novaehollandiae* (PAVLIC et al., 2008) e mais

recentemente *N. orchidacearum* (HUANG et al., 2016). O gênero encontra-se geograficamente difundido e já foi correlacionado a pelo menos 70 hospedeiros (FARR & ROSSMAN, 2018) e a fitopatologias, tais como, gomose, necrose, morte descendente, mancha foliar, mancha marrom (POLIZZI et al., 2009; LAN et al., 2012; CORREIA et al., 2016b; SANAHA et al., 2016; AL-BEDAK et al., 2018; SUWANNARACH et al., 2018). Assim como ocorre em *Lasioidiplodia*, para *Neoscytalidium* também é necessário à análise filogenética utilizando sequências de regiões gênicas, tais como, ITS e TEF1- α para a diferenciação das espécies, pois *Neoscytalidium* pode ser confundido com o fungo *Scytalidium* devido à formação de sinanamorfo tipo-*Scytalidium* por *Neoscytalidium* spp.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA DAS AMOSTRAS E ISOLAMENTO DOS FUNGOS

Coletas foram realizadas em pequenas áreas de produção de mandioca que apresentaram plantas com sintomas de podridões negra das raízes e seca das manivas nos estados de Pernambuco (Recife, Chã Grande, Camocim de São Félix, São Vicente Ferrer, Petrolina, São João, Garanhuns, São Joaquim do Monte, Goiana, Condado e Igarassu), Paraíba (Salgadinho), Ceará (Crato) e Minas Gerais (Jaíba, Janaúba e Visconde do Rio Branco). Do mesmo modo, raízes com sintomas de podridão negra pós-colheita foram coletadas no Centro de Abastecimento e Logística de Pernambuco (CEASA/PE).

O material coletado foi encaminhado ao Laboratório de Micologia Ambiental, no Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco. Quando necessário, as amostras foram incubadas em caixas plásticas com papel filtro umedecido para indução da formação das estruturas fúngicas para seu posterior isolamento. Com o auxílio do microscópio estereoscópico e de uma agulha esterilizada, os esporos foram diretamente coletados das estruturas fúngicas e transferidos para placas de Petri contendo ágar-ágar (AA). Em seguida, foi transferido um único esporo para placas de Petri com ágar batata-dextrose (BDA) e antibiótico (cloranfenicol 1g/L).

Quando o isolamento monospórico não foi possível, os esporos foram transferidos para placas de Petri com AA e incubados a 25°C. Três dias após o crescimento dos fungos, uma ponta da hifa foi cortada e transferida para placas de Petri com BDA e antibiótico (cloranfenicol 1g/L) para purificação das colônias. Após o crescimento das colônias, estas foram transferidas para placas de Petri com BDA e mantidas a 25 ° C no escuro. Posteriormente, os isolados foram armazenados em tubos com água destilada esterilizada (CASTELLANI, 1967).

3.2 ESTUDO MORFOLÓGICO

Para a indução da formação de corpos de frutificação e esporulação os isolados representativos de cada espécie foram cultivados em placas de Petri contendo 2% ágar-água, ramos de sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) e folhas de manga (*Mangifera indica*) autoclavadas três vezes. A identificação dos fungos foi realizada por meio de cortes manuais das estruturas vegetativas e reprodutivas montados em lactoglicerol para a sua visualização

em microscópio de luz. Após a confecção das lâminas 30 medições dos caracteres morfológicos relevantes (conídio, artroconídios e paráfises) foram realizadas. Culturas monospóricas foram depositadas na coleção de culturas “Micoteca URM Profa. Maria Auxiliadora Cavalcanti” na Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil).

3.3 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração do DNA genômico foi realizada utilizando o Wizard Genomic DNA Purification Kit. Primeiramente, os isolados foram cultivados em meio BDA a 25°C por sete dias, onde parte de seu micélio foi removido e depositado em microtubos de 2,0ml com 4 esferas de vidro de 3mm de diâmetro, nos quais foram adicionados 300 µL de Nuclei Lysis Solution. As amostras foram então maceradas por 90 segundos a 4350 rpm no *L-beader 6* e seguidamente incubadas em banho-seco a 65°C por 15 minutos.

Após serem inseridos 100 µL de Protein Precipitation Solution nos microtubos, os mesmos foram levados ao vórtex e passaram por centrifugação durante 10 minutos a 14.000 rpm. O sobrenadante formado foi retirado e transferido para microtubos de 1,5ml e adicionados 600 µL de isopropanol. As amostras foram mantidas no freezer por pelo menos 20 minutos e, posteriormente, centrifugadas a 14.000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi descartando, restando apenas o *pellet* no interior dos microtubos onde foram inseridos 600 µL de etanol 70%, e centrifugados a 14.000 rpm por 5 minutos). O etanol foi então removido e após a secagem do *pellet* foi adicionado 50 µL de DNA Rehydration Solution. As amostras foram então conservadas no freezer.

3.4 AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO

Para identificação preliminar de todos os isolados obtidos, foi amplificada e sequenciada parte da região gênica do fator de elongação 1 α (TEF1- α) utilizando o par de primers EF1F e EF2R (JACOBS et al., 2004). Posteriormente, a região do espaçador transcrito interno (ITS) do rDNA também foi amplificada e sequenciada para os isolados representativos das espécies previamente identificadas, utilizando o par de primers ITS1 / ITS4 (WHITE et al., 1990). Para cada 12,5 µL de reação de PCR foram utilizados os seguintes ingredientes: 6,25 µL de Go Taq Master Mix, 0,5 µL de cada primer *forward* e *reverse* (10 µM), 4,25 µL de água livre de nucleasse e 1 µL de amostra de DNA.

O ciclo termal para TEF1- α consistiu em: desnaturação inicial a 95°C por 5 min seguidos de 40 ciclos de desnaturação a 94°C, anelamento a 56°C e alongamento a 72°C por 50s cada; e extensão final a 72°C durante 5 min. Para o ITS as condições consistiram em: desnaturação inicial a 94°C por 5 min seguidos por 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 30s, anelamento a 52°C e alongamento a 72°C, ambos por 40s cada; e extensão final a 72°C durante 5 min.

Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com GelRed TM em tampão Tris-acetato EDTA (TAE) e visualizados sob luz UV para verificar a pureza e o tamanho do fragmento amplificado. Em seguida, tais produtos foram purificados utilizando a enzima Exosap illustraTM ExoProStarTM 1-Step (GE Healthcare Life Sciences) e sequenciados na plataforma do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil).

3.5 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

As sequências de nucleotídeos foram editadas com o software BioEdit (HALL, 2014) e depositadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Regiões consenso foram comparadas no banco de dados do GenBank utilizando a ferramenta Mega BLAST. As sequências obtidas neste trabalho foram então adicionadas ao conjunto de sequências obtidas no GenBank e alinhadas no programa MUSCLE® (EDGAR, 2004) existente no software MEGA v. 7 (KUMAR et al., 2015). Os alinhamentos foram verificados e ajustados manualmente quando necessário.

A análise de Inferência Bayesiana (BI) foi realizada usando MrBayes v.3.2.6 (RONQUIST & HUELSENBECK, 2003) no portal “CIPRES Science Gateway” (MILLER et al. 2010) usando uma matriz de sequências da região gênica TEF1- α e concatenada de sequências das regiões ITS e TEF1- α . Os modelos de substituição de nucleotídeos utilizados foram selecionados usando MrMODELTEST 2.3 (POSADA & BUCKLEY, 2004) e foram estimados separadamente para cada região gênica de acordo com o Akaike Information Criterion (AIC). Os modelos de evolução foram HKY + G para TEF1- α , GTR + I e SYM para ITS para *Lasiodiplodia* e *Macrophomina* / *Neoscytalidium*, respectivamente. A análise de BI foi concluída em 10.000.000 de gerações com uma árvore amostrada a cada 1000 gerações, resultando em 10.000 árvores. As primeiras 2500 árvores com valores de probabilidade mais baixos foram descartadas da análise e os valores de probabilidade posteriores (RANNALA &

YANG, 1996) foram determinados a partir da árvore de consenso através das 7.500 árvores remanescentes.

A árvore filogenética resultante foi visualizada no software FigTree (RAMBAUT, 2009). As árvores do gênero *Lasiodiplodia* da região gênica TEF1- α e concatenada das regiões ITS e TEF1- α foram enraizadas com *Neoscytalidium dimidiatum* CBS 499.66, enquanto as árvores do gênero *Macrophomina* e *Neoscytalidium* foram enraizadas com *Botryosphaeria dothidea* CMW8000.

3.6 TESTES DE PATOGENICIDADE

O teste de patogenicidade em raízes e mudas de mandioca foi conduzido em experimentos separados e para isso um inóculo de cada isolado representativo das espécies obtidas foi preparado quinze dias antes de cada teste. O preparo dos inóculos consistiu em discos de micélio com 6 mm de diâmetro retirados das bordas de colônias com 10 dias de crescimento, cultivadas em extrato de ágar malte (MEA), e transferidos para frascos de Erlenmeyer contendo 50 g de arroz parboilizado e 10 ml de água destilada previamente autoclavados a 120 ° C por 30 minutos (CLAUDINO & SOARES, 2018). Para o controle, frascos de Erlenmeyer foram preparados da mesma maneira como descrito anteriormente, no entanto, sem discos de micélio.

3.6.1 Inoculação em raízes de mandioca

Raízes de mandioca da variedade Santo Estevão com 12 cm de comprimento foram primeiramente lavadas em água corrente para retirada do solo, em seguida desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (0,5% de cloro ativo) por 5 minutos e lavadas em água destilada esterilizada também por 5 minutos. Após a secagem, com o auxílio de um bisturi, foi removida superficialmente uma parte da casca no centro das raízes, em seguida, nesse mesmo local foi realizada uma perfuração central com ponteiras esterilizadas para a inserção de um grão de arroz colonizado com fungo. Para o tratamento controle, o mesmo procedimento foi realizado, porém grãos de arroz autoclavados não colonizados foram utilizados. Por tratamento, incluindo o controle, foram utilizadas quatro raízes de mandioca que permaneceram incubadas em caixas plásticas por sete dias. Após esse período os patógenos foram diretamente isolados de suas estruturas reprodutivas formadas na casca das raízes de mandioca para fechamento dos postulados de Koch.

3.6.2 Inoculação em mudas de mandioca

Segmentos do caule com 12 cm de comprimento foram cortados de plantas sadias de mandioca da variedade Santo Estevão, desinfestados em solução de hipoclorito de sódio (0,5% de cloro ativo), lavados com água destilada esterilizada, ambos por 1 minuto, e plantados em vasos contendo aproximadamente 1 kg de solo autoclavado. Vinte dias após a formação das plântulas, com o auxílio de um bisturi, foram realizados ferimentos superficiais na base das mesmas, onde foi depositado um grão de arroz colonizado e coberto com solo autoclavado presente nos vasos. Para o tratamento controle, utilizou-se grão de arroz não colonizado. Cinco repetições foram feitas para cada tratamento. As plantas foram mantidas em casa de vegetação sob luz natural durante 42 dias para posterior avaliação da presença ou ausência de sintomas.

As plantas também foram cortadas ao meio longitudinalmente para observação e mensuração das lesões internas. Para avaliação da agressividade, mediu-se o comprimento das lesões a partir da parte basal das plantas (gema) até o ápice. As medições foram realizadas para todas as repetições de cada tratamento de fungos e a partir destes resultados foi realizada uma média para comparar a agressividade entre as espécies. Os dados de agressividade foram primeiramente analisados pelo one-way ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste LSD Fisher ao nível de significância de 5%, utilizando o software STATISTIX v. 9.0. Para o fechamento dos postulados de Koch, os patógenos foram diretamente isolados das estruturas reprodutivas formadas por eles nas mudas de mandioca. Quando este tipo de isolamento não foi possível, pedaços infectados das lesões internas foram cortados e transferidos para placas de BDA para a recuperação dos isolados.

4 RESULTADOS

4.1 SINTOMATOLOGIA E ISOLAMENTO DOS FUNGOS

A podridão negra de raízes em mandioca é caracterizada por lesões secas de coloração amarelada a amarronzada, no interior das raízes, que se tornam negras com o tempo e formação de estruturas reprodutivas dos patógenos recobertos por estroma negro, enquanto que, as manivas de mandioca infectadas com a podridão seca exibem fissuras por onde surgem massas negras de estruturas fúngicas (Figura 1). A partir destes materiais, foram obtidos 64 isolados de Botryosphaeriaceae, dos quais 47 foram obtidos em Pernambuco, 14 em Minas Gerais, dois no estado do Ceará e um na Paraíba. Baseado na morfologia dos conídios os isolados foram identificados por gênero com 48 indivíduos pertencendo a *Lasiodiplodia*, 15 ao *Neoscytalidium* e um a *Macrophomina*.



Figura 1. Sintomas de podridão em manivas e raízes de *Manihot esculenta* causadas por espécies de Botryosphaeriaceae. (a) *M. esculenta* caída no campo expondo áreas necróticas no caule. (b - f) Manivas exibindo estruturas do patógeno cobertas por massa negra. (g - j) Sintomas de podridão negra de raiz. (g - i) Raízes envolvidas por micélio negro. (j) Lesões secas e amareladas a amarronzadas na parte internadas raízes.

4.2 SEQUENCIAMENTO DO DNA E ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Para obter uma possível identidade dos 64 isolados a região gênica TEF1- α foi sequenciada e as sequências obtidas (números de acesso no GenBank MK495372 - MK495421 e MK500923 - MK500931) foram comparadas com sequências disponíveis no GenBank de diversas cepas de *Lasiodiplodia*, *Neoscytalidium* e *Macrophomina* (tabela 1) por meio da análise de Inferência Bayesiana (figura 2 e 3). Em seguida, sequências da região ITS foram obtidas e adicionadas à análise filogenética para confirmar a identidade dos 30 isolados representativos das espécies (tabela 1). Os fragmentos de PCR para ITS e TEF1- α foram aproximadamente 488 e 683 pares de base, respectivamente.

Para os isolados agrupados dentro do gênero *Lasiodiplodia* a análise do TEF1- α consistiu de 116 taxa incluindo um grupo externo (*Neoscytalidium dimidiatum* CBS 499.66). O alinhamento abrangeu 295 caracteres, dos quais 147 eram sítios conservados, 143 sítios eram variáveis e 107 foram informativos para parcimônia. A análise combinada do conjunto de dados ITS e TEF1- α dos isolados de *Lasiodiplodia* consistiu de 87 taxa mais um grupo externo (*N. dimidiatum* CBS 499.66). Este alinhamento conteve 756 caracteres, destes, 516 eram sítios conservados, 194 eram variáveis e 139 foram informativos para parcimônia. A análise do TEF1- α dos isolados agrupados em *Neoscytalidium* e *Macrophomina* foi composto por 32 taxa incluindo a *Botryosphaeria dothidea* CMW8000 como grupo externo. O alinhamento consistiu de 280 caracteres, dos quais, 181 eram conservados, 95 variáveis e 80 informativos para parcimônia. A análise combinada de ITS e TEF1- α destes isolados consistiu de 24 taxa incluindo um grupo externo (*B.dothidea* CMW8000). O alinhamento incluiu 706 caracteres com 566 sítios conservados, 133 variáveis e 109 informativos para parcimônia.

A árvore consenso concatenada ITS e TEF1- α gerada por análise Bayesiana mostrou que dos 23 isolados de *Lasiodiplodia* quatro agruparam com *L. parva*, *L. euphorbicola* e *L. brasiliense*, três com *L. theobromae* e dois com *L. laeliocattleyae*, *L. hormozganensis* e *L. caatinguensis*. Apenas um isolado agrupou com a *L. pseudotheobromae* e a *L. iraniensis* (figura 4). Apesar de alguns isolados de *Neoscytalidium* terem apresentado variações intraespecíficas quando alinhadas com a espécie tipo do grupo (CBS 499.66) todos foram considerados como *N. dimidiatum* e o único isolado de *Macrophomina* ficou agrupado a *M. pseudophaseolina* (figura 5).

Tabela 1. Números de acesso do Genbank das seqüências de DNA de Botryosphaeriaceae usadas nas análises filogenéticas. Os espécimes obtidos neste estudo estão destacados em negrito.

Espécies	Isolados	Hospedeiro/Substrato	Número de acesso GenBank	
			ITS	TEF1- α
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	CMW8000	<i>Prunus</i> sp.	AY236949	AY236898
<i>Lasiodiplodia avicenniae</i>	CMW 41467	<i>Avicennia marina</i>	KP860835	KP860680
<i>L. avicenniae</i>	LAS 199	<i>A. marina</i>	KU587957	KU587947
<i>L. brasiliense</i>	CMM4015	<i>Mangifera indica</i>	JX464063	JX464049
<i>L. brasiliense</i>	CMM2321	<i>Carica papaya</i>	KC484797	KC481528
<i>L. brasiliense</i>	CMW35884	<i>Adansonia</i> sp.	KU887094	KU886972
<i>L. brasiliense</i>	URM8035	<i>Manihot esculenta</i>	MK480489	MK495398
<i>L. brasiliense</i>	ARM353	<i>M. esculenta</i>	MK480490	MK495399
<i>L. brasiliense</i>	ARM356	<i>M. esculenta</i>	MK480491	MK495400
<i>L. brasiliense</i>	ARM357	<i>M. esculenta</i>	MK480492	MK495401
<i>L. bruguierae</i>	CMW 41470	<i>Bruguiera gymnorhiza</i>	KP860833	KP860678
<i>L. bruguierae</i>	CMW 42480	<i>B. gymnorhiza</i>	KP860832	KP860677
<i>L. caatinguensis</i>	CMM 1325	<i>Citrus sinensis</i>	KT154760	KT008006
<i>L. caatinguensis</i>	IBL 381	<i>Spondias purpurea</i>	KT154757	KT154751
<i>L. caatinguensis</i>	URM8031	<i>M. esculenta</i>	MK480483	MK500927
<i>L. caatinguensis</i>	ARM207	<i>M. esculenta</i>	MK480486	MK500929
<i>L. chinensis</i>	CGMCC 3.18066	<i>Hevea brasiliensis</i>	KX499899	KX499937
<i>L. chinensis</i>	CGMCC 3.18067	<i>Sterculia lychnophora</i>	KX499901	KX499939
<i>L. chinensis</i>	CGMCC 3.18061	Unknown	KX499889	KX499927
<i>L. chinensis</i>	CGMCC 3.18044	<i>Vaccinium uliginosum</i>	KX499875	KX499913
<i>L. citricola</i>	IRAN1522C	<i>Citrus</i> sp.	GU945354	GU945340
<i>L. citricola</i>	IRAN1521C	<i>Citrus</i> sp.	GU945353	GU945339
<i>L. crassispota</i>	WAC 12533	<i>Santalum album</i>	DQ103550	DQ103557
<i>L. crassispota</i>	CMW 13488	<i>Eucalyptus urophylla</i>	DQ103552	DQ103559
<i>L. euphorbicola</i>	CMM3609	<i>Jatropha curcas</i>	KF234543	KF226689
<i>L. euphorbicola</i>	CMW 33350	<i>Adansonia digitata</i>	KU887149	KU887026
<i>L. euphorbicola</i>	CMW 36231	<i>A. digitata</i>	KU887187	KU887063
<i>L. euphorbicola</i>	URM8027	<i>M. esculenta</i>	MK480479	MK495377
<i>L. euphorbicola</i>	ARM179	<i>M. esculenta</i>	MK480482	MK495381
<i>L. euphorbicola</i>	ARM191	<i>M. esculenta</i>	MK480484	MK500928
<i>L. euphorbicola</i>	ARM204	<i>M. esculenta</i>	MK480485	MK495385
<i>L. exigua</i>	CBS 137785	<i>Retama raetam</i>	KJ638317	KJ638336
<i>L. exigua</i>	BL 184	<i>R. raetam</i>	KJ638318	KJ638337
<i>L. gilanensis</i>	IRAN1523C	Unknown	GU945351	GU945342
<i>L. gilanensis</i>	IRAN1501C	Unknown	GU945352	GU945341
<i>L. gonubiensis</i>	CMW 14077	<i>Syzygium cordatum</i>	AY639595	DQ103566
<i>L. gonubiensis</i>	CMW 14078	<i>S. cordatum</i>	AY639594	DQ103567
<i>L. gravistriata</i>	CMM 4564	<i>Anacardium humile</i>	KT250949	KT250950
<i>L. gravistriata</i>	CMM 4565	<i>A. humile</i>	KT250947	KT266812
<i>L. hormozganensis</i>	IRAN1500C	<i>Olea</i> sp.	GU945355	GU945343
<i>L. hormozganensis</i>	IRAN1498C	<i>Mangifera indica</i>	GU945356	GU945344
<i>L. hormozganensis</i>	URM8029	<i>M. esculenta</i>	MK480481	MK500926

<i>L. hormozganensis</i>	ARM410	<i>M. esculenta</i>	MK480494	MK495408
<i>L. hyalina</i>	CGMCC 3.17975	<i>Acacia confusa</i>	KX499879	KX499917
<i>L. hyalina</i>	CGMCC 3.18383	Unknown tree	KY767661	KY751302
<i>L. iraniensis</i>	IRAN 1520C	<i>Salvadora persica</i>	GU945348	GU945336
<i>L. iraniensis</i>	IRAN 1502C	<i>Juglans</i> sp.	GU945347	GU945335
<i>L. iraniensis</i>	URM8026	<i>M. esculenta</i>	MK480473	MK500923
<i>L. laeliocattleyae</i>	CBS130992	<i>Mangifera indica</i>	JN814397	JN814424
<i>L. laeliocattleyae</i>	BOT-29	<i>Mangifera indica</i>	JN814401	JN814428
<i>L. laeliocattleyae</i>	ARM29	<i>M. esculenta</i>	MK480475	MK495373
<i>L. laeliocattleyae</i>	URM8028	<i>M. esculenta</i>	MK480480	MK495378
<i>L. lignicola</i>	CBS 134112	Dead wood	JX646797	KU887003
<i>L. macrospora</i>	CMM3833	<i>Jatropha curcas</i>	KF234557	KF226718
<i>L. mahajangana</i>	CMW27801	<i>Terminalia catappa</i>	FJ900595	FJ900641
<i>L. mahajangana</i>	CMW27818	<i>T. catappa</i>	FJ900596	FJ900642
<i>L. margaritacea</i>	CBS 122519	<i>Adansonia gibbosa</i>	EU144050	EU144065
<i>L. margaritacea</i>	CBS 122065	<i>A. gibbosa</i>	EU144051	EU144066
<i>L. mediterranea</i>	CBS 137783	<i>Quercus ilex</i>	KJ638312	KJ638331
<i>L. mediterranea</i>	CBS 137784	<i>Vitis vinifera</i>	KJ638311	KJ638330
<i>L. missouriana</i>	UCD2193MO	<i>V. vinifera</i>	HQ288225	HQ288267
<i>L. missouriana</i>	UCD2199MO	<i>V. vinifera</i>	HQ288226	HQ288268
<i>L. parva</i>	CBS 456.78	Cassava-field soil	EF622083	EF622063
<i>L. parva</i>	CBS 494.78	Cassava-field soil	EF622084	EF622064
<i>L. parva</i>	ARM33	<i>M. esculenta</i>	MK480477	MK495375
<i>L. parva</i>	URM8058	<i>M. esculenta</i>	MK480493	MK495393
<i>L. parva</i>	ARM432	<i>M. esculenta</i>	MK480495	MK495415
<i>L. parva</i>	ARM459	<i>M. esculenta</i>	MK480496	MK495419
<i>L. plurivora</i>	STE-U 5803	<i>Prunus salicina</i>	EF445362	EF445395
<i>L. pontae</i>	CMM1277	<i>Spondias purpurea</i>	KT151794	KT151791
<i>L. pseudotheobromae</i>	CBS116459	<i>Gmelina arborea</i>	EF622077	EF622057
<i>L. pseudotheobromae</i>	URM8034	<i>M. esculenta</i>	MK480488	MK500931
<i>L. pyriformis</i>	CBS121770	<i>Acacia mellifera</i>	EU101307	EU101352
<i>L. pyriformis</i>	CBS121771	<i>A. mellifera</i>	EU101308	EU101353
<i>L. rubropurpurea</i>	WAC12535	<i>Eucalyptus grandis</i>	DQ103553	DQ103571
<i>L. rubropurpurea</i>	WAC12536	<i>E. grandis</i>	DQ103554	DQ103572
<i>L. sterculiae</i>	CBS 342.78	<i>Sterculia oblonga</i>	KX464140	KX464634
<i>L. subglobosa</i>	CMM3872	<i>Jatropha curcas</i>	KF234558	KF226721
<i>L. subglobosa</i>	CMM4046	<i>J. curcas</i>	KF234560	KF226723
<i>L. thailandica</i>	CPC22795	<i>Mangifera indica</i>	KJ193637	KJ193681
<i>L. thailandica</i>	CPC22755	<i>Phyllanthus acidus</i>	KM006433	KM006464
<i>L. theobromae</i>	CBS 164.96	Unknown	AY640255	AY640258
<i>L. theobromae</i>	CBS111530	Unknown	EF622074	EF622054
<i>L. theobromae</i>	ARM28	<i>M. esculenta</i>	MK480474	MK495372
<i>L. theobromae</i>	ARM30	<i>M. esculenta</i>	MK480476	MK495374
<i>L. theobromae</i>	ARM39	<i>M. esculenta</i>	MK480478	MK495376
<i>L. theobromae</i>	URM8033	<i>M. esculenta</i>	MK480487	MK495388
<i>L. venezuelensis</i>	WAC12539	<i>Acacia mangium</i>	DQ103547	DQ103568
<i>L. venezuelensis</i>	WAC12540	<i>A. mangium</i>	DQ103548	DQ103569
<i>L. viticola</i>	UCD2553AR	<i>Vitis vinifera</i>	HQ288227	HQ288269

<i>L. viticola</i>	UCD2604MO	<i>V. vinifera</i>	HQ288228	HQ288270
<i>Macrophomina phaseolina</i>	CBS 162.25	<i>Eucalyptus</i> sp.	KF531826	KF531803
<i>M. phaseolina</i>	CBS 205.47	<i>Phaseolus vulgaris</i>	KF951622	KF951997
<i>M. phaseolina</i>	CBS 227.33	<i>Zea mays</i>	KF531825	KF531804
<i>M. phaseolina</i>	CPC21420	<i>Vigna unguiculata</i>	KF951717	KF952088
<i>M. pseudophaseolina</i>	CPC21417	<i>Arachis hypogaea</i>	KF951791	KF952153
<i>M. pseudophaseolina</i>	URM8032	<i>M. esculenta</i>	MK433559	MK439948
<i>M. euphorbicola</i>	CMM4045	<i>Jatropha gossypifolia</i>	KU058928	KU058898
<i>M. euphorbicola</i>	CMM4134	<i>Ricinus communis</i>	KU058936	KU058906
<i>M. euphorbicola</i>	CMM4145	<i>R. communis</i>	KU058937	KU058907
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	CBS 499.66	<i>Mangifera indica</i>	AY819727	EU144063
<i>N. dimidiatum</i>	PD104	<i>Ficus carica</i>	GU251107	GU251239
<i>N. dimidiatum</i>	CMM4022	<i>M. esculenta</i>	KF369269	KF553902
<i>N. dimidiatum</i>	CMM3895	<i>M. esculenta</i>	KF369265	KF553898
<i>N. dimidiatum</i>	URM8030	<i>M. esculenta</i>	MK461880	MK464022
<i>N. dimidiatum</i>	ARM178	<i>M. esculenta</i>	MK461881	MK464023
<i>N. dimidiatum</i>	ARM203	<i>M. esculenta</i>	MK480467	MK495384
<i>N. dimidiatum</i>	ARM212	<i>M. esculenta</i>	MK480468	MK495386
<i>N. dimidiatum</i>	ARM214	<i>M. esculenta</i>	MK480469	MK495387
<i>N. dimidiatum</i>	ARM219	<i>M. esculenta</i>	MK480470	MK495389
<i>N. dimidiatum</i>	ARM364	<i>M. esculenta</i>	MK480471	MK495404
<i>N. dimidiatum</i>	ARM425	<i>M. esculenta</i>	MK480472	MK495413
<i>N. novahollandiae</i>	CBS122072	<i>Adansonia gibbosa</i>	EF585535	EF585581
<i>N. novahollandiae</i>	CBS122610	<i>Acacia synchronicia</i>	EF585536	EF585578



Figura 2. Árvore filogenética de *Lasiodiplodia* gerada a partir da análise Bayesiana da região gênica TEF1-α. Probabilidades posteriores bayesianas são indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com o *Neoscytalidium dimidiatum* CBS 499.66. As espécies obtidas neste estudo são destacadas em negrito. Os símbolos coloridos representam o substrato e o Estado de origem de cada isolado obtido neste estudo.

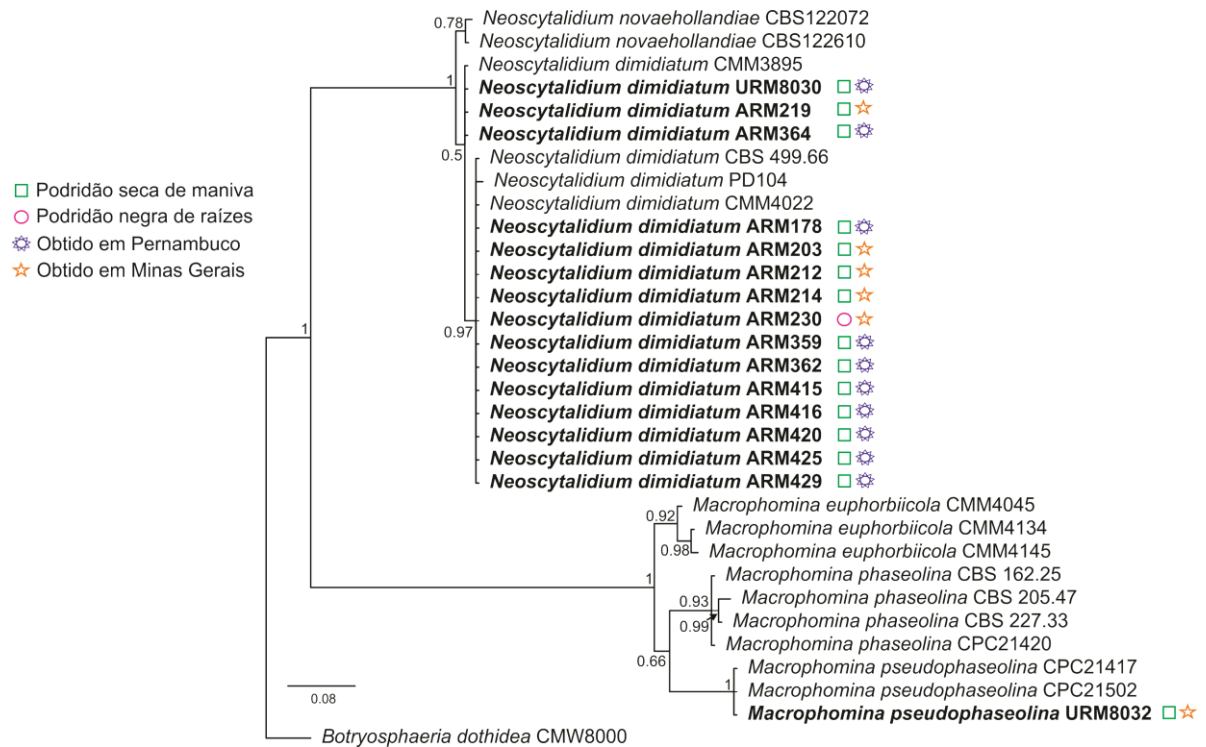


Figura 3. Árvore filogenética dos gêneros *Neoscytalidium* e *Macrophomina* gerada a partir da análise Bayesiana da região gênica TEF1- α . Probabilidades posteriores bayesianas estão indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com a *Botryosphaeria dothidea* CMW8000. As espécies obtidas neste estudo estão destacadas em negrito. Os símbolos coloridos representam o substrato e o Estado de origem de cada isolado obtido neste estudo.

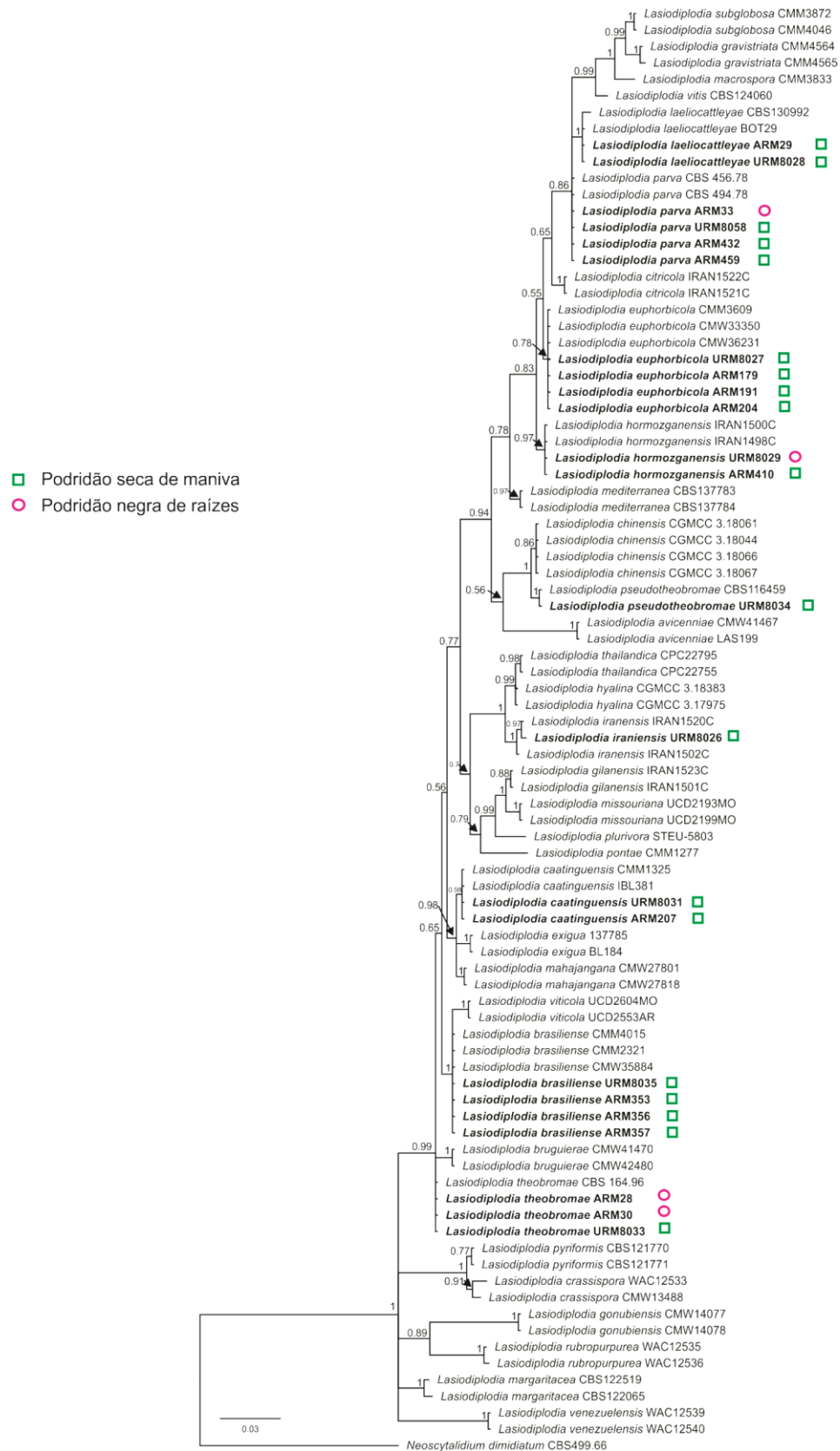


Figura 4. Árvore filogenética de *Lasiodiplodia* gerada a partir da análise Bayesiana baseada nas sequências combinadas das regiões ITS e TEF1- α . Probabilidades posteriores bayesianas são indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com o *Neoscytalidium dimidiatum* CBS 499.66. As espécies obtidas neste estudo estão destacadas em negrito. Os símbolos coloridos representam o substrato de origem de cada isolado obtido neste estudo.

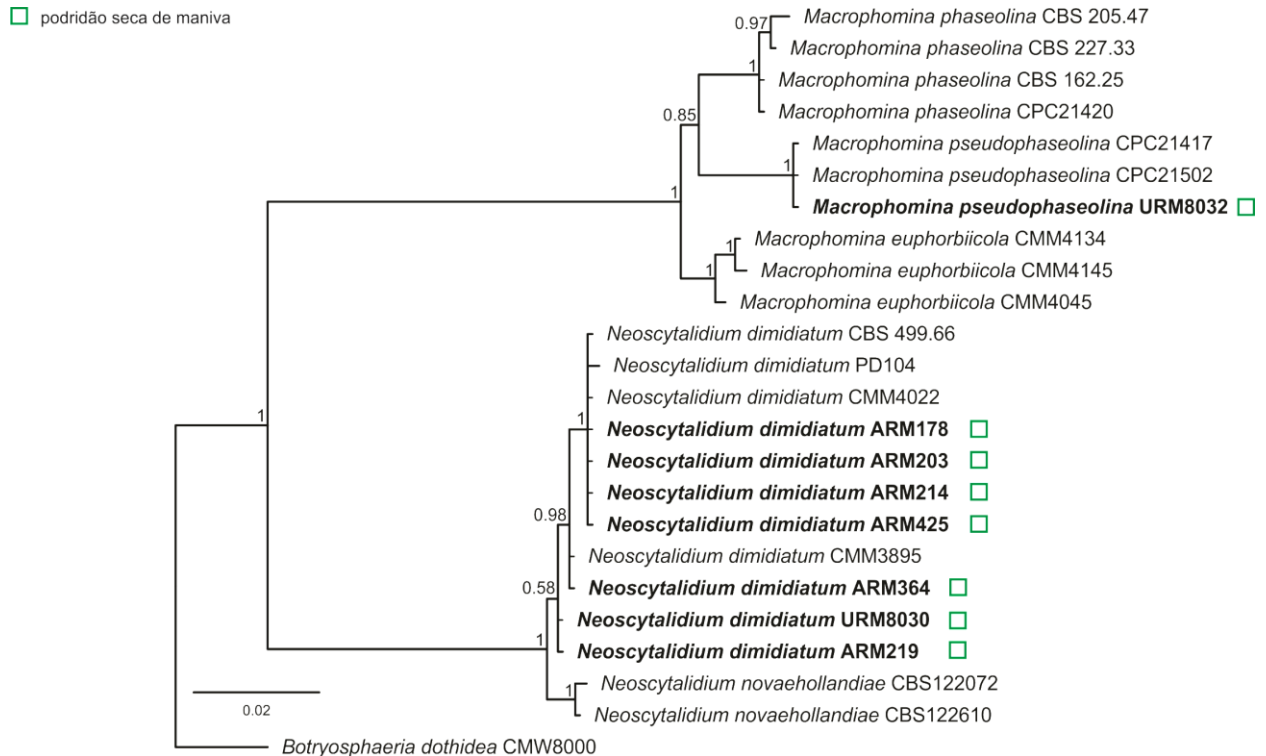


Figura 5. Árvore filogenética de *Neoscytalidium* e da *Macrophomina* gerada a partir da análise Bayesiana baseada nas sequências combinadas das regiões ITS e TEF1- α . Probabilidades posteriores bayesianas são indicadas acima dos nós. A árvore foi enraizada com o *Neoscytalidium dimidiatum* CBS 499.66. As espécies obtidas neste estudo estão destacadas em negrito. Os símbolos coloridos representam o substrato de origem de cada isolado obtido neste estudo. Sequências obtidas por Machado et al. (2014a) dos isolados de *N. dimidiatum* CMM4022 e CMM3895 causadores da podridão negra de raízes de mandioca, foram incluídos na análise para a comparação com os espécimes obtidos a partir de manivas nesse estudo.

4.3 TAXONOMIA

***Lasiodiplodia brasiliense* M.S.B. Netto, M.W. Marques & A.J.L. Phillips, Fungal Diversity 67: 134. 2014.**

Fase sexuada não observada. Fase assexuada: Conidioma picnidial coberto por estoma de coloração negra. *Conídios* imaturos hialinos que quando maduros apresentam coloração marrom, formato ovóides/elipsoides, presença de estrias longitudinais e 1-septo transversal, tamanho dos conídios variando entre 22,7 μm - 29,2 x 11,7 - 17 μm . *Características da cultura*: micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

Tipo: **Brasil**, Pernambuco, Fazenda Dan, em caules de *Mangifera indica*, 2010, M. W. Marques, **holótipo** URM 85580.

Hospedeiro/substrato: *Carica papaya* (NETTO et al., 2014); *Mangifera indica* (NETTO et al., 2014; RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017); *Vitis vinífera* (CORREIA et al., 2016a); *Cocos nucifera* (ROSADO et al., 2016); *Anacardium occidentale* (NETTO et al., 2017); *Annona squamosa* (CARDOSO et al., 2017); *Manilkara zapota* e *Spondias purpurea* (COUTINHO et al., 2017); *Eucalyptus* (LI et al., 2018); ***Manihot esculenta*** (presente estudo).

Distribuição conhecida: Brasil (NETTO et al., 2014; CORREIA et al., 2016a; ROSADO et al., 2016; NETTO et al., 2017; CARDOSO et al., 2017; COUTINHO et al., 2017; presente estudo); Peru (RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017); China (LI et al., 2018).

***Lasiodiplodia caatinguensis* I.B.L. Cout., F.C.O Freire, C.S. Lima & J.E. Cardoso, Plant Pathology 66 (1): 96. 2016.**

Fase sexuada não observada. Fase assexuada: Conidioma picnidial coberto por estoma de coloração negra. *Conídios* imaturos hialinos que quando maduros apresentam coloração marrom, formato ovóides/elipsoides, presença de estrias longitudinais e 1-septo transversal, tamanho dos conídios variando entre 16,9-23,3 µm x 9,5-11,6 µm. *Características da cultura:* micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

Tipo: **Brasil**, Ceará, Itarema, necrose em tronco de *Citrus sinensis*, Out. 2013, I. B. L. Coutinho & J. S. Lima, **holótipo** VIC42498.

Hospedeiro/substrato: *Citrus sinensis*, *Anacardium occidentale* *Spondias purpurea*, *Spondias lutea* (COUTINHO et al., 2017), ***Manihot esculenta*** (presente estudo).

Distribuição conhecida: Brasil (COUTINHO et al., 2017; presente estudo).

***Lasiodiplodia euphorbicola* A.R. Machado & O.L. Pereira, Fungal Diversity 67 (1): 238. 2014.**

Sinônimo: *Lasiodiplodia marypalme* M.S.B. Netto, M.W. Marques, A.J.L. Phillips & M.P.S. Câmara, Fungal Diversity 67(1): 127–141.

Fase sexuada não observada. Fase assexuada: Conidioma picnidial coberto por estoma de coloração negra. *Paráfases* hialinas medindo até 84,8 µm de comprimento. *Células conidiogênicas* holoblásticas hialinas e cilíndricas. *Conídios* imaturos hialinos que quando maduros apresentam coloração marrom, formato ovóides/elipsoides, presença de estrias longitudinais e 1-septo transversal, tamanho dos conídios variando entre 13-20,8 µm x 7,8-13 µm. *Características da cultura*: micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

Tipo: **Brasil**, Colatina, Espírito Santo, no colo e em raiz de *Jatropha curcas*, 2011, A.R. Machado & O.L. Pereira, **holótipo** VIC39109.

Hospedeiro/substrato: *Jatropha curcas* (MACHADO et al., 2014b), *Manihot esculenta* (MACHADO et al., 2014a, presente estudo), *Vitis vinifera* (CORREIA et al., 2016a), *Anacardium* (NETTO et al., 2017) *Annona muricata* e *Cocos nucifera* (COUTINHO et al., 2017).

Distribuição conhecida: Brasil (MACHADO et al., 2014a,b; CORREIA et al., 2016, NETTO et al., 2017, COUTINHO et al., 2017; presente estudo).

***Lasiodiplodia iraniensis* Abdollahz., Zare & A.J.L. Phillips, Persoonia 25: 8. 2010.**

Sinônimo: *Lasiodiplodia jatrophiicola* A.R. Machado & O.L. Pereira, Fungal Divers. 67(1): 239 (2014).

Características da cultura: micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

* Devido à ausência de esporulação não foi possível fazer a caracterização morfológica.

Tipo: **Irã**, Província de Hormozgan, Bandar Abbas, montanha de Geno, em galhos de *Salvadora persica*, Mar. 2007, J. Abdollahzadeh e A. Javadi, **holótipo** IRAN 14268F.

Hospedeiro/substrato: *Citrus* sp., *Eucalyptus* sp., *Juglans* sp., *Salvadora persica*, *Terminalia catapa* (ABDOLLAHZADEH et al. 2010), *Mangifera indica* (ABDOLLAHZADEH et al. 2010; MARQUES et al. 2013a; RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al. 2017), *Jatropha curcas* (MACHADO et al., 2014b), *Anacardium* (NETTO et al. 2017), *Manihot esculenta* (presente estudo).

Distribuição conhecida: Irã (ABDOLLAHZADEH et al. 2010), Brasil (MARQUES et al. 2013a; MACHADO et al., 2014b; NETTO et al. 2017; presente estudo), Peru (RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al. 2017).

***Lasiodiplodia laelicottleyae* (Sibilia) A. Alves, Fungal Biology. 121 (4): 457. 2016.**

Sinônimo: *Lasiodiplodia egyptiaca* A.M. Ismail et al., Australas. Plant Path. 41: 655 (2012).

Fase sexuada não observada. Fase assexuada: Conidioma picnidial coberto por estoma de coloração negra. *Conídios* imaturos hialinos que quando maduros apresentam coloração marrom, formato ovóides/elipsoides, presença de estrias longitudinais e 1-septo transversal, tamanho dos conídios variando entre 20,8-28,6 µm x 13-15,6 µm. *Características da cultura:* micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

Culturas examinadas: **Peru:** Piura, Cieneguillo Centro, ramo com necrose de *M. indica*, junho 2012, E. Rodríguez-Gálvez, **LACIC1** e **LAREP1**.

Hospedeiro/substrato: *Laeliocattleya* (SIBILIA, 1927), *Mangifera indica* (ISMAIL et al., 2012; MARQUES et al., 2013a; RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017), *Jatropha curcas* (MACHADO et al., 2014b), *Cocos nucifera* (ROSADO et al., 2016), *Anacardium* (NETTO et al., 2017), ***Manihot esculenta*** (presente estudo).

Distribuição conhecida: Itália (SIBILIA, 1927), Brasil (MARQUES et al., 2013a; MACHADO et al., 2014b; ROSADO et al., 2016; NETTO et al., 2017; presente estudo), Egito (ISMAIL et al., 2012), Peru (RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017).

***Lasiodiplodia hormozganensis* Abdollahz., Zare & A.J.L. Phillips, Persoonia 25: 6. 2010.**

Fase sexuada não observada. Fase assexuada: Conidioma picnidial coberto por estoma de coloração negra. *Paráfases* hialinas medindo até 74,2 µm de comprimento. *Células conidiogênicas* holoblásticas hialinas e cilíndricas. *Conídios* imaturos hialinos que quando maduros apresentam coloração marrom, formato ovóides/elipsoides, presença de estrias longitudinais e 1-septo transversal, tamanho dos conídios variando entre 15,6 - 26 µm x 10,4 - 13 µm. *Características da cultura:* micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

Tipo: **Irã**, Província de Hormozgan, Rodan, em galhos de *Olea* sp., Jun. 2007, J. Abdollahzadeh e A. Javadi, **holótipo** IRAN 14271F.

Hospedeiro/substrato: *Mangifera indica* (ABDOLLAHZADEH et al., 2010; MARQUES et al., 2013a), *Olea* sp. (ABDOLLAHZADEH et al., 2010), *Phoenix dactylifera*, *Citrus* (AL-SADI et al., 2013), *Carica papaya* (NETTO et al., 2014), *Vitis vinífera* (CORREIA et al., 2016a), *Ricinus communis* (CUSTÓDIO et al., 2018), ***Manihot esculenta*** (presente estudo).

Distribuição conhecida: Irã (ABDOLLAHZADEH et al., 2010), Omã e Emirados Árabes Unidos (AL-SADI et al., 2013), Brasil (MARQUES et al., 2013a; NETTO et al., 2014; CORREIA et al., 2016; CUSTÓDIO et al., 2018; presente estudo).

***Lasiodiplodia parva* A.J.L. Phillips, A. Alves & Crous, Fungal Diversity 28: 9. 2007.**

Fase sexuada não observada. Fase assexuada: Conidioma picnidial coberto por estoma de coloração negra. *Paráfases* hialinas medindo até 100,7 µm. *Células conidiogênicas* holoblásticas hialinas e cilíndricas. *Conídios* imaturos hialinos que quando maduros apresentam coloração marrom, formato ovóides/elipsoides, presença de estrias longitudinais e 1-septo transversal, tamanho dos conídios variando entre 15,6-20,8 µm x 7,8-13 µm. *Características da cultura:* micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

Tipo: **Colômbia**, Dep. Meta, Villavicencio, solo de mandioca, 1978, O. Rangel, **holótipo** CBS H-19915.

Hospedeiro/substrato: Solo de mandioca, *Theobroma cacao* (ALVES et al., 2008), *Citrus* (ADESEMOYE et al., 2014), *Vitis vinífera* (CORREIA et al., 2013) ***Manihot esculenta*** (presente estudo).

Distribuição conhecida: Colômbia, Sri Lanka (ALVES et al., 2008), Estados Unidos (ADESEMOYE et al., 2014), Brasil (CORREIA et al., 2013, presente estudo).

***Lasiodiplodia pseudotheobromae* A.J.L. Phillips, A. Alves & Crous, Fungal Diversity 28: 8. 2007.**

Características da cultura: micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

* Devido à ausência de esporulação não foi possível fazer a caracterização morfológica.

Tipo: **Costa Rica**, San Carlos, em *Gmelina arborea*, J. Carranza-Velazquez, **holótipo** CBS H-19916.

Hospedeiro/substrato: *Acacia mangium*, *Citrus aurantium*, *Coffea* sp., *Gmelina arborea*, *Rosa* sp. (ALVES et al. 2008), *Carica papaya* (NETTO et al., 2014), ***Manihot esculenta*** (MACHADO et al., 2014a, presente estudo), *Jatropha curcas* (MACHADO et al., 2014b), *Cocos nucifera* (ROSADO et al., 2016), *Vitis vinífera* (CORREIA et al., 2016a), *Prunus persica* (ENDES et al., 2016), *Anacardium* (NETTO et al., 2017), *Spondias. purpurea* e *Tamarindus indica* (COUTINHO et al., 2017), *Mangifera indica* (MARQUES et al., 2013a; ISMAIL et al., 2012; RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017).

Distribuição conhecida: Costa Rica, Países Baixos, Suriname, Zaire (ALVES et al. 2008), Egito (ISMAIL et al., 2012), Brasil (MARQUES et al., 2013a; NETTO et al., 2014; MACHADO et al., 2014a,b; ROSADO et al., 2016; CORREIA et al., 2016a; NETTO et al., 2017; COUTINHO et al., 2017; presente estudo), Turquia (ENDES et al., 2016), Peru (RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017).

***Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl., Bull. Soc. Mycol. Fr. 25: 57. 1909.**

Sinônimo: *Botryodiplodia theobromae* Pat., Bulletin de la Société Mycologique de France 8 (2): 136 (1892)

= *Diplodia theobromae* (Pat.) W. Nowell, Diseases of Crop Plants in the Lesser Antiles: 158 (1923)

= *Sphaeria glandicola* Schwein., Trans. Am. phil. Soc., Ser. 2 4(2): 214 (1832)

= *Physalospora rhodina* Berk. & M.A. Curtis, Grevillea 17: 92 (1889)

= *Botryosphaeria rhodina* (Berk. & M.A. Curtis) Arx, Gen. Fungi Sporul. Cult. (Lehr): 143 (1970)

= *Diplodia gossypina* Cooke, Grevillea 7: 95 (1879)

= *Macrophoma vestita* Prill. & Delacr., Bull. Soc. Mycol. Fr. 10: 165 (1894)

= *Botryodiplodia gossypii* Ellis & Barth., J. Mycol. 8: 175–176 (1902)

- = *Lasiodiplodia tubericola* Ellis & Everh., Botanical Gazette Crawfordsville 21: 92 (1896)
- = *Lasiodiplodia nigra* Appel & Laubert, Arbeiten aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt für Land- und Forstwirtschaft 5 (3): 147 (1907)
- = *Botryodiplodia elasticae* Petch., Ann. R. Bot. Gdns Peradeniya 3: 7 (1906)
- = *Diplodia arachidis* Petch., Ann. R. Bot. Gdns Peradeniya 3: 6 (1906)
- = *Chaetodiplodia grisea* Petch., Ann. R. Bot. Gdns Peradeniya 3: 6 (1906)
- = *Diplodia rapax* Massee, Bull. Misc. Inf., Kew: 3 (1910)
- = *Diplodia natalensis* Pole-Evans Transvaal Dept. of Agricult. Sci. Bull. 4: 15. 1911 (1910)
- = *Diplodia manihoti* Sacc., Ann. Mycol. 12: 310 (1914)
- = *Botryodiplodia manihotis* Syd. & P. Syd., Ann. Mycol. 14: 202 (1916)
- = *Diplodia corchori* Syd. & P. Syd., Ann. Mycol. 14: 196 (1916)
- = *Diplodia musae* Died., Ann. Mycol. 14: 200 (1916)
- = *Lasiodiplodia triflorae* B.B. Higgins, Bull. Georgia Exp. Stn 118: 16 (1916)
- = *Diplodia ananassae* Sacc., Atti Acad. Sci. Ven.-Tren.-Istr. 10: 75 (1917)
- = *Physalospora gossypina* N.E. Stevens, Mycologia 17: 198 (1925)
- = *Botryodiplodia manihoticola* Petr., In: Petrak & Syd., Feddes Repert., Beih. 42: 143 (1926)

Fase sexuada não observada. Fase assexuada: Conidioma picnidial coberto por estoma de coloração negra. *Paráfases* hialinas medindo até 77,3 µm. *Células conidiogênicas* holoblásticas hialinas e cilíndricas. *Conídios* imaturos hialinos que quando maduros apresentam coloração marrom, formato ovóides/elipsoides, presença de estrias longitudinais e 1-septo transversal, tamanho dos conídios variando entre 20,8 - 26 µm x 13 - 15,6 µm. *Características da cultura*: micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

Tipo: **Equador**, em *Theobroma cacao*. **Ex-neótipo** CBS 164.96.

Hospedeiro/substrato: *Theobroma cacao* (GRIFFON & MAUBLANC, 1909), ***Manihot esculenta*** (MASSOLA JR. et al., 2016; presente estudo), *Mangifera indica* (ISMAIL et al. 2012; MARQUES et al., 2013a; RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017), *Carica*

papaya (NETTO et al., 2014), *Acacia mangium* e *Pinus caribea* var. *hondurensis* (ÚRBEZ-TORRES et al., 2016), *Cocos nucifera* (ROSADO et al., 2016), *Vitis vinifera* (CORREIA et al., 2016a), *Anacardium* (NETTO et al., 2017), *Spondeas purpurea* e *Talisia esculenta* (COUTINHO et al., 2017), *Solanum melongena* (VIEIRA et al., 2018).

Distribuição conhecida: Equador (GRIFFON & MAUBLANC, 1909), Egito (ISMAIL et al. 2012), Brasil (MASSOLA JR. et al., 2016; MARQUES et al., 2013a; NETTO et al., 2014; ROSADO et al., 2016; CORREIA et al., 2016; NETTO et al., 2017; COUTINHO et al., 2017; VIEIRA et al., 2018; presente estudo), Venezuela (ÚRBEZ-TORRES et al., 2016), Peru (RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017).

***Macrophomina pseudophaseolina* Crous, Sarr & Ndiave, *Phytopathologia Mediterranea* 53 (2): 265. 2014.**

Escleródios de coloração negra. *Características da cultura*: micélio aéreo abundante, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

* Devido à ausência de esporulação não foi possível fazer a caracterização morfológica.

Tipo: **Senegal**, Louga, em *Arachis hypogaea*, 2011, M.P. Sarr, **holótipo** CBS H-21518.

Hospedeiro/substrato: *Abelmoschus*, *Hibiscus sabdarifa*, *Vigna unguiculata* (SARR et al., 2014), *Arachis hypogaea* (SARR et al., 2014; MACHADO et al., 2018), *Gossypium hirsutum*, *Ricinus communis*, *Jatropha curcas* (MACHADO et al., 2018), ***Manihot esculenta*** (presente estudo).

Distribuição conhecida: Senegal (SARR et al., 2014), Brasil (MACHADO et al., 2018; presente estudo).

***Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slippers, *Studies in Mycology* 55: 244. 2006.**

Sinônimo: *Torula dimidiata* Penz., *Michelia* 2 (8): 466 (1882)

= *Scytalidium dimidiatum* (Penz.) B. Sutton & Dyko, *Mycological Research* 93: 484 (1989)

= *Fusicoccum dimidiatum* (Penz.) D.F. Farr, *Mycologia* 97 (3): 740 (2005)

= *Hendersonula toruloidea* Nattrass, Transactions of the British Mycological Society 18 (3): 197 (1933)

= *Scytalidium hyalinum* C.K. Campb. & J.L. Mulder, Sabouraudia 15: 163 (1977)

= *Neoscytalidium hyalinum* (C.K. Campbell & J.L. Mulder) A.J.L. Phillips, Groenewald & Crous, Studies in Mycology 76: 148 (2013)

Fase sexuada não observada. Fase assexuada: Conidioma picnidial coberto por estoma de coloração negra. Arthroconídios de coloração marrom 5.3-15.9 μm x 3.1-6.3 μm . Células conidiogênicas holoblásticas hialinas. Conídios imaturos hialinos e não septados medindo 7,8 - 13 μm x 2,6 - 5,2 μm , conídios maduros septados com coloração marrom-escuros no centro da célula. *Características da cultura*: micélio aéreo com aspecto pulverulento, crescimento rápido, no início a cultura pode apresentar coloração branco-acinzentado migrando para um tom acinzentado ao preto com o tempo.

Lectótipo: **Reino Unido**, sola do pé humano, 1973, C.K. Campbell, **isótipo** CBS H-7745.

Hospedeiro/substrato: *Ficus carica* (RAY et al., 2010), *Hylocereus undatus* (LAN et al., 2012), *Juglans regia* (CHEN et al., 2013), *Vitis vinifera* (ROLSHAUSEN et al., 2013), ***Manihot esculenta*** (MACHADO et al., 2014a; presente estudo), *Jatropha curcas* (MACHADO et al., 2014b), *Citrus* (MAYORQUIN et al., 2016), *Sansevieria trifasciata* (KEE et al., 2017), *Dioscorea esculenta* (LIN et al., 2017).

Distribuição conhecida: Austrália (RAY et al., 2010), China (LAN et al., 2012; LIN et al., 2017), Brasil (MACHADO et al., 2014a,b; presente estudo), Califórnia (CHEN et al., 2013; ROLSHAUSEN et al., 2013; MAYORQUIN et al., 2016), Malásia (KEE et al., 2017).

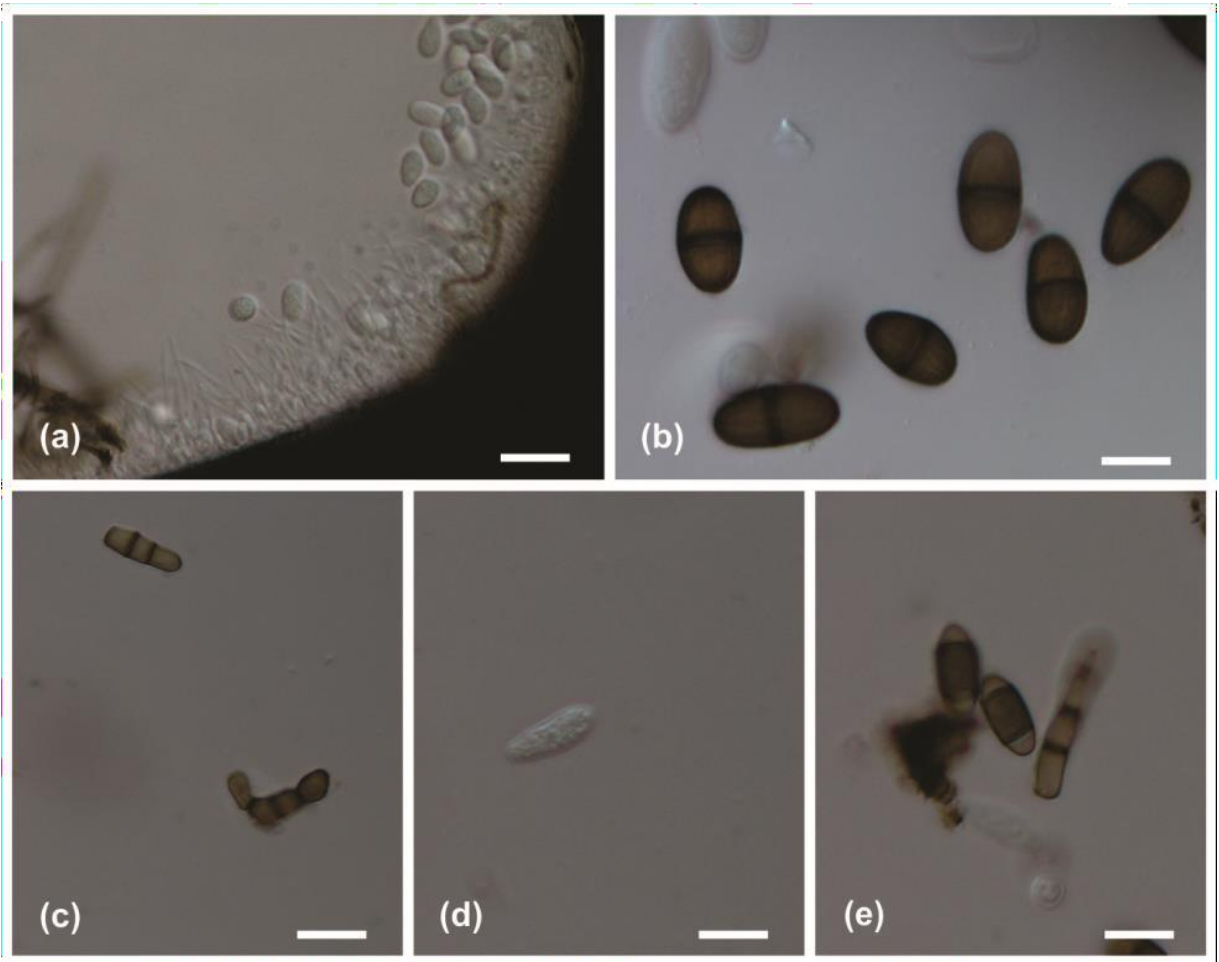


Figura 6. Características morfológicas do gênero *Lasiodiplodia* e do *Neoscytalidium dimidiatum*. (a) *Lasiodiplodia theobromae*: paráfises e conídios hialinos. (b) *L. hormozganensis*: conídios pigmentados maduros. (c) - (e) *N. dimidiatum*. (c) Arthroconídios do sinanamorfo. (d) Conídio imaturo hialino. (e) Conídios maduros, pigmentados e septados. Barra de escala: (a) 100 µm; (b)- (e) 10 µm.

Tabela 2. Comparação das características morfológicas das espécies examinadas neste estudo com estudos

Espécies	Conídios (µm)	Paráfises (µm)	Referências
<i>Lasiodiplodia brasiliense</i>	22.7-29.2 x 11.7-17	-	Netto et al. (2014)
	18-27.5 x 10.6-15.9	-	Presente estudo
<i>L. caatinguensis</i>	13-20.2 x 10.1-12.6	até 60.2	Coutinho et al. (2017)
	16.9-23.3 x 9.5-11.6	-	Presente estudo
<i>L. euphorbicola</i>	15-23 x 9-12	até 76	Machado et al. (2014b)
	13-20.8 x 7.8-13	até 84.8	Presente estudo
<i>L. hormozganensis</i>	19.6-23.4 x 11.7-13.3	até 83	Abdollahzadeh et al. (2010)
	15.6-26 x 10.4-13	até 74.2	Presente estudo
<i>L. laeliocattleyae</i>	18-27.4 x 11.7-17.2	até 95	Rodríguez-Gálvez et al. (2017)
	20.8-28.6 x 13-15.6	-	Presente estudo
<i>L. parva</i>	16-23.5 x 10.5-13	até 105	Alves et al. (2008)
	15.6-20.8 x 7.8-13	até 100.7	Presente estudo
<i>L. theobromae</i>	21-31 x 13-15.5	até 55	Alves et al. (2008)
	20.8-26 x 13-15.6	até 77.3	Presente estudo
Espécies	Conídios (µm)	Artroconídios (µm)	Referências
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	10-16(-21) x 3.5-6.5	4-16.5 x 8.5	Phillips et al. (2013)
	7.8-13 x 2.6-5.2	5.3-15.9 x 3.1-6.3	Presente estudo
<i>N. novaehollandiae</i>	10.5-12.5 x 4-5	5.5-7.5 x 3.5-4.5	Pavlic et al. (2008)

4.4 PATOGENICIDADE

O teste de patogenicidade realizado em raízes de mandioca confirmou a patogenicidade de todas as espécies obtidas neste estudo. Sete dias após a inoculação, as raízes mostraram sinais de podridão negra quando abertas (lesões secas e amareladas a acastanhadas tornando-se pretas e micélio envolvendo a casca). No caso da *M. pseudophaseolina*, o fungo penetrou e causou lesões internas que permaneceram localizadas próximas ao ponto de inoculação, enquanto nos outros tratamentos fúngicos, o micélio primeiro cresceu e esporulou na casca e depois penetrou as raízes pelas extremidades, desta maneira os sintomas não seguiram um padrão. Por esse motivo, não foi possível comparar a agressividade entre as espécies nas raízes. Em dez dias as raízes estavam totalmente cobertas por micélio acinzentado a preto ou branco ao acinzentado, frequentemente com estruturas reprodutivas dos fungos na casca envoltos por estroma negro (Figura 7).

No teste realizado em casa de vegetação, todas as espécies foram capazes de causar lesões nas plantas e puderam ser observadas diferenças de agressividade entre elas. Vinte e

sete dias após a inoculação dos fungos, algumas plantas tratadas com *N. dimidiatum*, *M. pseudophaseolina*, *L. laeliocattleyae*, *L. euphorbicola*, *L. brasiliense* e *L. parva* exibiram folhas murchas, amareladas e secas com áreas necróticas no caule das plantas, recobertas por estruturas negras dos fungos. As lesões causadas por *N. dimidiatum* e *L. parva* também progrediram para material propagativo (manivas) e causaram a morte das plantas. Em outras plantas, a lesão foi concentrada próximo ao ponto de inoculação fúngica, mostrando lesão necrótica acastanhada que se estendia pelo sistema vascular da planta (Figura 8).

Os resultados revelaram que *L. laeliocattleyae* foi a mais agressiva seguida pela *L. parva* e *N. dimidiatum*. Contudo, não houve diferença estatística na agressividade ($P < 0,05$) entre os demais tratamentos inoculados nas mudas de mandioca (Gráfico 1). Em ambos os testes de patogenicidade, o tratamento-controle permaneceu assintomático.

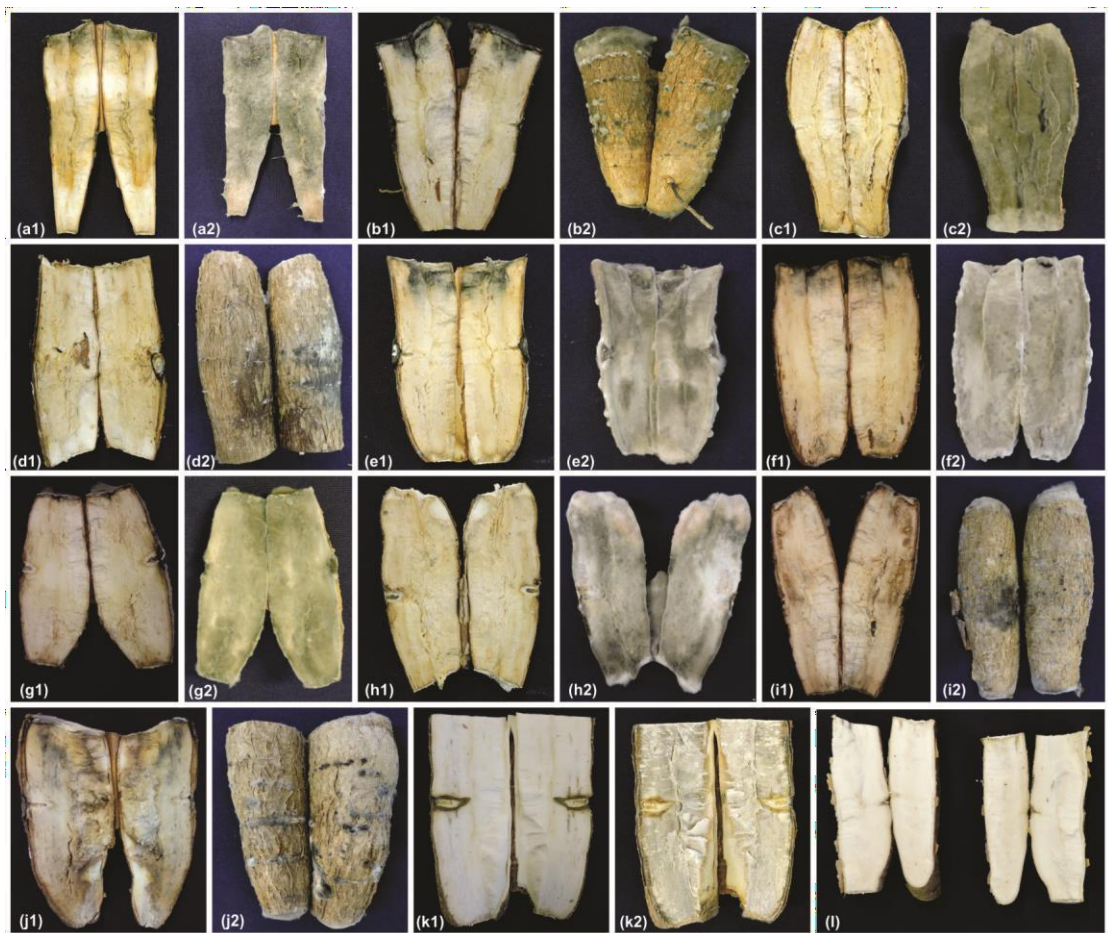


Figura 7. Resultado do teste de patogenicidade mostrando espécies de Botryosphaeriaceae causando podridão negra em raízes de mandioca sete e dez dias após inoculação dos fungos, respectivamente. (a1, a2) *Neoscytalidium dimidiatum*. (b1, b2) *Lasiodiplodia theobromae*. (c1, c2) *L. pseudotheobromae*. (d1, d2) *L. hormozganensis*. (e1, e2) *L. brasiliense*. (f1, f2) *L. laeliocattleyae*. (g1, g2) *L. parva*. (h1, h2) *L. iraniensis*. (i1, i2) *L. euphorbicola*. (j1, j2) *L. caatinguensis*. (k1, k2) *Macrophomina pseudophaseolina*. (l) Tratamento controle sem sinais de podridão negra de raiz. (b2, d2, i2, j2) Estruturas de Botryosphaeriaceae na casca das raízes.

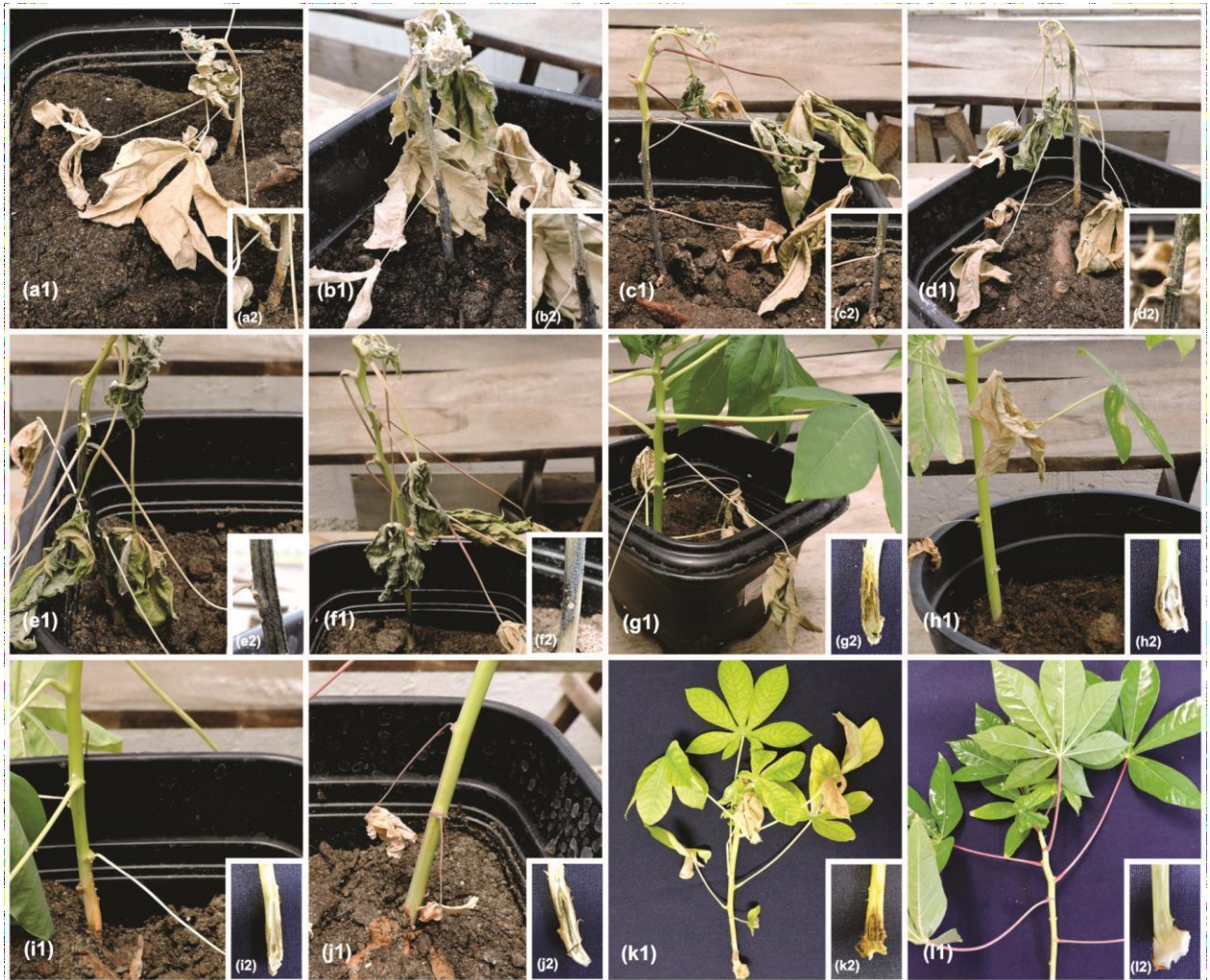


Figura 8. Teste de patogenicidade realizado em manivas demonstrando espécies de Botryosphaeriaceae causando podridão em mudas de mandioca. (a1, a2) *Macrophomina pseudophaseolina*. (b1, b2) *Neoscytalidium dimidiatum*. (c1, c2) *Lasiodiplodia brasiliense*. (d1, d2) *L. parva*. (e1, e2) *L. laeliocattleyae*. (f1, f2) *L. euphorbicola*. (g1, g2) *L. caatinguensis*. (h1, h2) *L. iraniensis*. (i1, i2) *L. theobromae*. (j1, j2) *L. pseudotheobromae*. (k1, k2) *L. hormozganensis*. (l1, l2) Tratamento controle sem sinais de podridão.

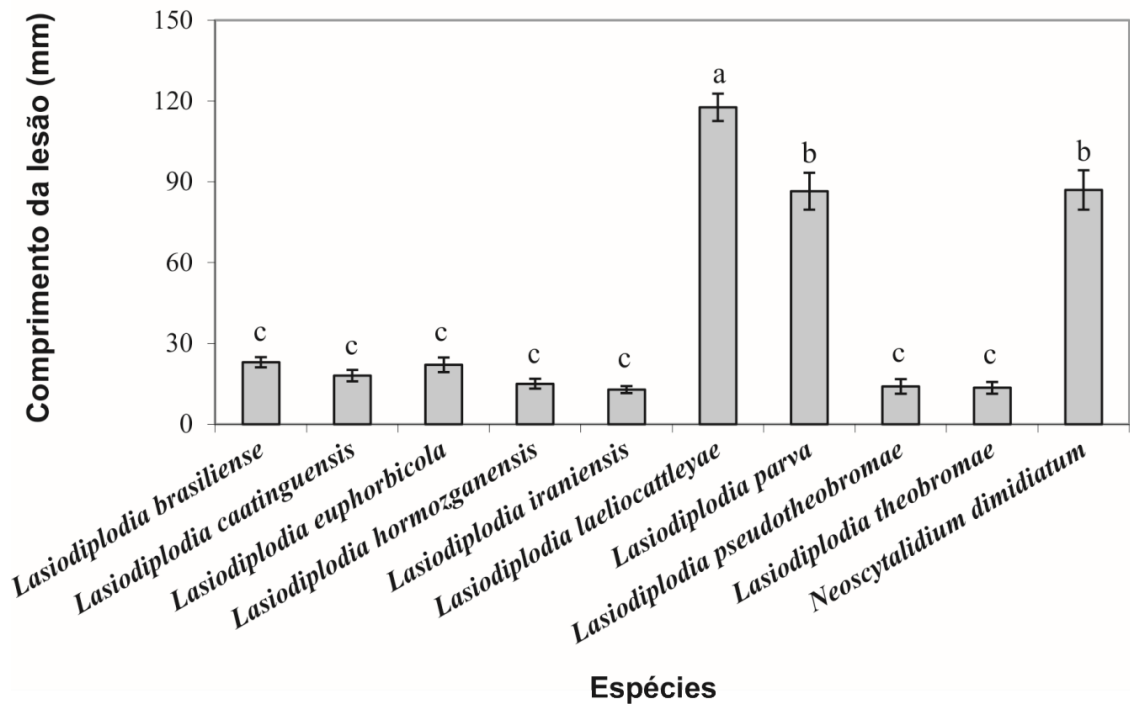


Gráfico 1. Comprimento médio das lesões (mm) em mudas de mandioca causado por espécies de Botryosphaeriaceae associadas a doenças da mandioca no Brasil 42 dias após a inoculação dos fungos. Barras acima das colunas representam o erro padrão da média. Colunas com a mesma letra indica que os tratamentos não diferem significativamente de acordo com o teste de LSD de Fisher ($P < 0,05$).

5 DISCUSSÃO

Entre os fatores limitantes para a produção de mandioca estão às doenças que ocorrem nessa cultura, estas incluem a podridão negra da raiz e a podridão seca das manivas. Ambas são doenças ainda negligenciadas, que ocorrem com frequência, levando a perdas de produção, além de afetar a qualidade do produto a ser comercializado. Sendo assim, das raízes e manivas coletadas que exibiram sinais de podridão negra e podridão seca, respectivamente, foram isolados mais de um gênero de Botryosphaeriaceae, a saber, *Lasiodiplodia*, *Neoscytalidium* e *Macrophomina*.

Lasiodiplodia foi o gênero mais frequentemente isolado, o que já era esperado, uma vez que este grupo é com frequência identificado associado a doenças de plantas no nordeste brasileiro (CORREIA et al., 2016a; COUTINHO et al., 2017; NETTO et al., 2017). A presença de *Neoscytalidium* spp. também era esperado já que Machado et al. (2014a) isolou *N. dimidiatum* de raízes infectadas com podridão negra no Brasil, mas é a primeira vez que *Macrophomina* é relatada associada a doenças de mandioca no país.

Todos os espécimes obtidos neste estudo agruparam com suas espécies-tipo, exceto alguns isolados de *N. dimidiatum* que apresentaram variações intraespecíficas quando alinhados com as espécies-tipo do grupo. No entanto, devido ao baixo valor de suporte dos nós, essas variações não foram significativas o suficiente para caracterizar estes isolados como novas espécies. Este trabalho revelou que um complexo de *Lasiodiplodia* ssp. está associado à podridão negra da raiz e a podridão seca das manivas de mandioca. Isso reforça a relevância deste gênero na etiologia e epidemiologia das doenças de plantas, especialmente em áreas tropicais, como o nordeste brasileiro, pois, da mesma forma como ocorreu neste estudo, um complexo patogênico de *Lasiodiplodia* spp. já foi identificado em outras culturas de importância econômica no Brasil, como manga, mamão, pinhão-mansão, coco, uva e caju (MARQUES et al., 2013a; NETTO et al., 2014; MACHADO et al., 2014b, ROSADO et al., 2016; NETTO et al., 2017).

Das onze espécies identificadas neste estudo, sete nunca foram descritas associadas à mandioca antes. Assim, este é o primeiro relato de *L. parva*, *L. brasiliense*, *L. laeliocattleyae*, *L. hormozganensis*, *L. caatinguensis*, *L. iraniensis* e *Macrophomina pseudophaseolina* associadas a doenças na mandioca no mundo. Entre essas espécies, *L. caatinguensis* é a única restrita ao nordeste brasileiro até o momento (COUTINHO et al., 2017). *L. brasiliense* é outra espécie que foi descoberta no nordeste do Brasil por Netto et al. (2014) causando podridão em mamão, mas diferentemente da *L. caatinguensis*, *L. brasiliense* tem sido relatado em outros

hospedeiros fora do país (RODRÍGUEZ-GALVEZ et al., 2017; LI et al., 2018). As demais espécies de *Lasiodiplodia* spp. apresentam ampla gama de hospedeiros e distribuição geográfica, incluindo o Brasil, onde foram identificados causando declínio, morte descendente, gomose e podridão em uvas, caju, pinhão-manso, respectivamente (CORREIA et al., 2013; CORREIA et al., 2016; MACHADO et al., 2014b; NETTO et al., 2017).

M. pseudophaseolina foi uma das espécies menos isoladas, juntamente com *L. iraniensis* e *L. pseudotheobromae*, tendo sido isolada apenas uma vez em maniva com podridão seca. A *M. pseudophaseolina* foi descrita pela primeira vez no Senegal (SARR et al., 2014), onde permaneceu restrita até Machado et al. (2018) identificarem isolados de *M. pseudophaseolina* causando podridão de carvão em sementes de *Arachis hypogaea*, *Gossypium hirsutum*, *Ricinus communis* e *Jatropha curcas* no Brasil. Do gênero *Macrophomina*, apenas *M. phaseolina* foi descrita causando doença na mandioca, mas até hoje este relato permanece restrito ao Benim e a Nigéria (MSIKITA et al., 1998).

L. theobromae, *N. dimidiatum* e *L. euphorbicola* foram às espécies mais frequentemente encontradas neste estudo. Tais espécies já foram relatadas em estudos anteriores como agentes etiológicos de doenças da mandioca (MASSOLA JR. et al., 2016; MSIKITA et al., 2005; MACHADO et al., 2014a). *L. theobromae* tem sido relacionada a mais de 700 hospedeiros distribuídos mundialmente (FARR & ROSSMAN, 2018), incluindo a mandioca como agente causal de podridão em manivas deixadas no campo ou armazenadas (MASSOLA JR. et al., 2016) para a próxima plantação. No entanto, quando se lida com trabalhos mais antigos associados a *L. theobromae*, esta ampla gama de hospedeiros pode não estar realmente associada apenas com este fungo, mas com outras espécies do gênero intimamente relacionadas com esta espécie, uma vez que agora é sabido que *L. theobromae* é na verdade um complexo de espécies crípticas (ALVES et al., 2008; PHILLIPS et al., 2013).

Entre os trabalhos mais recentes podemos citar *L. theobromae* associada a cancos e a morte descendente em *Acacia mangium* na Venezuela, morte descendente em *Mangifera indica* no Peru e podridão em *Solanum melongena* no Brasil (ÚRBEZ-TORRES et al., 2016; RODRÍGUEZ-GÁLVEZ et al., 2017; VIEIRA et al., 2018). Além disso, essa espécie é usualmente encontrada no Brasil associada a outras espécies de *Lasiodiplodia*, incluindo *L. euphorbicola*, outra espécie do gênero descoberta no Brasil responsável por doenças em raízes e no colo de pinhão-manso (MACHADO et al., 2014b; CORREIA et al., 2016a; COUTINHO et al., 2017) e também já encontrada causando podridão negra em raízes de mandioca junto com *N. dimidiatum* e *L. pseudotheobromae* (MACHADO et al., 2014a).

N. dimidiatum é um patógeno geograficamente difundido que, como *Lasiodiplodia* spp. pode causar várias doenças de plantas em muitos hospedeiros, como morte descendente e cancro em ramos (RAY et al., 2010; MAYORQUIN et al., 2016). Em um estudo anterior, *N. dimidiatum* foi encontrado causando podridão do caule e podridão negra de raiz de mandioca no Benin (MSIKITA et al., 2005). No Brasil, esse mesmo fungo foi identificado neste mesmo hospedeiro causando a podridão negra da raiz por Machado et al. (2014a), mas antes desse trabalho *Scytalidium lignicola* foi relatado como o agente etiológico desta doença no Brasil com base em análises morfológicas do fungo (LARANJEIRA et al., 1994; POLTRONIERI et al., 1998; MUNIZ et al., 1999; SERRA et al., 2009), no entanto, segundo Machado et al. (2014a) uma identificação incorreta pode ter ocorrido em vista do fato de que em certas condições *S. lignicola* e *N. dimidiatum* podem ser morfológicamente similares.

Neste levantamento, *N. dimidiatum* foi isolado de manivas e raízes com podridão seca e podridão negra, respectivamente, assim como *L. theobromae*, *L. euphorbicola*, *L. parva* e *L. hormozganensis*. As outras espécies obtidas nesta pesquisa *M. pseudophaseolina*, *L. brasiliense*, *L. laelocattleyae*, *L. caatinguensis*, *L. iraniensis* e *L. pseudotheobromae* foram isoladas apenas em manivas infectadas. No entanto, o número de amostras coletadas de podridão seca de manivas foi superior à quantidade de raízes com podridão negra. Isso pode explicar o fato de que algumas espécies foram encontradas neste trabalho apenas em manivas doentes, como foi o caso da *L. pseudotheobromae*, que em um estudo anterior foi identificada causando podridão negra de raízes em mandioca (MACHADO et al., 2014a).

Os testes de patogenicidade mostraram que todas as espécies obtidas neste levantamento foram capazes de causar podridão seca de maniva e podridão negra de raiz em mandioca, mesmo as espécies isoladas apenas de um desses substratos. Não foi possível avaliar as diferenças de agressividade das espécies nas raízes de mandioca devido ao rápido crescimento do micélio e à ausência de um padrão nos sintomas. No teste em casa de vegetação com mudas de plantas de mandioca observou-se que *L. laelocattleyae* foi a mais agressiva, seguida de *N. dimidiatum* e *L. parva*. Embora não tenha havido diferença estatística na agressividade entre as demais espécies, *L. theobromae* causou as menores lesões em mudas de mandioca.

Baseado em tal resultado unido ao fato de algumas espécies terem sido isoladas de raízes e manivas doentes neste estudo, podemos inferir que a podridão negra de raízes e a podridão seca de manivas são doenças relacionadas causadas pelas mesmas espécies de fungos. Os patógenos podem infectar as manivas utilizadas como material de propagação pelos agricultores através de aberturas naturais, penetração direta ou como exposto em Massola Jr. et al. (2016), por meio de algum tipo de lesão sofrida por esse material. Quando

estes materiais infectados são plantados, durante o desenvolvimento da planta, além dos sintomas de podridão seca de maniva, esses patógenos podem migrar para regiões mais nutritivas da planta rica em amido, como é o caso das raízes da mandioca, causando podridão negra da raiz, doença esta mais difícil de ser identificada no campo.

Estas informações enfatizam a importância da seleção de materiais de propagação de qualidade e a necessidade do tratamento prévio destes. Os resultados obtidos por este estudo certamente ajudarão no desenvolvimento de estratégias de manejo e controle da podridão negra da raiz e da podridão seca de manivas na mandioca.

6 CONCLUSÕES

- A podridão seca das manivas e a podridão negra das raízes de mandioca no Brasil são causadas por um complexo de espécies da família Botryosphaeriaceae;
- Entre os fungos da família Botryosphaeriaceae associados à podridão seca das manivas e à podridão negra das raízes de mandioca no Brasil, o gênero *Lasiodiplodia* é o mais frequente, seguido pelo *Neoscytalidium dimidiatum*;
- Dentre as espécies obtidas neste estudo, *L. parva*, *L. brasiliense*, *L. laeliocattleyae*, *L. hormozganensis*, *L. caatinguensis*, *L. iraniensis* e *Macrophomina pseudophaseolina* são relatadas pela primeira vez associadas a doenças na mandioca no mundo;
- Todas as espécies testadas são patogênicas em mudas e raízes de mandioca da variedade Santo Estevão;
- A podridão seca das manivas e a podridão negra de raízes de mandioca são doenças correlacionadas que estão sendo causadas pelo mesmo grupo de fungos (Botryosphaeriaceae) nas áreas estudadas.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHZADEH, J.; JAVADI, A.; GOLTAPPEH, E. M.; ZARE, R.; PHILLIPS, A. J. L.; Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. **Persoonia**, Países Baixos, v. 25, p.1-10, 23 dezembro 2010.
- ADESEMOYE, A. O.; MAYORQUIN, J. S.; WANG, D. H.; TWIZEYIMANA, M.; LYNCH, S. C.; ESKALEN, A. Identification of species of Botryosphaeriaceae causing bot gummosis in *Citrus* in California. **Plant Disease**, Minnesota, v. 98, n. 1, p. 55 – 61, janeiro 2014.
- AL-BEDAK, O. A.; MOHAMED, R. A.; SEDDEK, N. H. First detection of *Neoscytalidium dimidiatum* associated with canker disease in Egyptian *Ficus* trees. **Forest Pathology**, v.48, n. 2, p.12411, 17 abril 2018.
- ALBUQUERQUE, A. S. **Mandioca para farinha**: aspectos históricos, etimológicos e morfoanatômicos. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/387992/1/OrientalDoc325.pdf>. Acesso em: 28 outubro 2017.
- AL-SADI, A. M.; AL-WEHAIBI, A. N.; AL-SHARIQI, R. M.; AL-HAMMADI, M. S.; AL-HOSNI, I. A.; AL-MAHMOOLI, I. H.; AL-GHAITHI, A. G. Population Genetic Analysis Reveals Diversity in *Lasiodiplodia* Species Infecting Date Palm, *Citrus* and Mango in Oman and the UAE. **Plant Disease**, Minnesota, v. 97, n. 10, p.1363 – 1369, 05 setembro 2013.
- ALVAREZ, E.; MEJÍA, J. F.; LLANO, G. A.; LOKE, J. B.; CALARI, A.; DUDUK, B.; BERTACCINI, A. Characterization of a phytoplasma associated with frogskin disease in cassava. **Plant Disease**, Minnesota, v. 93, n. 11, p.1139-1145, 09 outubro 2009.
- ALVES, A. A. C. Época de Plantio. In: Mattos, P. L. P.; Farias, A. R. N.; Filho, J. R. F. (org.). **Mandioca**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 86 – 89.
- ALVES A.; CROUS, P. W.; CORREIA, A.; PHILLIPS, A. J. L. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. **Fungal Diversity**, Alemanha, v. 28, p.1–13, 2008.
- BANDYOPADHYAY, R.; MWANGI, M.; AIGBE, S. O.; LESLIE, J. F. *Fusarium* Species from the Cassava Root Rot Complex in West Africa. **Phytopathology**, Minnesota, v.96, n.6, p.673-676, 01 junho 2006.
- BRASIL. **Economia e emprego**: Agricultura familiar produz 90% da mandioca na Bahia. Brasília: BRASIL, 2014. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2014/09/agricultura-familiar-produz-90-da-mandioca-na-bahia>. Acesso em: 01 novembro 2017.
- CARDOSO, J. E.; LIMA, J. S.; VIANA, F. M. P.; OOTANI, M. A.; ARAUJO, F. S. A.; FONSECA, W. L.; LIMA, C. S.; MARTINS, M. V. V. First report of *Lasiodiplodia*

brasiliense causing postharvest fruit rot custard apple (*Annona squamosa*) in Brazil. **Plant Disease Notes**, Minnesota, v. 101, n.8, p.1542, 05 junho 2017.

CARVALHO, P. C. L. Classificação botânica. In: Mattos, P. L. P.; Farias, A. R. N.; Filho, J. R. F. (org.). **Mandioca: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 18 – 21.

CASTELLANI, A. A maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. Further researches. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Virginia, v.70, p.181–184, 1967.

CHEN, S. F.; FICHTNER, E.; MORGAN, D. P.; MICHAILIDES, T. J. First Report of *Lasiodiplodia citricola* and *Neoscytalidium dimidiatum* Causing Death of Graft Union of English Walnut in California. **Plant Disease Notes**, Minnesota, v. 97, n. 7, p.993, 07 junho 2013.

CLAUDINO, M. R.; SOARES, D. J. Pathogenicity and aggressiveness of *Macrophomina phaseolina* isolates to castor (*Ricinus communis*). **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.39, p.453–456, 2014.

COMONT, G.; MAYET, V.; CORIO-COSTET, M. F. First report of *Lasiodiplodia viticola*, *Spencermartinsia viticola* and *Diplodia intermedia* associated with *Vitis vinifera* grapevine decline in French vineyards. **Plant Disease Notes**, Minnesota, v. 100, n.11, p.2328, 01 setembro 2016.

CONAB. **Mandioca: raiz, fécula e farinha**. Brasília: CONAB, 2017. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_16_14_33_30_17.pdf. Acesso em: 09 fevereiro 2018.

CORREIA, K. C.; CÂMARA, M. P. S.; BARBOSA, M. A. G. et al. Fungal trunk pathogens associated with table grape decline in Northeastern Brazil. **Phytopathologia Mediterranea**, Florença, v. 52, n. 2, p.380 – 387, 2013.

CORREIA, K. C., SILVA, M. A.; DE MORAIS JR, M. A.; ARMENGOL, J.; PHILLIPS, A. J. L.; CÂMARA, M. P. S., MICHEREFF, S. J. Phylogeny, distribution and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of table grape in the main Brazilian exporting region. **Plant Pathology**, Londres, v. 65, n.1, p.92–103, Janeiro 2016a.

CORREIA, K. C.; SILVA, M. A.; NETTO, M. S. B.; VIEIRA, W. A. S.; CAMARA, M. P. S.; MICHEREFF, S. J. First report of grapevine dieback caused by *Neoscytalidium hyalinum* in Brazil. **Plant Disease**, Minnesota, v.100, n.1, p. 213, janeiro 2016b.

COUTINHO, I. B. L.; FREIRE, F. C. O.; LIMA, C. S.; LIMA, J. S.; GONÇALVES, F. J. T.; MACHADO, A. R.; SILVA, A. M. S.; CARDOSO, J. E. Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. **Plant Pathology**, Londres, v.66, n.1, p.90–104, Janeiro 2017.

CROUS, P. W.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J.; RHEEDER, J.; MARASAS, W. F. O.; PHILIPS, A. J. L.; ALVES, A.; BURGESS, T.; BARBER, P.; GROENEWALD, J. Z.

Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. **Studies in Mycology**, Amsterdã, v.55, p.235–253, Maio 2006.

CUNHA, E. F. M.; NETO, J. T. F. Melhoramento genético da mandioca para o estado do Pará. In: Modesto Júnior, M. S.; Alves, R. N. B. (org.). **Cultura da mandioca**: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria. Brasília: Embrapa, 2016. p.70 - 71. Disponível em: <http://www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>. Acesso em: 25 outubro 2017.

CUSTÓDIO, F. A.; MACHADO, A. R.; SOARES, D. J.; PEREIRA, O. L. *Lasiodiplodia hormozganensis* causing basal stem rot on *Ricinus communis* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, Alemanha, v.13, n.1, p.25, Dezembro 2018.

DAMM, U.; CROUS, P. W.; FOURIE, P. H. Botryosphaeriaceae as potencial pathogens of *Prunus* species in South Africa with descriptions of *Diplodia Africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. **Mycologia**, Londres, v. 99, n.5, p.664 – 680, 2007.

DOU, Z. P.; HE, W.; ZHANG, Y. *Lasiodiplodia chinensis*, a new holomorphic species from China. **Mycosphere**, China, v. 8, n.2, p.521–532, 27 março 2017a.

DOU, Z. P.; HE, W.; ZHANG, Y. Does morphology matter in taxonomy of *Lasiodiplodia*? An answer from *Lasiodiplodia hyalina* sp. nov. **Mycosphere**, China, v.8; n.2, p.1014–1027, 07 Julho 2017b.

EDGAR, R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.32, n.5, p.1792–1797, 01 Março 2004.

FILHO, W. P.; SILVEIRA, G. S. R. **Cultura Da Mandioca (*Manihot esculenta* subsp *esculenta*)**. Minas Gerais: EMATER-MG, 2012. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/doc/intranet/upload/LivrariaVirtual/cultura%20da%20mandioca.pdf>. Acesso em: 14 abril 2017.

EMBRAPA. **Cultivo da mandioca para o estado do Pará**. Brasília: EMBRAPA, 2003. Disponível em: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_para/importacia.htm. Acesso em: 14 abril 2017.

ENDES, A.; KAYIM, M.; ESKALEN, A. First Report of *Lasiodiplodia theobromae*, *L. pseudotheobromae* and *Diplodia seriata* Causing Bot Canker and Gummosis of Nectarines in Turkey. **Plant Diseases Notes**, Minnesota, v.100, n.11, p.2321, Novembro 2016.

FAEP. **Perspectivas da mandioca**. Curitiba: FAEP, 2015. Disponível em: <http://www.sistemafeap.org.br/perspectivas-da-mandioca.html>. Acesso em: 15 abril 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Produzir mais com menos**: Mandioca um guia para a intensificação sustentável da produção. FAO, 2013- . ISBN 978-92-5-107641-5 versão *online*. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i2929o.pdf>. Acesso: 07 fevereiro 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Food outlook:** Biannual report on global food markets. FAO, 1995- . ISSN 1560-8182 versão *online*. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-I8080e.pdf>. Acesso: 9 maio 2018.

FARIAS, A. R. N. Pragas. *In*: Mattos, P. L. P.; Farias, A. R. N.; Filho, J. R. F. (org.) **Mandioca:** o produtor pergunta, a Embrapa responde. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 122 - 130.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal Databases.** U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA, Estados Unidos, 2018. Disponível em: <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>. Acesso: 10 de Julho de 2018.

FIALHO, J. F.; ANDRADE, R. F. R.; VIEIRA, E. A. **Mandioca no Cerrado:** questões práticas. 1. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2009.

FILGUEIRAS, G. C.; HOMMA, A. K. O. Aspectos socioeconômicos da cultura da mandioca na região norte. *In*: Modesto Júnior, M. S.; Alves, R. N. B. (org.) **Cultura da mandioca:** aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria. Brasília: Embrapa, 2016. p.16 - 48. Disponível em: <http://www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>. Acesso em: 25 outubro 2017.

FUKUDA, W. M. G. Variedades. *In*: Mattos, P. L. P.; Farias, A. R. N.; Filho, J. R. F. (org.). **Mandioca:** o produtor pergunta, a Embrapa responde. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006a. p.36 - 43.

FUKUDA, C. Doenças. *In*: Mattos, P. L. P.; Farias, A. R. N.; Filho, J. R. F. (org.). **Mandioca:** o produtor pergunta, a Embrapa responde. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006b. p. 142 – 151.

HALL, T. **BioEdit v7.0.9:** Biological sequence alignment editor for Win95/98/2K/XP/7. 2014. Disponível em: <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit.html>. Acesso: Julho 2014.

HOHENFELD, Camila Santiago. **Podridão radicular da mandioca:** metodologias de inoculação e seleção de fontes de resistência. 2016. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia, 2016.

HUANG, S. -K.; TANGTHIRASUNUN, N.; PHILLIPS, A. J. L.; DAI, D. -Q; WANASINGHE, D. N.; WEN, T. -C.; BAHKALI, A. H.; HYDE, K. D.; KANG, J. -C. Morphology and phylogeny of *Neoscytalidium orchidacearum* sp. nov. (Botryosphaeriaceae). **Mycobiology**, Reino Unido, v.44, n.2, p.78 – 84, Junho 2016.

HYDE, K. D.; NILSSON, R. H.; ALIAS, S. A. et al. One stop shop: backbone trees for important phytopathogenic genera: I. **Fungal Diversity**, Alemanha, v.67, n.1, p.21–125, julho 2014.

ISMAIL, A. M.; CIRVILLERI, G.; POLIZZI, G.; CROUS, P. W.; GROENEWALD, J. Z.; LOMBARD, L. *Lasiodiplodia* species associated with dieback disease of mango (*Mangifera*

indica) in Egypt. **Australasian Plant Pathology**, Alemanha, v.41, n.6, p.649 – 660, Novembro 2012.

JACOBS, K.; BERGDAHL, D. R.; WINGFIELD, M. J.; HALIK, S.; SEIFERT, K. A.; BRIGHT, D. E.; WINGFIELD, B. D. *Leptographium wingfieldii* introduced into North America and found associated with exotic *Tomicus piniperda* and native bark beetles. **Mycological Research**, Amsterdã, v.108, p.411–418, Abril 2004.

KEE, Y. J.; SUHAIMI, N. N.; ZAKARIA, L.; MOHD, M. H. Characterization of *Neoscytalidium dimidiatum* causing leaf blight on *Sansevieria trifasciata* in Malaysia. **Australasian Plant Disease Notes**, Alemanha, v.12, n.1, p.60, Dezembro 2017.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v.33, n.7, p.1870–1874, 01 Julho 2016.

LAN, G. –B.; HE, Z. –F.; XI, P. –G.; JIANG, Z. –D. First Report of Brown Spot Disease Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on *Hylocereus undatus* in Guangdong, Chinese Mainland. **Plant Disease Notes**, Minnesota, v. 96, n. 11, p.1702, 22 outubro 2012.

LARANJEIRA, D.; SANTOS, E. O.; MARIANO, R. L. R.; BARROS, S. T. Ocorrência da podridão negra da maniva e raiz da mandioca (*Manihot esculenta*) causada por *Scytalidium lignicola* no estado de Pernambuco, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, p.466-469, 1994.

LI, G. Q.; LIU, F. F.; LI, J. Q.; LIU, Q. L.; CHEN, S. F. Botryosphaeriaceae from *Eucalyptus* plantations and adjacent plants in China. **Persoonia**, Países Baixos, v. 40, p. 63-95, 30 junho 2018.

LIN, C. –H.; CHEN, Y. –X.; LIU, W. –B.; WU, W. –Q.; MIAO, W. –G.; ZHENG, F. –C. First Report of *Dioscorea esculenta* Dieback Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in China. **Plant Disease Notes**, Minnesota, v.101, n.7, p.1320, 03 maio 2017.

LIU, J.-K.; PHOOKAMSAK, R.; DOILOM, M. et al. Towards a natural classification of Botryosphaeriales. **Fungal Diversity**, Alemanha, v. 57, n. 1, p.149 – 210, novembro 2012.

MACHADO, A. R.; PINHO, D. B.; OLIVEIRA, S. A. S.; PEREIRA, O. L. New occurrences of Botryosphaeriaceae causing black root rot of cassava in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.39, n.6, p.464-470, Dezembro 2014a.

MACHADO, A. R.; PINHO, D. B.; PEREIRA, O. L. Phylogeny, identification and pathogenicity of the Botryosphaeriaceae associated with collar and root rot of the biofuel plant *Jatropha curcas* in Brazil, with a description of new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Diversity**, Alemanha, v.67, n.1, p.231–247, julho 2014b.

MACHADO, A. R.; PINHO, D. B.; SOARES, D. J.; GOMES, A. A. M.; PEREIRA, O. L. Bayesian analyses of five gene regions reveal a new phylogenetic species of *Macrophomina* associated with charcoal rot on oilseed crops in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Alemanha, Julho 2018b. Doi: 10.1007/s10658-018-1545-1.

MARQUES, M. W.; LIMA, N. B.; MORAIS JR, 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**, Alemanha, v.61, n. 1, p.181–193, julho 2013a.

MARQUES, M. W.; LIMA, N. B.; MORAIS JR, M. A.; MICHEREFF, S. J.; PHILLIPS, A. J. L.; CÂMARA, M. P. S. *Botryosphaeria*, *Neofusicoccum*, *Neoscytalidium* and *Pseudofusicoccum* species associated with mango in Brazil. **Fungal Diversity**, Alemanha, v.61, n.1, p.195–208, julho 2013b.

MASSOLA, Jr., N. S.; BEDENDO, I. P.; OLIVEIRA, S. A. S. Doenças da mandioca. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J. A. M.; Filho, A. B.; Camargo, L. E. A. (org.). **Manual de Fitopatologia: Doenças de Plantas Cultivadas**. 5. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2016. p.515-522.

MATTOS, P. L. P. Processamento e utilização. In: Mattos, P. L. P.; Farias, A. R. N.; Filho, J. R. F. (org.). **Mandioca: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006a. p. 160 -168.

MATTOS, P. L. P. Colheita. In: Mattos, P. L. P.; Farias, A. R. N.; Filho, J. R. F. (org.). **Mandioca: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006b. p. 154 -158.

MAYORQUIN, J.S.; WANG, D.H.; TWIZEYIMANA, M.; ESKALEN, A. Identification, Distribution, and Pathogenicity of Diatrypaceae and Botryosphaeriaceae Associated with Citrus Branch Canker in the Southern California Desert. **Plant Disease**, Minnesota, v.100, n. 12, p.2402-2413, 20 setembro 2016.

MICHEREFF, S. J.; DOMINGOS, E. G. T.; ANDRADE, M. M. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2005.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: PROCEEDINGS OF THE GATEWAY COMPUTING ENVIRONMENTS WORKSHOP (GCE), 2010, New Orleans. **E-book**. New Orleans, 2010. p. 1 - 8.

MODESTO JÚNIOR, M. S.; ALVES, R. N. B. Produção de mandioca em roça sem fogo e trio da produtividade. In: Modesto Júnior, M. S.; Alves, R. N. B. (org.) **Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria**. Brasília: Embrapa, 2016. p.80 – 95. Disponível em: <http://www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>. Acesso em: 25 outubro 2017.

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**, v.35, n. 6, p.385 – 396, 22 novembro 2005.

MSIKITA, W.; JAMES, B.; WILKINSON, H. T.; JUBA, J. H. First report of *Macrophomina phaseolina* causing pre-harvest cassava root in Benin and Nigeria. **Plant Disease**, Minnesota, v. 82, n.12, p.1402, 01 dezembro 1998.

MSIKITA, W.; BISSANG, B.; JAMES, B. D.; BAIMEY, H.; WILKINSON, H. T.; AHOUNOU, M.; FAGBEMISSI, R. Prevalence and severity of *Nattrassia mangiferae* root and stem rot pathogen of cassava in Bénin. **Plant Disease**, Minnesota, v. 89, n.1, p.12-16, 01 janeiro 2005.

MUNIZ, M. F. S.; SANTIAGO, A. D.; FUKUDA, C.; MENEZES, M. *Scytalidium lignicola*: patógeno da mandioca no estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica**, Brasília, v.25, p.156-158, 1999.

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

NETTO, M. S. B.; LIMA, W. G.; CORREIA, K. C.; SILVA, C. F. B.; THON, M.; MARTINS, R. B.; MILLER, R. N. G.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, P. S. Analysis of phylogeny, distribution, and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with gummosis of *Anacardium* in Brazil, with a new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Biology**, Amsterdã, v.121, p.437-451, n.4, Abril 2017.

NORONHA, A. C. S. Manejo das principais pragas da cultura da mandioca. In: Modesto Júnior, M. S.; Alves, R. N. B. (org.) **Cultura da mandioca**: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria. Brasília: Embrapa, 2016. p.172 - 185. Disponível em: <http://www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>. Acesso em: 25 outubro 2017.

NOTARO, Krystal de Alcantara. **Prospecção de fitopatógenos e caracterização de solos arenosos envolvidos na supressividade ou condutividade da podridão radicular da mandioca causada, por *Scytalidium lignicola***. 2012. Dissertação (Mestrado Produção Agrícola) – Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2012.

NOTARO, K. A.; MEDEIROS, E. V.; SILVA, C. A. D.; BARROS, J. A. Prospecção de fitopatógenos associados á podridão radicular da mandioca em Pernambuco, Brasil. **Bioscience Journal**, Minas Gerais, v.29, n.6, p.1832-1839, 13 Setembro 2013.

OTSUBO, A. A., BITENCOURT, P. H. F., PEZARICO, C. R. **Mandioca de Mesa**: Aspectos de Produção, Comercialização e Consumo em Dourados, MS. 1. ed. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001.

OTSUBO, A. A. A mandioca merece mais consideração. **A Granja**, Porto Alegre, v.767, p. 64-65, 2012.

PAVLIC, D.; WINGFIELD, M. J.; BARBER, P.; SLIPPERS, B.; HARDY, G. E. ST. J.; BURGESS, T. I. Seven new species of the Botryosphaeriaceae from baobab and other native trees in Western Australia. **Mycologia**, Londres, v.100, n.6, p.851-866, 2008.

- PHILLIPS, A. J. L.; 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**, Amsterdã, v.76, p.51–167, Setembro 2013.
- POLIZZI, G.; AIELLO, D.; VITALE, A.; GIUFFRIDA, F.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. First report of shoot blight, canker and gummosis caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on citrus in Italy. **Plant Disease Notes**, Minnesota, v. 93, n.11, p.1215, 09 outubro 2009.
- POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; ALBUQUERQUE, F. C.; POLTRONIERI, F. C. Ocorrência da podridão negra das raízes e do caule da mandioca no estado do Pará, causada por *Scytalidium lignicola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, p.411, 1998.
- POSADA, D.; BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic Biology**, Oxford, v.53, n.5, p.793–808, 01 outubro 2004.
- RAMBAUT, A. **FigTree 1.2.2.**, 2009. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>. Acesso em: Julho de 2014.
- RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. **Journal of Molecular Evolution**, Alemanha, v.43, n.3, p.304–311, Setembro 1996.
- RAY, J. D.; BURGESS, T.; LANOISELET, V. M. First record of *Neoscytalidium dimidiatum* and *N. novaehollandiae* on *Mangifera indica* and *N. dimidiatum* on *Ficus carica* in Australia. **Australasian Plant Disease Notes**, Alemanha, v.5, n. 1, p.48–50, Dezembro 2010.
- RODRÍGUEZ-GÁLVEZ, E.; GUERRERO, P.; BARRADAS, C.; CROUS, P. W.; ALVES, A. Phylogeny and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of mango in Peru. **Fungal Biology**, Amsterdã, V. 121, n.4, p.452 – 465, Abril 2017.
- ROLSHAUSEN, P. E.; AKGÜL, D. S.; PEREZ, R.; ESKALEN, A.; GISPERT, C. First Report of Wood Canker Caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on Grapevine in California. **Plant Disease Notes**, Minnesota, v. 97, n.11, p.1511, 04 outubro 2013.
- RONQUIST, F.; HEULSENBECK, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, Oxford, v.19, n.12, p.1572–1574, 12 Agosto 2003.
- ROSADO, A. W. C.; MACHADO, A. R.; FREIRE, F. C. O.; PEREIRA O. L. Phylogeny, identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia* associated with postharvest stem-end rot of coconut in Brazil. **Plant Disease**, Minnesota, v.100, n. 3, p.561 – 568, 18 janeiro 2016.
- SANAHUJA, G.; LOPEZ, P.; PALMATEER, A. J. First report of *Neoscytalidium dimidiatum* causing stem and fruit canker of *Hylocereus undatus* in Florida. **Plant Disease Notes**, Minnesota, v.100, n.7, p.1499, 31 março 2016.
- SARR, M. P.; DIAYE, M. N.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. **Phytopathologia Mediterranea**, Florença, v.53, n.2, p.250–268, 2014.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S.; LIMA, L. K. F. *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, Brasília, 35, n.4, p.327-328, Dezembro 2009.

SILVA, C. A. D.; MEDEIROS, E. V.; BEZERRA, C. B.; SILVA, W. M.; BARROS, J. A.; SANTOS, U. J. Interferência da incorporação de matéria orgânica no solo no controle da podridão negra da mandioca, causada por *Scytalidium lignicola*. **Bioscience Journal**, Minas Gerais, v.29, n.6, p.1823-1831, 13 Setembro 2013.

SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. **Fungal Biology Reviews**, Amsterdã, v.21, n.2 p.90–106, Maio 2007.

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**, Amsterdã, v.76, p.31–49, Setembro 2013.

SLIPPERS, B.; ROUX, J.; WINGFIELD, M. J.; VAN DER WALT, F. J. J.; JAMI, F.; MEHL, J. W. M.; MARAIS, G. J. Confronting the constraints of morphological taxonomy in the Botryosphaeriales. **Persoonia**, Países Baixos, v. 33, p. 155–168, 10 dezembro 2014.
SOUZA, L. D.; SOUZA, L. S. Clima e solo. In: Mattos, P. L. P.; Farias, A. R. N.; Filho, J. R. F. (org.). **Mandioca: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 26 – 34.

SUWANNARACH, N.; KUMLA, J.; LUMYONG, S. Leaf spot on cattleyae orchid caused by *Neoscytalidium orchidacearum* in Thailand. **Canadian Journal Plant Pathology**, Reino Unido, 40, n.1, p.109 – 114, 16 Fevereiro 2018.

TRAKUNYINGCHAROEN, T.; LOMBARD, L.; GROENEWALD, J. Z.; CHEEWANGKOON, R.; TO-ANUN, C.; CROUS, P. W. Caulicolous Botryosphaeriales from Thailand. **Persoonia**, Países Baixos, v. 34, p.87 – 99, 29 junho 2015.

TREMACOLDI, C. R. Manejo das principais doenças da cultura da mandioca no Estado do Pará. In: Modesto Júnior, M. S.; Alves, R. N. B. (org.) **Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria**. Brasília: Embrapa, 2016. p.162 - 170. Disponível em: <http://www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>. Acesso em: 25 outubro 2017.

ÚRBEZ-TORRES, J. R.; CASTRO-MEDINA, F.; MOHALI, S. R.; GUBLER, W. D. Botryosphaeriaceae Species Associated With Cankers and Dieback Symptoms of *Acacia mangium* and *Pinus caribaea* var. *hondurensis* in Venezuela. **Plant Disease**, Minnesota, v.100, n.12, p. 2455-2464, 28 setembro 2016.

VIEIRA, J. C. B.; CAMARA, M. P. S.; BEZERRA, J.D. P.; MOTTA, C. M. S.; MACHADO, A.R. First report of *Lasioidiplodia theobromae* causing rot in eggplant fruit in Brazil. **Plant Disease**, Minnesota, v.102, n. 10, p.2039, 10 agosto 2018.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: Innis, M. A.; Gelfand, D. H.; Sninsky, J. J.; White, T.J. (org.). **PCR Protocols**: A guide to methods and applications. California: Academic Press, 1990. p.315– 322.