

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRARIAS

***Lasiodiplodia theobromae* associada a manchas foliares e podridão dos frutos em
achachairu (*Garcinia humilis*)**

RIO LARGO

2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRARIAS

MARCUS VINICIUS SANTOS DA SILVA

Lasiodiplodia theobromae associada a manchas foliares e podridão dos frutos em
achachairu (*Garcinia humilis*)

Trabalho Acadêmico de conclusão de
Curso Apresentado a Universidade
Federal de Alagoas, como requisito
para obtenção de grau em Engenharia
Agrônômica.

RIO LARGO

2026

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

S586l Silva, Marcus Vinicius Santos da.

Lasiodiplodia theobromae associada a manchas foliares e podridão dos frutos em achachairu (*Garcinia humilis*). / Marcus Vinicius Santos da Silva. – 2026.

35 f.: il.

Orientador(a): Marcus Vinicius Santos da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Graduação em Agronomia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2026.

Inclui bibliografia

1. *Clusiaceae*. 2. *Botryosphaeriaceae*. 3. Filogenia multilocus. 4. Abordagem polifásica. I. Título.

CDU: 582.688

MARCUS VINICIUS SANTOS DA SILVA

Lasiodiplodia theobromae associada a manchas foliares e podridão dos frutos em
achachairu (*Garcinia humilis*)

Trabalho Acadêmico de conclusão de
Curso Apresentado a Universidade
Federal de Alagoas, como requisito
para obtenção de grau em Engenharia
Agrônômica.

Data da defesa: 01/06/2026

Conceito: 10,0

Documento assinado digitalmente
 MAYRA MACHADO DE MEDEIROS FERRO
Data: 15/06/2026 16:40:0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a Dra. Mayra Machado de Medeiros Ferro
Universidade Federal de Alagoas/UFAL

Documento assinado digitalmente
 KEVISON ROMULO DA SILVA FRANÇA
Data: 15/06/2026 16:20:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Kevison Romulo da Silva França
Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
 GESSICA JACIRA TRINDADE DE SOUZA
Data: 15/06/2026 19:14:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ma. Gessica Jacira Trindade de Souza
Universidade Federal de Alagoas

Rio Largo – AL
2026

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por toda capacitação, força e sabedoria concedidas a mim ao longo dessa caminhada. Nos momentos mais difíceis, Ele foi meu guia e suporte, auxiliando-me nas decisões mais importantes e me dando forças para continuar.

Aos meus pais, Genailton e Iracy, e às minhas irmãs, Lidiane, Lizanda e Loreнна, agradeço por sempre serem minha maior motivação para seguir em frente e superar as dificuldades. Obrigado por todo suporte, conselhos, carinho e atenção, por nunca deixarem faltar nada ao longo da minha vida e por serem fundamentais no meu desenvolvimento pessoal, profissional e na formação do meu caráter.

À minha namorada, Lucila, agradeço por sempre buscar me ajudar e me ouvir nos momentos mais difíceis durante o curso. Obrigado por ser uma companheira dedicada, fiel e alguém em quem posso confiar. Sou grato por todas as memórias felizes, pelo seu esforço em me ver bem, alegre e mais confiante.

Agradeço, de forma especial, ao Dr. Kevison Romulo, por ter sido amigo e mentor durante os anos em que fui membro do laboratório. Sua ajuda foi essencial em todo o experimento, na organização dos dados, nas análises moleculares e na bioinformática.

À Géssica, agradeço por ter me acolhido e compartilhado todo o conhecimento que possuía na área da Fitopatologia. Não poderia ter tido melhor companheira de bancada. Sua presença foi responsável por arrancar risos e tornar o ambiente acadêmico mais leve, divertido e acolhedor. Agradeço à minha orientadora, Dra. Mayra Ferro, por toda dedicação e presença ao longo da minha trajetória, desde a iniciação científica até a conclusão do curso. Seu apoio foi fundamental para ampliar meus conhecimentos em virologia e micologia. Sou grato por toda disposição em me auxiliar na escrita do TCC e na condução dos experimentos, tornando essa etapa mais tranquila e enriquecedora.

Por fim, agradeço a todos os atuais e ex-membros do Laboratório de Fitopatologia, que, ao longo desses cinco anos de curso, se tornaram minha segunda família. Levarei cada um na memória e no coração.

RESUMO

O achachairu (*Garcinia humilis*) é uma fruta tropical exótica, nativa da Bolívia, que recentemente ganhou popularidade comercial no Brasil. No entanto, a cultura pode ter sua produtividade reduzida pela ocorrência de problemas fitossanitários. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo identificar o agente etiológico associado a sintomas de manchas foliares e podridão de frutos observados em plantas de achachairu. Amostras de folhas e frutos sintomáticos foram coletadas em área de produção comercial, no estado de Pernambuco, Brasil, em 2024. Isolados fúngicos do gênero *Lasiodiplodia* foram obtidos a partir de tecido sintomático. A caracterização dos isolados incluiu análises morfológicas, culturais e moleculares, por meio da amplificação e sequenciamento das regiões ITS, *tefl-α* e *tub2*, seguidas de análise filogenética. Testes de patogenicidade foram conduzidos em folhas e frutos destacados de achachairu. Os resultados demonstraram que os isolados obtidos apresentam características compatíveis com *Lasiodiplodia theobromae*, sendo essa identificação confirmada pelas análises filogenéticas. Nos testes de patogenicidade, todos os isolados foram capazes de reproduzir os sintomas observados em campo, com variação no nível de agressividade, destacando-se um isolado como mais virulento. O cumprimento dos postulados de Koch confirmou a relação causal entre o fungo e as doenças. Este relato apresenta duas novas doenças no achachairu causadas por *L. theobromae*. Este estudo amplia nossa compreensão do patossistema do achachairu e estabelece uma base para futuras pesquisas sobre o manejo da doença.

Palavras-chave: *Clusiaceae*, *Botryosphaeriaceae*, filogenia multilocus, abordagem polifásica.

ABSTRACT

Achachairu (*Garcinia humilis*) is an exotic tropical fruit native to Bolivia that has recently gained commercial popularity in Brazil. However, its productivity can be reduced by phytosanitary problems. In this context, the present study aimed to identify the etiological agent associated with leaf spot and fruit rot symptoms observed in achachairu plants. Samples of symptomatic leaves and fruits were collected from a commercial production area in the state of Pernambuco, Brazil, in 2024. Fungal isolates belonging to the genus *Lasiodiplodia* were obtained from symptomatic tissues. The characterization of the isolates included morphological, cultural, and molecular analyses through amplification and sequencing of the ITS, *tef1-a*, and *tub2* regions, followed by phylogenetic analysis. Pathogenicity tests were conducted on detached achachairu leaves and fruits. The results demonstrated that the isolates presented characteristics compatible with *Lasiodiplodia theobromae*, which was confirmed by phylogenetic analyses. In the pathogenicity tests, all isolates were able to reproduce the symptoms observed in the field, although differences in aggressiveness were observed, with one isolate standing out as more virulent. Fulfillment of Koch's postulates confirmed the causal relationship between the fungus and the diseases. This report describes two new diseases in achachairu caused by *L. theobromae*. The study expands current knowledge of the achachairu pathosystem and provides a basis for future research on disease management.

Keywords: *Clusiaceae*, *Botryosphaeriaceae*, multilocus phylogeny, polyphasic approach.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 A cultura do achachairu	11
2.2 Importância econômica	12
2.3 Gênero <i>Lasioidiploidia</i>	13
2.3.1 Aspectos filogenéticos de <i>Lasioidiploidia</i>	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Amostragem e Isolamento	16
3.2 Caracterização morfológica e cultural	17
3.3 Extração de DNA, PCR e sequenciamento	18
3.4 Análises filogenéticas	18
3.5 Testes de patogenicidade	20
4. RESULTADOS	22
4.1 Caracterização morfológica e cultural	22
4.2 Análise filogenética	23
4.3 Testes de patogenicidade	24
5. DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

A família das *Clusiaceae* abriga cerca de 13 gêneros e 750 espécies (APG IV, 2016), que possuem um valor econômico agregado, uma vez que grande parte das espécies são importantes fornecedores de madeira ou pela comercialização de seus frutos carnosos comestíveis como o *Platonia insignis* Mart. (Bacurizeiro), *Garcinia mangostana* (mangostão) e o *Garcinia humilis* (achachairu) (Bittrich, V. & M.C.E. Amaral. 1997).

O achachairu, pertencente ao gênero *Garcinia*, é uma espécie frutífera originária do oeste da Bolívia, região reconhecida pela diversidade de espécies tropicais. Nessa área, a planta ocorre naturalmente e apresenta diferentes variedades, destacando-se o chamado “achachairu selecto” (*Garcinia humilis* L.), amplamente cultivado e com maior inserção comercial em relação às demais (Ardaya, 2004). Apesar de sua popularidade e importância no mercado interno, especialmente para consumo in natura, ainda são escassos os registros de produção em larga escala voltada à industrialização e exportação, o que evidencia seu caráter predominantemente regional (Lorenzi et al., 2006; Janick; Paull, 2008). O fruto possui benefícios nutricionais e antioxidantes, sugerindo o seu potencial futuro para exportação (Nunes et al 2019; IBCE, 2010).

No Brasil, o achachairu é encontrado em algumas regiões e apresenta boa adaptação às condições tropicais e subtropicais, além de tolerar diferentes tipos de solo. A espécie possui porte arbóreo robusto e potencial agrônomo para cultivo em diversas áreas do país. No entanto, apesar dessas características favoráveis, a cultura ainda é pouco explorada e relativamente desconhecida entre a população, sendo frequentemente confundida com outras frutíferas de morfologia semelhante (Barbosa et al., 2008). Apesar de sua importância agrícola e ecológica, as pesquisas sobre as doenças que afetam a cultura continuam limitadas, provavelmente devido à sua expansão comercial relativamente recente e à escassez de estudos científicos. Os relatos mais recentes incluem o *Rhizopus stolonifer*, identificado como um patógeno pós-colheita que afeta o fruto (Souza et al. 2024), bem como o *Colletotrichum siamense* e o *C. theobromicola*, que foram documentados como agentes causais de doenças que afetam tanto o fruto quanto as folhas do achachairu no Brasil (da Silva Anjos et al., 2025).

Até o momento, não há registros de infecções por espécies de *Lasiodiplodia* em achachairu. No entanto, esse gênero fúngico, pertencente à família *Botryosphaeriaceae*, é amplamente distribuído e inclui espécies que podem atuar como saprófitos, endófitos ou patógenos, estando associadas a uma ampla gama de hospedeiras (Slippers & Wingfield, 2007). Atualmente, são reconhecidas cerca de 80 espécies de *Lasiodiplodia* descritas, com aproximadamente 70 espécies delimitadas com base em características morfológicas e dados

moleculares (Ocampo-Padilla et al., 2026). Essas espécies possuem ocorrência global e maior prevalência em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (El-Ganainy et al., 2022; Jayawardena et al., 2019). Nesse contexto, há relatos de redução na produção de mangostão (*Garcinia mangostana*), no interior da Bahia, associada a espécies desse gênero (Paim et al., 2012). Considerando que ambas as espécies pertencem ao mesmo gênero botânico e que *Lasiodiplodia* apresenta ampla gama de hospedeiros, é possível que o achachairu também seja suscetível à infecção por esse patógeno.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo foi identificar espécies de *Lasiodiplodia* associadas a manchas foliares e podridão de frutos em *Garcinia humilis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do achachairu

Garcinia humilis, popularmente conhecida como achachairu, pertence à família *Clusiaceae*, composta por aproximadamente 13 gêneros e 750 espécies distribuídas principalmente em regiões neotropicais, ocorrendo na forma de árvores, arbustos e hemiepífitas (Farias, 2023; Mouzinho, 2022). O gênero *Garcinia* reúne cerca de 240 espécies arbóreas e arbustivas, caracterizadas por inflorescências axilares fasciculadas com flores de coloração esverdeada e frutos carnosos do tipo baga, geralmente comestíveis (Alencar, 2017). O achachairu teve seu primeiro relato de origem foi na Bolívia oriental, país, onde a espécie apresenta maior reconhecimento e valorização comercial. Recentemente, a espécie passou por uma reclassificação taxonômica, sendo transferida do gênero *Rheedia* para o gênero *Garcinia*, o que resultou na alteração de sua nomenclatura de *Rheedia laterifolia* para *Garcinia humilis* (Barbosa et al., 2008; Duarte, 2015). Na Bolívia, a produção do achachairu é predominantemente proveniente de árvores nativas dispersas em áreas naturais e de plantas cultivadas em quintais domésticos. Devido ao baixo nível de industrialização da cultura, os frutos são geralmente consumidos *in natura* pela população local ou utilizados na produção artesanal de doces, agregando valor ao produto. Além disso, a casca do fruto pode ser aproveitada para fins medicinais e na preparação de bebidas, como sucos elaborados com adição de água e açúcar (Duarte, 2015).

Embora ainda seja considerada uma frutífera exótica e pouco difundida no Brasil, *G. humilis* foi introduzida no país por volta do século XX. A espécie também é conhecida por diferentes denominações populares, entre elas shashairu, ibaguazu, chachicheruqui e tapacuari (Janick; Paull, 2008; Duarte, 2015). No Brasil, o cultivo e a ocorrência do achachairu já foram registrados nos estados de Santa Catarina, Pernambuco, São Paulo, Rondônia, Minas Gerais, Pará, Goiás e Mato Grosso (Cavalcante et al., 2006; Soprano et al., 2008; Pimentel, 2012; Melo et al., 2017; Virgolin et al., 2017; Tome et al., 2019). As condições edafoclimáticas brasileiras favorecem o desenvolvimento da cultura, uma vez que os solos férteis e temperaturas próximas de 30 °C são considerados adequados para a germinação e o crescimento da espécie (Barbosa et al., 2008).

Seu porte pode variar entre 10 e 15 metros, com folhas coriáceas, glabras brilhantes, apresentando comprimento de 10 a 18 cm (Ikeda 2022). Os frutos são globosos-oblongos com dimensões transversais e longitudinais de aproximadamente 35,8mm e 45,2mm com casca de coloração amarelo alaranjada, lisa e resistente, a polpa é esbranquiçada e succulenta com oxidação extremamente rápida (Melo et al., 2017). Seu gosto é doce-acidulado com pH em

torno de 4,1, possui três sementes, nas quais duas são subdesenvolvidas e impróprias para germinação (Barbosa et al., 2008; Ikeda 2022).

2.2 Importância econômica

O Brasil atualmente encontra-se na terceira posição dentre os maiores produtores globais no ramo da fruticultura, com uma produção anual de aproximadamente 41,7 milhões de toneladas, em 2024, detendo 4,5% da produção global. O país fica atrás apenas da China e da Índia, que apresentam produções de aproximadamente 260,2 e 111,6 milhões de toneladas, respectivamente, representando 27% e 12% da produção mundial. Apesar de ocupar elevada posição no quesito de produção, apenas 1% é destinada à exportação, sendo maior parte produzida com prioridade no mercado interno tendo uma movimentação líquida de R\$ 20 bilhões em 2022 (Banco do Nordeste 2024).

A produção frutícola brasileira é concentrada principalmente em frutas de ampla aceitação no mercado interno, com destaque para os citros, especialmente laranja e limão, que representam cerca de 48,2% da produção nacional. Em seguida, destacam-se a banana, com 16,7%, o abacaxi, com 6,7%, além do coco e da melancia, responsáveis por aproximadamente 6,5% e 5,2% da produção, respectivamente (Embrapa, 2019). Nos últimos anos, a busca por uma dieta mais saudável tem impulsionado o consumo de frutas, consideradas importantes fontes de vitaminas e nutrientes, além de apresentarem elevada acessibilidade econômica. Paralelamente, observa-se um crescimento no interesse por frutas exóticas no mercado brasileiro, incluindo espécies pertencentes à família *Clusiaceae*, como o bacuri-de-casca-espinhenta e o *Garcinia mangostana* (Melo, 2017). O interesse comercial pelo achachairu no mercado tem aumentado significativamente devido aos compostos bioativos presentes em sua composição química e ao potencial farmacológico associado à espécie. Entre os principais metabólitos identificados destaca-se a gutfirona A, encontrada principalmente nas sementes, à qual são atribuídas propriedades gastroprotetoras, antinociceptivas e antiproliferativas, contribuindo para a proteção da mucosa estomacal (Ikeda, 2022). Além desses benefícios, o fruto possui diversas formas de uso como cicatrizantes, laxantes e anti-inflamatórios devido às suas substâncias biflavanoides e benzofenonas, que possuem potencial anticancerígeno (Cury et al., 2016). Adicionalmente, o achachairu constitui uma importante fonte de vitamina C, reforçando seu valor nutricional e funcional (Cavalcante et al., 2006). Entre os fatores que limitam a produção de *Garcinia humilis*, destacam-se os danos ocasionados por pragas e microrganismos fitopatogênicos. Na cultura já foi registrada a ocorrência do fungo *Rhizopus*

stolonifer, agente causal da podridão mole em diversas frutas e hortaliças, responsável por importantes perdas pós-colheita. A infecção pode comprometer significativamente a qualidade dos frutos recém-colhidos, reduzindo sua vida útil e dificultando a expansão comercial da cultura (Souza et al. 2024). *Colletotrichum siamense* e *C. theobromicola*, também foram identificados como agentes causais de doenças que afetam tanto o fruto como as folhas do achachairu no Brasil (Anjos et al. 2025). Embora ainda não existam relatos de infecções causadas por espécies do gênero *Lasiodiplodia* em achachairuzeiro, a ampla gama de hospedeiros associada a esse patógeno indica que os frutos podem apresentar suscetibilidade à infecção (Paim et al., 2012). Nesse contexto, há relatos de redução na produção de mangostão (*Garcinia mangostana*), no interior da Bahia, associada a espécies desse gênero (Paim et al., 2012).

2.3 Gênero *Lasiodiplodia*

O gênero *Lasiodiplodia* pertence à família *Botryosphaeriaceae*, e a classe *Loculoascomycetes*. Agrupa espécies morfológicamente semelhantes, qualificadas como espécies crípticas, distintas apenas filogeneticamente, sendo encontradas em diversos hospedeiros e globalmente distribuídas. Atuam como patogênicas ou saprofíticas em plantas lenhosas, principalmente em troncos e galhos (Phillips et al., 2013; Sarr et al., 2014; Zlatkovic et al., 2016; Smahi, et al., 2017). Ocasionalmente, ocorrem em folhas de plantas herbáceas e até em líquens (Denman et al., 2000). Algumas são endofíticas, que emergem sob estresse nas plantas hospedeiras (Gonçalves, et al. 2015) e algumas espécies têm sido associadas a infecções humanas e isoladas de ambientes marinhos (MOHAN, et al., 2016; Zhang, W. et al., 2021).

Características morfológicas dos estágios assexuais dessa família, como forma, tamanho, cor, septação, espessura e textura da parede conidial, ornamentação, presença de microconídio e método de formação de conídios, são consideradas úteis para delimitação taxonômica (zhou; Stanosz, 2001; Slippers et al., 2007). No entanto, esses traços requerem interpretação cuidadosa, uma vez que alguns deles se sobrepõem entre as espécies (Phillips et al., 2019).

A delimitação dos gêneros anamórficos de *Botryosphaeriaceae* tem sido um processo gradual (Phillips et al., 2005; Phillips et al., 2013; Phillips et al., 2019). Essa situação ocorre em função da dificuldade em definir limites, particularmente entre espécies muito próximas dentro do mesmo gênero, devido à falta de variação morfológica distinta, à interdependência dos caracteres morfológicos e às influências ambientais na morfologia. A dificuldade em

diferenciar espécies muito semelhantes também é evidente dentro de *Botryosphaeriaceae* (Zhou; Stanosz, 2001; Netto, et al., 2017).

Morfologicamente, *Lasiodiplodia* apresenta ascos bitunicados, os quais surgem em um tecido estromático denominado pseudotécio (PHILLIPS et al., 2013; Smahi, et al., 2017; Phillips et al., 2019; Burgess, et al., 2019). Os conídios de *Lasiodiplodia*, em geral, são inicialmente hialinos e asseptados, tornando-se escuros, septados, mais largos e ovóides, com paredes estriadas quando maduros, exibindo formas ovóides (Zhou; Stanosz et al., 2001; (Burgess et al., 2006; Chen et al., 2014; Burgess, et al., 2019).

Esta abordagem tradicional de identificação com base em características morfológicas serve como base inicial para identificar *Lasiodiplodia* spp. Apesar de ter sua utilidade em certos contextos, essa abordagem tem mostrado limitações ao subestimar a real diversidade que somente é admitida por análises filogenéticas (Taylor et al. 2000; Netto, et al., 2017; Phillips et al., 2019).

2.3.1 Aspectos filogenéticos de *Lasiodiplodia*

A história taxonômica de *Botryosphaeriaceae* foi originalmente estabelecida por Theisen e Sydow (1918). Em um amplo estudo, Phillips e colaboradores em 2019, reexamina as famílias no grupo Botryosphaeriales, utilizando características morfológicas e análises filogenéticas com sequências ITS e D1/D2 do LSU (Liu, et al., 2016). Nesse estudo, foram reconhecidas seis famílias: *Aplosporellaceae*, *Botryosphaeriaceae*, *Melanopsaceae*, *Phyllostictaceae*, *Planistromellaceae* e *Saccharataceae*. Além disso, as famílias *Endomelanconiopsisaceae*, *Pseudofusicoccumaceae* e *Septorioideaceae* foram consideradas sinônimos de *Botryosphaeriaceae*, *Phyllostictaceae* e *Saccharataceae*, respectivamente.

Através de filogenia multi-locus, Phillips et al., (2013) caracterizaram 17 gêneros em *Botryosphaeriaceae*, com base em 17 linhagens. Descrevendo que embora a região ITS sozinha seja suficiente para separar as espécies dentro de seu gênero, a inclusão do gene *EF1- α* , resultou em uma separação mais robusta para *Diplodia*, *Lasiodiplodia* e *Neofusicoccum*, passando a ser recomendado ao menos estes dois *loci* para a separação de espécies. Essas informações possuem grande relevância taxonômica, uma vez que *Lasiodiplodia* é considerado um dos gêneros fitopatogênicos mais frequentemente relatados dentro da família *Botryosphaeriaceae* (Rêgo, 2018). Atualmente, o gênero reúne mais de 80 espécies descritas, embora sua taxonomia permaneça em constante revisão devido à frequente descrição de novos táxons e à reavaliação filogenética de espécies previamente estabelecidas (Ocampo-Padilla et al., 2026). Diferentes sequências estão disponíveis em bancos de dados moleculares, como o GenBank (Sayers et al.,

2023). A disponibilidade dessas informações moleculares possibilita a inclusão das espécies em análises filogenéticas, contribuindo para estudos de identificação, diversidade genética e relações evolutivas entre os isolados. Estudos recentes têm demonstrado a importância das análises multilocus na identificação e delimitação de espécies do gênero *Lasiodiplodia*. Utilizando sequências das regiões ITS, do fator de elongação (*tefl-α*) e da β-tubulina (*tub2*), Negi et al. (2023) identificaram espécies relacionadas a *Lasiodiplodia iraniensis*. Da mesma forma, Wang et al. (2023), por meio da análise dos loci ITS, *tefl-α*, *tub2* e *rpb2*, descreveram a nova espécie *Lasiodiplodia regiae* sp. nov., associada à ocorrência de cancro e morte de frutíferas na China.

No Peru, Rodríguez-Gálvez et al. (2020) empregaram, inicialmente, a técnica de MSP-PCR para caracterização molecular de isolados fúngicos e, posteriormente, análises de sequenciamento das regiões ITS do rDNA, *tefl-α* e *tub2*, confirmando, pela primeira vez, a presença de *Lasiodiplodia theobromae* e *L. laeliocattleyae* em plantas de mirtilo com sintomas de morte descendente e queima do caule. Resultados semelhantes também foram obtidos no Egito, onde análises multilocus associadas a estudos morfológicos e testes de patogenicidade permitiram o primeiro relato de *L. newvalleyensis* em *Phoenix dactylifera* e de *L. laeliocattleyae* em *Citrus reticulata*.

Em análises filogenéticas, marcadores moleculares são cruciais para avaliar a diversidade genética de fitopatógenos quando características morfológicas não são suficientes para distinguir isolados, a exemplo o caso de *Lasiodiplodia* (Alam, et al., 2023).

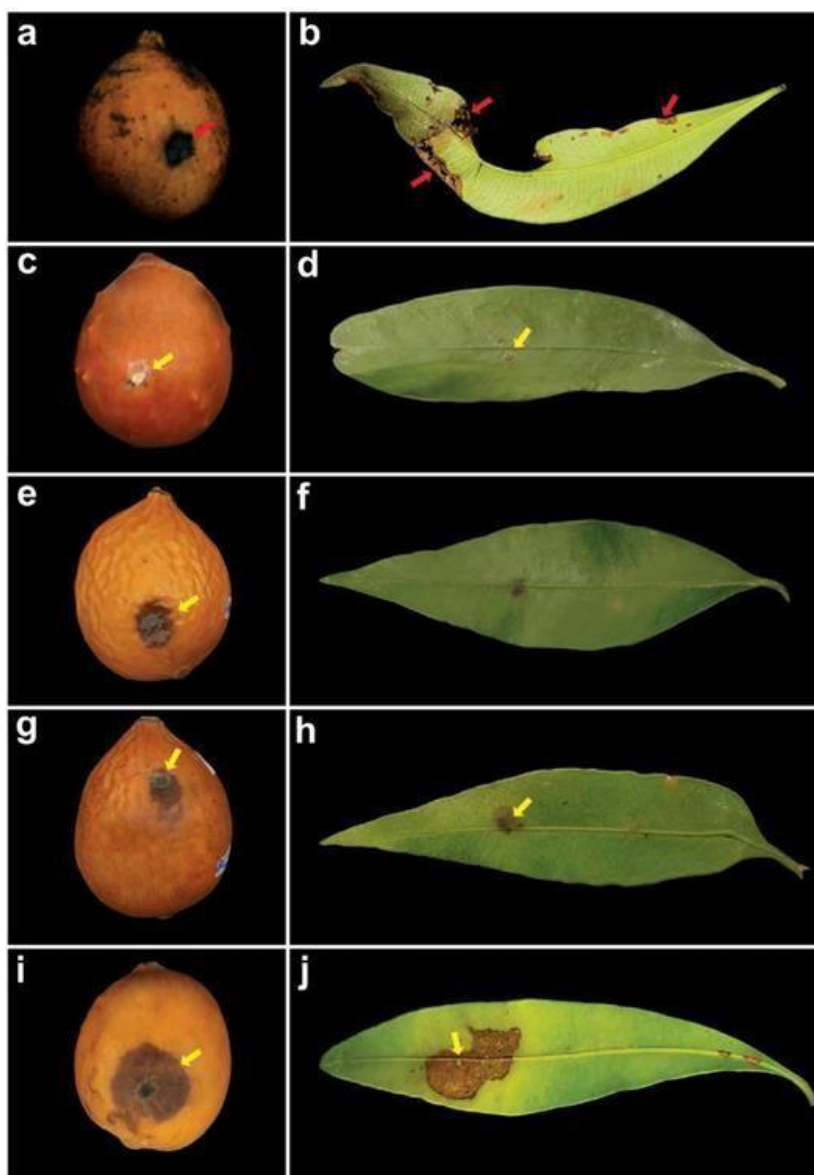
3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem e Isolamento

Os isolados fúngicos foram obtidos a partir de folhas sintomáticas que apresentavam manchas necróticas e de frutos com sintomas de podridão (Figura 1a, b) numa área de produção comercial em Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil. O material vegetal foi lavado em água corrente e seco com toalhas de papel esterilizadas. Foram excisados fragmentos da zona de transição entre os tecidos doentes e sadios utilizando lâminas de bisturi esterilizadas. As amostras foram, então, desinfestadas superficialmente por imersão sequencial em etanol a 70% durante 30 segundos, hipoclorito de sódio a 1% durante 1 minuto, seguida de duas lavagens em água destilada esterilizada durante 30 segundos cada. Os fragmentos foram secos em papel de filtro esterilizado, transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) e incubados a 25 °C, sob um fotoperíodo de 12 horas.

Após 3 dias, foram retirados discos miceliais das margens das colônias e transferidos para novas placas de Petri contendo de BDA, a fim de obter culturas puras. Ao observar estruturas características do gênero *Lasiodiplodia* (Phillips et al. 2013), os isolados foram, posteriormente, cultivados em ágar água para facilitar a purificação através do método da ponta da hifa. Todos os isolados foram depositados na Coleção de Fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas (COUFAL).

Figura 1. Sintomas observados nas folhas (incluindo manchas e lesões necróticas) e frutos (apresentando podridão) de *Garcinia humilis* no campo (a, b), juntamente com o teste de patogenicidade realizado em folhas e frutos isolados (c–j). Frutos e folhas assintomáticos (controlo negativo) (c, d). Sintomas induzidos pelos isolados COUFAL0637 (e, f), COUFAL0638 (g, h) e COUFAL0639 (i, j), respetivamente.



3.2 Caracterização morfológica e cultural

A morfologia das colônias, incluindo a cor e as características do micélio aéreo, foi avaliada após sete e 15 dias de crescimento em BDA a 25 °C no escuro (Rayner 1970). Para induzir a produção de picnídios, os isolados foram cultivados em BDA suplementado com acículas de pinheiro e incubados a 25 °C, no escuro durante 30 dias. A morfologia dos conídios foi examinada através da maceração de picnídios em uma gota de lactoglicerol em lâminas de

vidro. As estruturas fúngicas foram observadas e as dimensões de comprimento e largura de 50 conídios maduros e imaturos foram medidas utilizando um microscópio invertido (Olympus CKX41), equipado com uma câmera digital e o software cellSens Standard v.4.2 (CS-ST-V4.2).

3.3 Extração de DNA, PCR e sequenciamento

O DNA genômico foi extraído a partir do micélio aéreo de fungos com sete dias de idade, de acordo com o método de Doyle e Doyle (1987). As regiões do espaçador transcrito interno (ITS) e sequências parciais dos genes β -tubulina (*tub2*) e do fator de elongação da tradução 1- α (*tefl- α*) foram amplificadas utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR) para análise multilocus. Estas regiões são recomendadas para uma melhor identificação das espécies na família *Botryosphaeriaceae* (Phillips et al. 2013).

As reações de PCR foram realizadas num volume final de 30 μ L, contendo 3,0 μ L de tampão 10 $\times$ (100 mM de KCl, 100 mM de Tris-HCl pH 9,0 e 1% de Triton-X), 2,4 μ L de dNTPs a 2.5 mM, 0,9 de MgCl₂ a 50 mM, 0,2 μ L de Taq DNA polimerase, 2,0 μ L de cada oligonucleótido (10 μ M), 1,0 μ L de DNA total (50 ng), completando-se o volume com H₂O ultrapura. As condições de termociclagem foram as seguintes: desnaturação inicial a 95 °C por 2 min, e 35 ciclos a 94 °C por 30 s, anelamento a 52 °C–55 °C (52 °C para *tefl- α* ; 55 °C para *tub2* e ITS) por 30 s, extensão a 72 °C por 1 min, seguido de uma extensão final a 72 °C por 10 min. As regiões-alvo foram amplificadas com os pares de primers EF1-688F/EF1-1251R para *tefl- α* (Alves et al. 2008), ITS1-F/ITS4 para ITS (White et al. 1990) e Bt2a/Bt2b para *tub2* (Glass e Donaldson 1995). Os produtos amplificados foram purificados e sequenciados pela ACTGene Análises Moleculares (Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil). As sequências obtidas foram depositadas na base de dados de nucleotídeos GenBank.

3.4 Análises filogenéticas

As sequências de *tefl- α* , ITS e *tub2* foram montadas e editadas utilizando o software *CodonCode Aligner* v. 4.1.1 (www.codoncode.com) e analisadas com o algoritmo BLASTn e a base de dados de nucleotídeos não redundante do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), para identificar as sequências com as quais elas compartilharam maior identidade. As sequências foram obtidas do GenBank utilizando resultados do BLASTn e publicações relevantes (Tabela 1; Wu et al. 2021; Zhang et al. 2021).

Tabela 1. Taxas utilizados na análise filogenética e seus respectivos números de acesso no GenBank.

Species	Collection	Host	Country	GenBank Access Number		
				<i>ITS</i>	<i>tef1-α</i>	<i>tub2</i>
<i>Lasiodiplodia acacia</i>	CBS 136434 = CPC 20820*	<i>Acacia</i> sp.	Indonesia	MT587421	MT592133	MT592613
<i>L. brasiliense</i>	CMM 4015*	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	JX464063	JX464049	-
<i>L. brasiliense</i>	IBL415	<i>Vitis vinifera</i>	Brazil	KT151806	KT151800	KT151803
<i>L. brasiliense</i>	IBL348	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	KT151807	KT151801	KT151804
<i>L. brasiliense</i>	IBL344	-	Brazil	KT151808	KT15180	KT151805
<i>L. brasiliense</i>	CMM2321	<i>Carica papaya</i>	Brazil	KC484797	KC481528	-
<i>L. bruguiera</i>	CBS 139669 = CMW 41470*	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	South Africa	KP860832	KP860677	KP860755
<i>L. bruguiera</i>	CBS 139638 = CMW 41614	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>	South Africa	KP860833	KP860678	KP860756
<i>L. chiangraiensis</i>	MFLUCC 21-0003*	Unknown host	Thailand	MW760854	MW815630	MW815628
<i>L. chiangraiensis</i>	GZCC 21-0003	Unknown host	Thailand	MW760853	MW815629	MW815627
<i>L. gilanensis</i>	CBS 124704 = IRAN 1523C*	<i>Citrus</i> sp.	Iran	GU945351	GU945342	KU887511
<i>L. gilanensis</i>	CBS 124705 = IRAN 1501C	<i>Citrus</i> sp.	Iran	GU945352	GU945341	KU887510
<i>L. iraniensis</i>	CBS 124710 = IRAN 1520C*	<i>Salvadora persica</i>	Iran	GU945348	GU945336	KU887516
<i>L. iraniensis</i>	CMW 33252	<i>Adansonia</i> sp.	-	KU887065	KU886947	KU887422
<i>L. mahajangana</i>	CBS 124925 = CMW 27801*	<i>Terminalia catappa</i>	Madagascar	FJ900595	FJ900641	FJ900630
<i>L. mahajangana</i>	CBS 124926 = CMW 27818	<i>Terminalia catappa</i>	Madagascar	FJ900596	FJ900642	FJ900631
<i>L. pontae</i>	CMM 1277 = IBL 12*	<i>Spondias purpurea</i>	Brazil	KT151794	KT151791	KT151797
<i>L. pontae</i>	CBS 117454 = CMW 13487 = SM48	<i>Eucalyptus urophylla</i>	Venezuela	MT587432	MT592144	MT592626
<i>L. plurivora</i>	STE-U 5803*	<i>Prunus salicina</i>	South Africa	EF445362	EF445395	KP872421
<i>L. plurivora</i>	CBS 121103 = STE-U 4583 = CPC 4583	<i>Vitis vinifera</i>	South Africa	AY343482	EF445396	KU887525
<i>L. thailandica</i>	CBS 138760 = CPC 22795*	<i>Mangifera indica</i>	Thailand	KJ193637	KJ193681	-
<i>L. thailandica</i>	CBS 138653 = B 0041 = CPC 22755	<i>Phyllanthus acidus</i>	Thailand	KM006433	KM006464	-
<i>L. viticola</i>	CBS 128313 = UCD 2553AR*	<i>Vitis vinifera</i>	USA	HQ288227	HQ288269	HQ288306
<i>L. viticola</i>	CBS 128314 = UCD 2604MO	<i>Vitis vinifera</i>	USA	HQ288228	HQ288270	HQ288307
<i>L. theobromae</i>	CBS 111530 = CPC 2095 = JT 695	<i>Leucospermum</i> sp.	USA	EF622074	EF622054	KU887531
<i>L. theobromae</i>	CBS 164.96*	-	Papua	AY640255	AY640258	KU887532
<i>L. theobromae</i>	CMM3612	<i>Jatropha curcas</i>	Brazil	KF234546	KF226692	KF254929
<i>L. theobromae</i>	CMM3647	<i>Jatropha curcas</i>	Brazil	KF234548	KF22670	KF254932
<i>L. theobromae</i>	CMM3654	<i>Jatropha curcas</i>	Brazil	KF234555	KF226716	KF254939
<i>L. theobromae</i>	CMM3831	<i>Jatropha curcas</i>	Brazil	KF234556	KF226717	KF254940
<i>L. theobromae</i>	XMW28571	<i>Terminalia ivorensis</i>	Cameroon	GQ469924	GQ469897	KY472904
<i>L. theobromae</i>	IBL340	-	Brazil	KT247466	KT247472	KT247475

<i>L. theobromae</i>	IBL375	-	Brazil	KT247467	KT247473	KT247474
<i>L. theobromae</i>	IBL404	-	Brazil	KT247468	KT247470	KT247476
<i>L. theobromae</i>	IBL405	-	Brazil	KT247469	KT247471	KT247477
<i>L. theobromae</i>	COUFAL0637	<i>Garcinia humilis</i> , leaves	Vitória de Santo Antônio, Pernambuco, Brazil	PQ893662	PQ900152	PV007189
<i>L. theobromae</i>	COUFAL0638	<i>Garcinia humilis</i> , leaves	Vitória de Santo Antônio, Pernambuco, Brazil	PQ893663	PQ900153	PV007190
<i>L. theobromae</i>	COUFAL0639	<i>Garcinia humilis</i> , fruit	Vitória de Santo Antônio, Pernambuco, Brazil	PQ893664	PQ900154	PV007191
<i>Neodeightonia phoenicum</i> **	CBS 122528 = JL 574*	<i>Phoenix</i> sp.	Spain	EU673340	EU673309	EU673116

Note: ITS: complete rDNA-ITS region; TUB2: partial β -tubulin; TEF1- α : Translation elongation factor. The newly generated sequences in this study are shown in bold. *Ex-holotype or ex-epitype cultures; **Outgroup.

Cada *locus* foi alinhado utilizando o software MEGA v. 11.0.13 e ajustado manualmente quando necessário. As árvores inferência bayesiana foram construídas utilizando o método de cadeias de Markov-Monte Carlo na web portal CIPRES (Miller et al. 2010). Esta análise envolveu as sequências de cada locus, tanto separadamente como em conjunto. O software utilizado para esta análise foi o Mr. Bayes v. 3.2.3 (Ronquist et al. 2012). Os melhores modelos de substituição de nucleotídeos para os dados de cada região genômica foram determinados utilizando o MrModeltest 2.3 (Posada e Buckley 2004), com base no Critério de Informação de Akaike (AIC), implementado no PAUP v.4.0b10. A análise foi realizada ao longo de 10 milhões de gerações com quatro cadeias, com amostragem a cada 1.000 gerações, num total de 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores foram descartadas de cada execução durante a fase de *burn-in*, e as probabilidades subsequentes (Rannala e Yang 1996) foram determinadas a partir de uma árvore de consenso por regra da maioria gerada com as 7.500 árvores restantes. As árvores foram visualizadas e editadas utilizando o FigTree v.1.4 (ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) e o Adobe Illustrator v.25.4.1.

3.5 Testes de patogenicidade

Os testes de patogenicidade foram realizados em folhas e frutos destacados de achachairu. O material vegetal foi lavado com detergente e água corrente, imerso numa solução de NaOCl a 1% durante 3 minutos e, posteriormente, enxaguado com água destilada esterilizada. Após a secagem, foram feitos ferimentos na região central de cada amostra utilizando agulhas esterilizadas. Discos miceliais (5 mm de diâmetro), obtidos de culturas com sete dias de idade, foram colocados na superfície dos ferimentos. O tratamento controle consistiu em folhas e frutos inoculados com discos de BDA sem crescimento fúngico. Após a

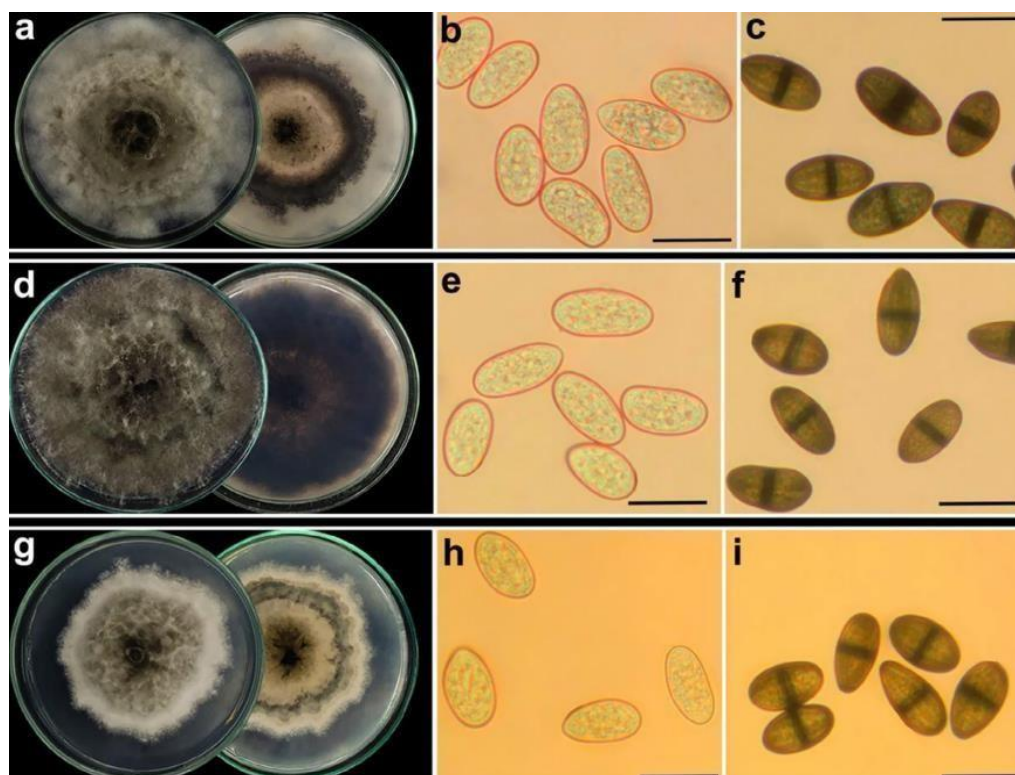
inoculação, o material vegetal foi colocado em bandejas de plástico forradas com papel toalha umedecido em ADE, cobertos com sacos plásticos para manter a umidade relativa elevada durante 48 horas. O experimento foi conduzido com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por uma folha ou um fruto. A progressão da doença foi avaliada a cada 24 horas durante sete dias. Para cumprir os postulados de Koch, os agentes patogênicos fúngicos foram reisolados a partir dos tecidos sintomáticos e comparados com os isolados originais para confirmar a sua identidade.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização morfológica e cultural

Foram obtidos dois isolados de folhas de achachairu que apresentavam manchas necróticas (COUFAL0637 e COUFAL0638) e um isolado de fruto que apresentava sintomas de podridão (COUFAL0639). Em BDA, as colônias apresentaram-se, inicialmente, branco-acinzentadas com micélio aéreo denso, passando gradualmente de acinzentada para verde-oliva. O verso das colônias também passou de branco-acinzentado para verde-oliva ou preto (Figura 2a, d, g). Os conídios apresentaram forma elipsoidal a ovoide, com um ápice arredondado e uma base truncada. Os conídios imaturos eram hialinos, unicelulares e continham inclusões granulares com paredes lisas (Figura 2b, e, h). Por outro lado, os conídios maduros eram castanho-escuros, apresentando um septo mediano e estrias longitudinais (Figura 2c, f, i). As dimensões dos conídios variaram entre $25,5$ e $33,8 \times 14,3$ e $20,9 \mu\text{m}$ (comprimento $\times$ largura), com uma média de $29,6 \pm 2,0 \times 18,9 \pm 1,2 \mu\text{m}$ ($n = 50$).

Figura 2. Marcadores morfológicos de estirpes de *Lasiodiplodia theobromae* isoladas neste estudo. Isolados COUFAL0637 (a–c), COUFAL063 (e, f) e COUFAL0639 (g–i). Características das colônias (a, d, g), conídios imaturos e hialinos (b, e, h) e conídios maduros com estrias longitudinais (c, f, i). Barra de escala: $20 \mu\text{m}$.

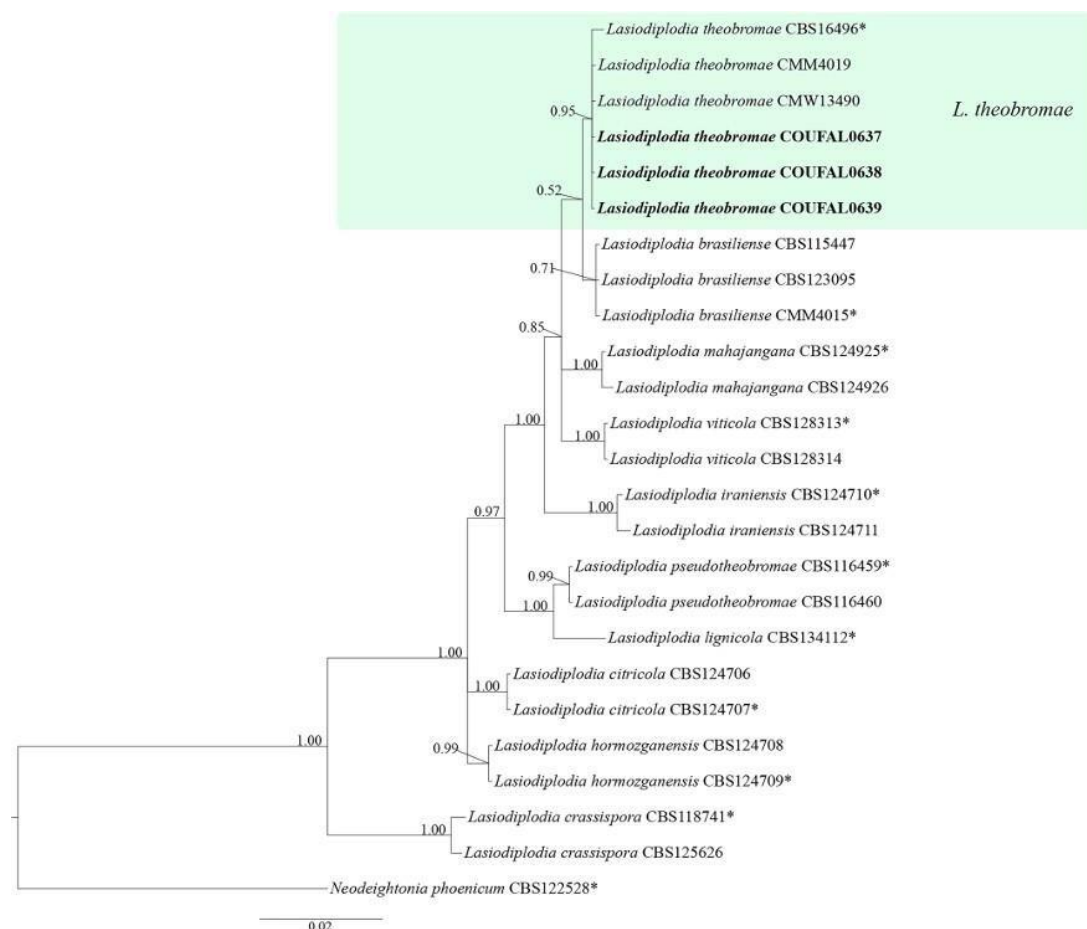


4.2 Análise filogenética

Pesquisas no BLASTn para os isolados COUFAL0637, COUFAL0638 e COUFAL0639 revelaram que as sequências de *TEF1-α* apresentavam elevada similaridade com isolados de *Lasiodiplodia theobromae* e *L. pseudotheobromae*, com identidade nucleotídica variando entre 99,4% e 100%. Da mesma forma, as sequências de *TUB2* mostraram elevada similaridade com *L. theobromae* e *L. pseudotheobromae*, com identidade nucleotídica entre 99,8% e 100%. As sequências de ITS corresponderam estreitamente com as de *L. theobromae*, *L. brasiliense*, *L. pseudotheobromae*, *L. hormozganensis*, *L. laeliocattleyae* e *L. parva*, com identidade nucleotídica variando de 99,8% a 100%.

A análise filogenética de inferência bayesiana, baseada em sequências concatenadas de *tef1-α*, *tub2* e ITS, confirmou que os isolados obtidos neste estudo pertencem ao mesmo grupo taxonômico. Os isolados COUFAL0637, COUFAL0638 e COUFAL0639 formaram um clado bem suportado, com valor de probabilidade *a posteriori* de 0,95 (Figura 3). Os comprimentos das sequências dos isolados de *L. theobromae* foram determinados da seguinte forma: 570 bases para o ITS, 563 para o *tef1-α* e 459 para o *tub2*. O alinhamento final consistiu em 1.592 caracteres, incluindo 94 sítios informativos para a parsimonia, 1.407 sítios conservados e 183 sítios variáveis. Os limites dos loci no alinhamento foram 1–570 para o ITS, 571–1133 para o *tef1-α* e 1134–1592 para o *tub2*. Para a análise filogenética por inferência bayesiana, foram selecionados os modelos de substituição de nucleotídeos mais adequados com base no Critério de Informação de Akaike (AIC): SYM+I para o ITS, HKY+G para o *tef1-α* e GTR+I para o *tub2*.

Figura 3. Árvore filogenética bayesiana de isolados de *Lasiodiplodia* spp. em *G. humilis*. A árvore foi inferida utilizando sequências concatenadas da região ITS e dos genes *tef-1a* e *tub2*. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados a negrito. *Neodeighntonia phoenicum* foi usada como outgroup. Os suportes significativos (PP $\geq 0,95$) são apresentados acima dos ramos.



4.3 Testes de patogenicidade

Todos os isolados de *Lasiodiplodia* foram patogênicos tanto a folhas destacadas como frutos de achachairu, exibindo níveis variáveis de agressividade (Figura 1e-j). Os diâmetros das lesões nas folhas e nos frutos foram de 9,5 e 13,5 mm para o isolado COUFAL0637, 12,0 e 19,5 mm para o isolado COUFAL0638 e 25,4 e 27,5 mm para o isolado COUFAL0639. Entre eles, o COUFAL0639 causou as maiores lesões e, por isso, identificado como o isolado mais agressivo (Figura 1i, j). As lesões necróticas começaram a se desenvolver na superfície das folhas e dos frutos dois dias após a inoculação, expandindo-se progressivamente até ao sétimo dia. Nenhum sintoma foi observado nos tratamentos controle (Figura 1c, d). Os fungos foram reisolados com sucesso, a partir de tecidos doentes, e os isolados recuperados apresentaram

características morfológicas idênticas às das culturas originais, cumprindo, assim, os postulados de Koch.

5. DISCUSSÃO

O achachairu (*Garcinia humilis*) é uma espécie frutífera nativa da Bolívia e cultivada em regiões tropicais e subtropicais do mundo. Embora não seja amplamente conhecida, esta fruta tem sido extensivamente estudada por suas propriedades farmacológicas e nutricionais, incluindo atividade antioxidante (Tome et al. 2019; Almeida et al. 2021), efeitos anti-inflamatórios (Nunes et al. 2021), potencial diurético (Mariano et al. 2022) e aplicações em suplementos alimentares (Barros et al. 2020; Gomes et al. 2025). Apesar do seu crescente potencial de mercado, a ocorrência de doenças de pré e pós-colheita representa um risco significativo para a sua viabilidade comercial.

Neste estudo, uma combinação de análises morfológicas e filogenéticas identificou *Lasiodiplodia theobromae* como o agente causal de manchas foliares e podridão dos frutos em achachairu. *L. theobromae* (sin. *Botryodiplodia theobromae*) é um fitopatógeno cosmopolita encontrado predominantemente em regiões tropicais e subtropicais (Punithalingam 1980). Esta espécie faz parte de diversas comunidades endofíticas e é reconhecida como um patógeno oportunista generalista responsável por diferentes doenças vegetais, incluindo o cancro (Aguilera-Cogley et al. 2022; Sharma et al. 2023), morte descendente (Rusin et al. 2020; Huda-Shakirah et al. 2022), gomose (Guajardo et al. 2018; Endes et al. 2016) e podridão das raízes, do colo e dos frutos (Latha et al. 2009; Gnanesh et al. 2022; Adikaram et al. 2020). Está também associado a manchas foliares (Khoo et al. 2022), bem como a queima nos ramos e nas folhas (Qiu et al. 2020; Sumaya et al. 2024). No Brasil, *L. theobromae* é um dos fitopatógenos mais amplamente distribuídos, afetando uma ampla gama de hospedeiros, particularmente árvores frutíferas tropicais (Cardoso et al. 2002; Pereira et al. 2006; Marques et al. 2013; Coelho et al. 2022; Rusin et al. 2020; de Souza et al. 2024).

Este estudo relata duas novas doenças que afetam o achachairu, causadas por *L. theobromae*. Os isolados obtidos demonstraram potencial patogênico, causando sintomas semelhantes aos observados no campo, incluindo escurecimento e amolecimento dos frutos, e manchas necróticas nas folhas.

Adicionalmente, a ocorrência de *Lasiodiplodia theobromae* em achachairu reforça o caráter oportunista e a amplia a gama de hospedeiros desse patógeno, frequentemente associado a condições de estresse vegetal, como déficit hídrico, altas temperaturas e danos mecânicos.

Esses fatores, comuns em regiões tropicais e subtropicais, podem favorecer a infecção e intensificar a severidade da doença, especialmente em sistemas de produção comercial (Asman et al., 2024; Rao et al., 2025; Paolinelli-Alfonso et al., 2016). Nesse contexto, práticas de manejo que reduzam o estresse das plantas e minimizem ferimentos, aliadas ao monitoramento fitossanitário e à adoção de medidas preventivas, tornam-se essenciais para limitar a disseminação do patógeno e os impactos na produtividade e qualidade dos frutos.

6. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo permitiram identificar *Lasiodyplodia theobromae* como o agente etiológico das manchas foliares e da podridão de frutos em *Garcinia humilis*. A identificação foi obtida por características morfológicas e análises moleculares multilocus. Dessa forma, os resultados, aqui, obtidos contribuem para uma melhor compreensão do patossistema *Lasiodyplodia*-achachairu e fornecem subsídios para o desenvolvimento de estratégias de manejo fitossanitário.

REFERÊNCIAS

ADIKARAM, N.; MANAWADU, L.; JAYASINGHE, L.; YAKANDAWALA, D. First report of *Lasiodiplodia theobromae* rot in ripe jack fruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) in Sri Lanka. *Indian Phytopathology*, v. 73, p. 583–585, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42360-020-00243-w>.

AGUILERA-COGLEY, V.; ATENCIO, R.; JAÉN, M. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing branch canker and dieback of cashew in Panama. *New Disease Reports*, v. 45, n. 1, e12063, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/ndr2.12063>.

ALAM, S. H.; CHAKRABORTY, S.; HOOI, A.; SAMANTA, M.; MAHAPATRA, S. Morpho-molecular identification of *Lasiodiplodia theobromae* causing leaf blight of orchid in India. *National Academy Science Letters*, p. 1-3, 2023. DOI: 10.1007/s40009-023-01278-z.

ALENCAR, A. C.; MARINHO, L. C. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Clusiaceae. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 68, n. 3, p. 935–944, 2017. DOI: 10.1590/2175-7860201768327.

ALMEIDA, R. L. J. et al. Evaluation of thermodynamic properties and antioxidant activities of achachairu (*Garcinia humilis*) peels under drying process. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 36, n. 2, p. 213–222, 2021.

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

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical journal of the Linnean Society*, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.

ARDAYA, D. B. El cultivo de achachairu. Santa Cruz: Centro de Investigación Agrícola Tropical, 2004.

ASMAN; IWANAMI, T.; ROSMANA, A. Effect of drought stress on dieback disease development under *Lasiodiplodia theobromae* infection in cocoa clone MCC 02. *Beverage Plant Research*, v. 4, n. 1, 2024.

BARBOSA, W.; CHAGAS, E. A.; MARTINS, L.; PIO, R.; TUCCI, M. L. S.; ARTIOLI, F. A. *Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de achachairu*, 2008.

BARROS, S. L. et al. Physical-chemical evaluation and texture profile of yoghurts supplemented with achachairu pulp (*Garcinia humilis*). *Journal of Agricultural Studies*, v. 8, n. 1, p. 101–110, 2020.

BITTRICH, V.; AMARAL, M. C. E. Flower biology of some *Clusia* species from Central Amazonia. *Kew Bulletin*, v. 52, p. 617-635, 1997.

BURGESS, T. I. et al. Three new *Lasiodiplodia* spp. from the tropics, recognized based on DNA sequence comparisons and morphology. *Mycologia*, v. 98, p. 423–435, 2006.. DOI: 10.3852/mycologia.98.3.423.

BURGESS, T. I. et al. Current status of the Botryosphaeriaceae in Australia. *Australasian Plant Pathology*, v. 48, p. 35-44, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0577-5>.

CADERNO setorial ETENE: fruticultura. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste (ETENE), ano 9, n. 337, maio 2024

CARDOSO, J. E. et al. First report of black branch dieback of cashew caused by *Lasiodiplodia theobromae* in Brazil. *Plant Disease*, v. 86, n. 5, p. 558, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.5.558B>.

CHEN, S. et al. Phylogeny, morphology, distribution, and pathogenicity of Botryosphaeriaceae and Diaporthaceae from English walnut in California. *Plant Disease*, v. 98, n. 5, p. 636-652, 2014. DOI: 10.1094/PDIS-07-13-0706-RE.

COELHO, I. L. et al. *Lasiodiplodia* species diversity associated with coconut leaf blight and stem-end rot in Northeastern Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, v. 162, n. 1, p. 45–61, 2022.

CURY, G. C.; GISBERT, M. C. A.; PORCEL, W. J. R. Um estudo da fruta comestível de *Garcinia gardenieriana*. *Revista Boliviana de Química*, v. 33, n. 5, p. 158-163, 2016.

CAVALCANTE, I. H. L.; JESUS, N.; MARTINS, A. B. G. Physical and chemical characterization of yellow mangosteen fruits. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 28, p. 325-327, 2006. DOI: 10.1590/S0100-29452006000200039.

DA SILVA ANJOS, C. V. et al. First report of *Colletotrichum siamense* and *Colletotrichum theobromicola* causing anthracnose on achachairu (*Garcinia humilis*). *Australasian Plant Pathology*, 2025.

DENMAN, S. et al. An overview of the taxonomic history of *Botryosphaeria* and a re-evaluation of its anamorphs based on morphology and ITS rDNA phylogeny. *Studies in Mycology*, v. 45, p. 129–140, 2000.

DE SOUZA, J. F. F. et al. *Lasiodiplodia theobromae* and *Lasiodiplodia brasiliense* causing dieback and rot fruit of jackfruit tree in Brazil. *Crop Protection*, v. 184, p. 106763, 2024.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, v. 19, p. 11–15, 1987.

DUARTE, O. *Exotic fruits and nuts of the New World*. Wallingford: CABI, 2015.

E. C. A. PAIM et al. Etiologia do declínio de mangostanzeiros no sul da Bahia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 34, n. 4, p. 1074-1083, 2012.

EL-GANAINY, Sherif Mohamed et al. Diversity among *Lasiodiplodia* Species Causing Dieback, Root Rot and Leaf Spot on Fruit Trees in Egypt, and a Description of *Lasiodiplodia newvalleyensis* sp. nov. *Journal of Fungi*, v. 8, n. 11, p. 1203, 2022.

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 Disease*, v. 100, n. 11, p. 2321, 2016. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-16-0036-PDN>.

FARIAS, D. C. et al. Flora of Ceará, Brazil: Clusiaceae. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 74, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202374052>.

FRUTICULTURA tropical: potenciais riscos e seus impactos. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2019

GLASS, N. L.; DONALDSON, G. C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 4, p. 1323–1330, 1995. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995>.

GNANESH, B. N. et al. Characterization and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* causing black root rot and identification of novel sources of resistance in mulberry collections. *Plant Pathology Journal*, v. 38, n. 4, p. 272–286, 2022.

GOMES, S. M. et al. Evaluation of the potential of achachairu peel (*Garcinia humilis*) for the fortification of cereal-based foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 105, n. 1, p. 201–208, 2025.

GONÇALVES, F. J. T. et al. Patogenicidade de espécies de Botryosphaeriaceae endofíticas de plantas da Caatinga do estado do Ceará em manga e umbu-cajá. *Summa Phytopathologica*, v. 42, p. 43-52, 2016.

GUAJARDO, J. et al. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing bot gummosis in *Citrus limon* in Chile. *Plant Disease*, v. 102, n. 4, p. 818, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1517-PDN>.

HUDA-SHAKIRAH, A. R. et al. Lasiodiplodia theobromae as a causal pathogen of leaf blight, stem canker, and pod rot of Theobroma cacao in Malaysia. Scientific Reports, v. 12, n. 1, p. 8966, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13057-9>.

INSTITUTO BOLIVIANO DE COMÉRCIO EXTERIOR – IBCE. Perfil de mercado: Copoazú y Achachairú. 2010. Disponível em: <http://www.ibce.org.bo>. Acesso em: 16 dez. 2021.

IKEDA, M. et al. Bibliometric review of achachairu (Garcinia humilis): a promising agent for health and future food applications. Brazilian Journal of Food Technology, v. 25, e2022060, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.06022>.

JANICK, J.; PAULL, R. E. Rheedia laterifolia – Achachairú. In: JANICK, J.; PAULL, R. The encyclopedia of Fruit & Nuts. 3. ed. London: CAB International, 2008. p. 272-273..

JAYAWARDENA, Ruvishika S. et al. One stop shop III: taxonomic update with molecular phylogeny for important phytopathogenic genera: 51–75 (2019). Fungal Diversity, v. 98, n. 1, p. 77-160, 2019.

KHOO, Y. W. et al. First report of Lasiodiplodia theobromae causing leaf spot on Aloe vera var. chinensis in Malaysia. Plant Disease, v. 106, n. 8, p. 2258, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-21-2646-PDN>.

LATHA, P. et al. First report of Lasiodiplodia theobromae causing root rot and collar rot disease of physic nut (Jatropha curcas L.) in India. Australasian Plant Disease Notes, v. 4, n. 1, p. 19–20, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1071/dn09008>.

LORENZI, H. et al. Frutas brasileiras e exóticas cultivadas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LIU, N. G. et al. Perspectives into the value of genera, families and orders in classification. Mycosphere, v. 7, n. 11, p. 1649-1668, 2016. DOI: 10.5943/mycosphere/7/11/3.

MARIANO, L. N. B. et al. Diuretic and antiurolithic effect of Garcinia humilis leaves. Chemistry & Biodiversity, v. 19, n. 10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200022>.

MARQUES, M. W. et al. Species of *Lasiodiplodia* associated with mango in Brazil. *Fungal Diversity*, v. 61, p. 181–193, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0231-z>.

MELO, M. S. et al. Análise físico-química de frutos de achachairu coletados em diferentes partes da planta. *Revista de Agricultura Neotropical*, v. 4, suplemento 1, p. 17-21, 2017.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. IEEE, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>.

MOHAN, M. et al. *Lasiodiplodia* species fungal osteomyelitis in a multiple myeloma patient. *Transplant Infectious Disease*, v. 18, n. 5, p. 761-764, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/tid.12573>

MOUZINHO, T. M. et al. Nomenclatural and taxonomic novelties in *Garcinia* from Amazonian forest. *Phytotaxa*, v. 548, p. 91-98, 2022.

MOUZINHO, T. M. et al. *Garcinia apostoloi* (Clusiaceae): filling the gaps in the Brazilian Amazon. *Brittonia* 75:62-68, 2023.

NETTO, M. S. B. et al. Analysis of phylogeny, distribution, and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with gummosis of *Anacardium* in Brazil, with a new species of *Lasiodiplodia*. *Fungal Biology*, v. 121, n. 4, p. 437-451, 2017. DOI: 10.1016/j.funbio.2016.07.006.

NEGI, N.; RAMKRISHNA; MEENA, R.; PANDEY, A. First report of *Lasiodiplodia iraniensis* causing leaf spot disease of *Eucalyptus* in India. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2023. DOI: 101016/j.pmpp.2023.102113.2023.

NUNES, R.; BROERING, M. F.; DE FAVERI, R. et al. Effect of the metanolic extract from the leaves of *Garcinia humilis* Vahl (Clusiaceae) on acute inflammation. *Inflammopharmacology*, v. 29, n. 2, p. 423–438, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10787-019-00645-x>.

NUNES, R. et al. Effect of the metanolic extract from the leaves of *Garcinia humilis* on acute inflammation. *Inflammopharmacology*, v. 29, p. 423–438, 2021.

OCAMPO-PADILLA, C. et al. Genome-scale phylogenetic evidence supports the synonymy of *Lasiodiplodia brasiliensis* with *Lasiodiplodia theobromae*. *Journal of Fungi*, v. 12, n. 4, p. 270, 2026.

PAOLINELLI-ALFONSO, M. et al. Global transcriptional analysis suggests *Lasiodiplodia theobromae* pathogenicity factors involved in modulation of grapevine defensive response. *BMC Genomics*, v. 17, n. 1, p. 615, 2016.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 31, p. 572–578, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000600006>.

PIMENTEL, M. R. F. Caracterização qualitativa de frutos de achachairu cultivados em Moreno-PE. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

PHILLIPS, A. J. L. et al. Plant pathogenic and endophytic *Botryosphaeriales* known from culture. *Studies in Mycology*, v. 76, p. 167, 2005.

PHILLIPS, A. J. L. et al. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. *Studies in Mycology*, v. 76, n. 1, p. 51–167, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3114/sim0021>.

PHILLIPS, A. J. L. et al. Families in *Botryosphaeriales*: a phylogenetic, morphological and evolutionary perspective. *Fungal Diversity*, v. 94, n. 1, p. 1-22, 2018. DOI: 10.1007/s13225-018-0416-6.

POSADA, D.; BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics. *Systematic Biology*, v. 53, n. 5, p. 793–808, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1080/10635150490522304>.

PUNITHALINGAM, E. Plant diseases attributed to *Botryodiplodia theobromae*. Patrick J. Cramer, 1980.

QIU, F. et al. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing branch blight on avocado in China. *Plant Disease*, v. 104, n. 10, p. 2728, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-20-0451-PDN>.

RAO, V. G. et al. *Lasiodiplodia theobromae*: a facultative pathogen of coconut. *Plant Archives*, v. 25, n. 2, 2025.

RAYNER, R. W. A mycological colour chart. Commonwealth Mycological Institute and British Mycological Society, 1970.

RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees. *Journal of Molecular Evolution*, v. 43, p. 304–311, 1996. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02338839>.

RÊGO, T. J. S. Espécies de *Lasiodiplodia* associadas à morte descendente da videira no Nordeste do Brasil e diversidade genética de *Lasiodiplodia theobromae*. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2018

RODRÍGUEZ-GÁLVEZ, E. et al. Diversity and pathogenicity of *Lasiodiplodia* and *Neopestalotiopsis* species associated with stem blight and dieback of blueberry plants in Peru. *European Journal of Plant Pathology*, v. 157, n. 1, p. 89-102, 2020. DOI: 10.1007/s10658-020-01983-1.

RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, v. 61, p. 539–542, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>.

RUSIN, C. et al. Control of the fungi *Lasiodiplodia theobromae* in cv. Syrah grapevines. *Acta Scientiarum Agronomy*, v. 43, n. 1, e44785, 2020. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.44785>.

SARR, M. P. et al. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. *Phytopathologia Mediterranea*, v. 53, p. 250–268, 2014. DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-13736.

SAYERS, E. W. et al. Database resources of the National Center for Biotechnology Information in 2023. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. D1, p. D29-D38, 2023. DOI: 10.1093/nar/gkaa892.

SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J. Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and impact. *Fungal Biology Reviews*, v. 21, p. 90-106, 2007. DOI: 10.1016/j.fbr.2007.06.002.

SMAHI, H. et al. Molecular characterization and pathogenicity of *Diplodia corticola* and other Botryosphaeriaceae species associated with canker and dieback of *Quercus suber* in Algeria. *Mycosphere*, v. 8, n. 2, p. 1261-1272, 2017. DOI: 10.5943/mycosphere/8/2/10.

SOPRANO, E.; KOLLER, O. L. Avaliação de frutos de espécies frutíferas tropicais com potencial para cultivo em Santa Catarina. Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2008.

SOUZA, A. E. A. et al. New reports of *Rhizopus* and *Mucor* causing post-harvest rot in tropical fruits in Brazil. *Journal of Plant Diseases and Protection*, v. 132, n. 1, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41348-024-01035-4>.

SUMAYA, N. P. D. N. et al. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing leaf blight on *Coffea canephora* in The Philippines. *New Disease Reports*, v. 49, n. 2, e12284, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/ndr2.12284>.

TOME, A. C. et al. Achachairú (*Garcinia humilis*): chemical characterization, antioxidant activity and mineral profile. *Journal of Food Measurement and Characterization*, v. 13, p. 213–221, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9934-x>.

VIRGOLIN, L. B.; SEIXAS, F. R. F.; JANZANTTI, N. S. Composition, content of bioactive compounds, and antioxidant activity of fruit pulps from the Brazilian Amazon biome. *Pesquisa*

Agropecuária Brasileira, v. 52, n. 10, p. 933-941, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2017001000013>.

WANG, Y. et al. *Lasiodiplodia regiae* sp. nov.: a new species causing canker and dieback of fruit trees in China. *Phytopathology*, 2023. DOI: 10.1094/PHYTO-06-22-0231-R.

WHITE, T. J. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, v. 18, n. 1, p. 315–322, 1990.

WU, N. et al. Morpho-phylogenetic evidence reveals *Lasiodiplodia chiangraiensis* associated with woody hosts in Northern Thailand. *Phytotaxa*, v. 508, n. 2, p. 142–154, 2021. DOI: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.508.2.3>.

ZHANG, W. et al. Evaluating species in Botryosphaerales. *Persoonia Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, v. 46, n. 1, p. 63-115, 2021. DOI: 10.3767/persoonia.2021.46.03.

ZLATKOVIC, M. et al. Botryosphaeriaceae associated with the die-back of ornamental trees in the Western Balkans. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 109, n. 4, p. 543-564, 2016. DOI: 10.1007/s10482-016-0659-8.

ZHOU, S.; STANOSZ, G. R. Relationships among Botryosphaeria species and associated anamorphic fungi inferred from the analysis of ITS and 5.8S rDNA sequences. *Mycologia*, v. 93, p. 516–527, 2001. DOI: <https://doi.org/10.2307/3761737>.

