



RUAN SOBREIRA DE QUEIROZ

EFICIÊNCIA DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE
Ceratocystis manginecans **EM MUDAS DE CULTIVARES DE**
CAFÉ ARÁBICA

LAVRAS - MG
2025

RUAN SOBREIRA DE QUEIROZ

**EFICIÊNCIA DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Ceratocystis manginecans* EM
MUDAS DE CULTIVARES DE CAFÉ ARÁBICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza
Orientador

**LAVRAS - MG
2025**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo(a) autor(a) através do Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA.

Sobreira de Queiroz , Ruan.

Eficiência de métodos de inoculação de *Ceratocystis manginecans* em mudas de cultivares de café arábica / Ruan Sobreira de Queiroz . 2024.

45 p. : il.

Orientador: Edson Ampélio Pozza

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2024.
Bibliografia.

1. *Coffea arabica*. 2. Coloração do xilema. 3. Murcha. 4. Severidade. 5. Sintomatologia. I. Ampélio Pozza, Edson . II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

RUAN SOBREIRA DE QUEIROZ

**EFICIÊNCIA DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Ceratocystis manginecans* EM
MUDAS DE CULTIVARES DE CAFÉ ARÁBICA**

**EFFICIENCY OF INOCULATION METHODS OF *Ceratocystis manginecans* IN
SEEDLINGS OF ARABICA COFFEE CULTIVARS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área
de concentração em Fitopatologia, para a obtenção
do título de Mestre.

APROVADA em 02 de julho de 2024.
Dr. Edson Ampélio Pozza UFLA
Dr. Paulo Estevão de Souza UFLA
Dra. Júlia Marques Oliveira INCT Café

Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza
Orientador

**LAVRAS - MG
2025**

*Aos meus pais, avós, irmãos e amigos que
sempre acreditaram e me apoiaram a
alcançar os meus objetivos.
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

À Deus por me proporcionar a vida e a perseverança de enfrentar novos desafios todos os dias.

Aos meus pais, Francisco Pinto de Queiroz e Karina Pereira Sobreira por sempre acreditarem nos meus sonhos e por toda a força e segurança passada nessa etapa da minha vida.

Aos meus irmãos, Rogevan Sobreira de Queiroz e Kamila Sobreira de Queiroz, por todo o carinho e motivação ao longo desses anos de estudos, amo vocês.

Aos meus avôs, Manoel Nunes Sobreira e Leôncio Ribeiro de Matos, por toda a inspiração e motivação durante minha vida, meu muito obrigado.

Às minhas avós, Maria Amélia Pinto Gomes e Maria Nunes Sobreira, por toda ajuda e motivação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, sediado no Departamento de Fitopatologia (DFP), da Universidade Federal de Lavras, em virtude da oportunidade da realização deste curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), em virtude da concessão de bolsa de estudos durante o curso de mestrado.

À Fundação de Apoio à Pesquisa e Desenvolvimento do Oeste Baiano (Fundação Bahia), por todo amparo à esta pesquisa.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME), da Universidade Federal de Lavras, devido à utilização dos equipamentos e suporte técnico durante a execução dos experimentos.

À Clínica Fitossanitária, do Departamento de Fitopatologia, da Universidade Federal de Lavras, devido à utilização dos equipamentos e suporte técnico durante a execução dos experimentos.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Café (INCT - Café), devido a disponibilização de equipamentos e do suporte técnico prestado para a condução deste estudo.

À Prefeitura Municipal de Pauini, que, por meio da Lei nº 195, de 13 de maio de 2009, concedeu-me a bolsa de estudos na graduação, possibilitando minha formação como engenheiro agrônomo. Esse apoio foi essencial para minha trajetória acadêmica e para que pudesse alcançar o nível de qualificação necessário para ingressar no mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia. Meu sincero reconhecimento e agradecimento por essa oportunidade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza, por todas as orientações, compreensão e dedicação durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Prof(a). Dr(a). Maria Alves Ferreira, por todas as orientações, disponibilidade e ensinamentos durante a realização deste trabalho.

Ao técnico de laboratório, Silvio Antônio Calazans de Freitas, em virtude da orientação e dedicação durante a realização dos experimentos no Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas, Ana Paula Silva, Axel Bruno Mariotto, Felipe Douglas Soares Leal, Indiará Carol Lopes Pinheiro, Júlia Marques Oliveira, Maria Clara Pinto Ribeiro, Mário Roberto Nogueira Colares, Nuno Manuel Lanza de Sá e Melo Marques e Vitória Moreno Tedardi.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,
mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou
o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o
que era antes.” (Marthin Luther King)*

RESUMO

O café é um dos principais produtos agrícolas do Brasil, sendo essencial para a economia, gerando emprego e renda. Contudo, a ocorrência e o aumento na intensidade da doença causada por *Ceratocystis manginecans*, associada ao cenário de mudanças climáticas, ameaça a produtividade do cafeeiro. Sendo assim, são necessários estudos sobre métodos eficazes de inoculação do patógeno e a seleção de cultivares resistentes. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de diferentes métodos de inoculação de *C. manginecans* em mudas de diferentes cultivares de *Coffea arabica*. O experimento foi conduzido em esquema fatorial (4x4+1), com quatro cultivares de café arábica (Catuaí Vermelho IAC 144, Catuaí Vermelho IAC 99, Catucaí Amarelo 24/137 e Mundo Novo IAC 379/19), quatro métodos de inoculação (aspersão de suspensão de esporos com ou sem ferimento no caule, a deposição de gotas de suspensão de esporos e a inserção de disco micelial, ambos com ferimento no caule) e um tratamento adicional (deposição de gota de água destilada e esterilizada, sem inóculo, em ferimento no caule de mudas da cultivar Catuaí Vermelho IAC 144). Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições. Cada repetição foi composta por quatro mudas, com oito a dez pares de folhas definitivas. Realizou-se a avaliação da severidade da doença 30 dias após a inoculação. O caule de cada planta foi seccionado verticalmente e o comprimento da descoloração interna do córtex, tanto acima quanto abaixo do ponto de inoculação, foi medido. A severidade foi calculada dividindo-se o comprimento dessa descoloração por altura total do caule, multiplicando o resultado por 100. Os experimentos foram realizados duas vezes. A análise conjunta dos dados foi realizada para verificar se havia diferença entre os experimentos. Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ensaios, portanto, os dados apresentados referem-se à média dos dois experimentos. Os dados obtidos foram submetidos à análise dos pressupostos (normalidade e homogeneidade) da análise de variância (ANOVA). A normalidade e a homogeneidade foram determinadas por testes de Shapiro-Wilk e Bartlett. Como os pressupostos foram atendidos, os dados foram submetidos à ANOVA. Quando o teste F, na ANOVA, foi significativo ($p < 0,05$), as variáveis foram submetidas ao teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$) ou por contraste ortogonal com o tratamento adicional. Houve diferença significativa ($p < 0,001$) para o contraste tratamento adicional vs fatorial para a severidade, ou seja, não ocorreu sintomas de descoloração do córtex do caule nas plantas do tratamento adicional, somente com água. Os métodos de inoculação mais eficientes foram com ferimentos, destacando-se a deposição de gota de suspensão de esporos (10,40 a 17,19% de severidade) e a aspersão de suspensão de esporos (11,15 a 16,64%). A cultivar Mundo Novo IAC 379/19 apresentou a menor severidade (9,97 a 10,40%). Portanto, a infecção de *C. manginecans* no cafeeiro depende de ferimentos. A aplicação de 500 μL de suspensão de esporos, na concentração de $2,5 \times 10^6$ esporos/ mL^{-1} destacou-se como método de inoculação mais eficiente, rápido e prático de ser executado. A cultivar Mundo Novo IAC 379/19 apresentou os menores índices de severidade.

Palavras-chave: *Coffea arabica*; coloração do xilema; murcha; severidade; sintomatologia.

ABSTRACT

Coffee is one of Brazil's main agricultural products, playing a crucial role in the economy by generating employment and income. However, the occurrence and increasing severity of the disease caused by *Ceratocystis manginecans*, associated with climate change, threatens coffee productivity. Therefore, studies on effective pathogen inoculation methods and the selection of resistant cultivars are essential. Thus, the objective of this study was to evaluate the efficiency of different *C. manginecans* inoculation methods in seedlings of different *Coffea arabica* cultivars. The experiment was conducted using a factorial design (4x4+1), with four cultivars (Catuaí Vermelho IAC 144, Catuaí Vermelho IAC 99, Catuaí Amarelo 24/137 and Mundo Novo IAC 379/19), four inoculation methods (spraying of spore suspension with or without stem wounding, deposition of spore suspension droplets and insertion of a mycelial disk-both with stem wounding) and an additional treatment (deposition of a droplet of sterilized distilled water, without inoculum, in a wound on the stem of Catuaí Vermelho IAC 144 seedlings). A randomized block design with four replications was used. Each replication consisted of four seedlings with eight to ten pairs of fully expanded leaves. Disease severity was assessed 30 days after inoculation. The stem of each plant was sectioned vertically and the length of internal cortical discoloration, both above and below the inoculation point, was measured. Severity was calculated by dividing the length of the discoloration by the total stem height and multiplying the result by 100. The experiments were conducted twice. A combined data analysis was performed to verify differences between the experiments. No significant difference ($p < 0.05$) was found between the trials; therefore, the data presented refer to the average of both experiments. The data obtained were subjected to assumption analyses (normality and homogeneity) for variance analysis (ANOVA). Normality and homogeneity were assessed using the Shapiro-Wilk and Bartlett tests. Since the assumptions were met, data were analyzed using ANOVA. When the F-test in ANOVA was significant ($p < 0.05$), variables were subjected to Scott-Knott grouping tests ($p < 0.05$) or orthogonal contrasts with the additional treatment. A significant difference ($p < 0.001$) was found for the contrast between the additional treatment and the factorial design regarding severity. No symptoms of cortical stem discoloration were observed in plants from the additional treatment, which received only water. The most effective inoculation methods involved wounding, particularly the deposition of a spore suspension droplet (10.40 to 17.19% severity) and spore suspension spraying (11.15 to 16.64%). Among the cultivars, Mundo Novo IAC 379/19 exhibited the lowest severity (9.97 to 10.40%). Therefore, *C. manginecans* infection in coffee plants depends on wounding. The application of 500 μL of spore suspension at a concentration of 2.5×10^6 spores/ mL^{-1} proved out as the most efficient, rapid and practical inoculation method. The cultivar Mundo Novo IAC 379/19 showed the lowest severity levels.

Keywords: *Coffea arabica*; xylem staining; wilt; severity; symptomatology.

INDICADORES DE IMPACTOS

A pesquisa sobre a inoculação de *Ceratocystis manginecans* em *Coffea arabica* apresenta impactos relevantes nos âmbitos tecnológico, econômico e ambiental, contribuindo para a segurança fitossanitária da cafeicultura brasileira. Considerando a importância do café para a economia nacional, tanto na geração de emprego quanto na renda do setor agrícola, a identificação de métodos eficazes de inoculação e a seleção de cultivares resistentes são estratégias essenciais para reduzir perdas. Os métodos com ferimentos no caule são fundamentais para avaliar a severidade da doença, permitindo maior precisão na seleção de variedades resistentes, como a Mundo Novo IAC 379/19, com menor porcentagem de severidade. Assim, o estudo oferece suporte para programas de melhoramento genético e controle fitossanitário, impulsionando a produtividade e a qualidade do café brasileiro. O ferimento somente reproduz o método de inoculação no campo. Os sintomas foram observados com maior intensidade em áreas com colheita e poda mecânica, devido aos ferimentos causados por esses implementos, em regiões de menor pluviosidade e maiores temperaturas. Plantar cultivares com menor intensidade da doença pode diminuir custos com defensivos e perdas na produção. No aspecto tecnológico, a padronização de um protocolo eficaz de inoculação e avaliação da severidade da doença aprimora a pesquisa agrícola, a seleção de cultivares e métodos de manejo sustentáveis dessa doença. O estudo está alinhado a iniciativas visando promover a agricultura sustentável, tanto financeiramente para o produtor e sua rede de produção quanto a ambiental. Dessa forma, a pesquisa incentiva a inovação e a sustentabilidade na cadeia produtiva do café. Além disso, o caráter extensionista do trabalho fortalece a disseminação do conhecimento ao fornecer informações relevantes para produtores, técnicos agrícolas, agrônomos e instituições de pesquisa. Ações futuras podem ampliar a avaliação de cultivares resistentes e incentivar a implementação de boas práticas agrícolas nos diferentes biomas brasileiros onde o cafeeiro é cultivado, consolidando a segurança produtiva e econômica da cafeicultura nacional.

IMPACT INDICATORS

Research on the inoculation of *Ceratocystis manginecans* in *Coffea arabica* has significant technological, economic and environmental impacts, contributing to the phytosanitary security of Brazilian coffee production. Given the importance of coffee to the national economy, both in terms of employment generation and agricultural income, identifying effective inoculation methods and selecting resistant cultivars are essential strategies to reduce losses. Stem wounding methods are crucial for assessing disease severity, enabling greater precision in selecting resistant varieties, such as Mundo Novo IAC 379/19, which exhibited lower severity percentages. Thus, this study supports breeding programs and phytosanitary control strategies, enhancing the productivity and quality of Brazilian coffee. The wounding technique merely replicates the natural inoculation process in the field. Symptoms were observed with greater intensity in areas subjected to mechanical harvesting and pruning, due to wounds caused by these implements, particularly in regions with lower rainfall and higher temperatures. Planting cultivars with lower disease severity can reduce costs associated with pesticides and production losses. From a technological perspective, standardizing an effective inoculation protocol and disease severity assessment enhances agricultural research, cultivar selection and the development of sustainable disease management methods. This study aligns initiatives promoting sustainable agriculture, benefiting both producers economically and the broader production network while also considering environmental sustainability. By encouraging innovation and sustainability in the coffee production chain, this research has a strong extension component, fostering knowledge dissemination by providing valuable information to farmers, agricultural technicians, agronomists and research institutions. Future actions may expand the evaluation of resistant cultivars and encourage the implementation of good agricultural practices across the diverse Brazilian biomes where coffee is cultivated, strengthening the productivity and economic security of national coffee farming.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Métodos de inoculação de *Ceratocystis manginecans* em mudas de café arábica. A) inserção de disco de micélio no caule com ferimento; B) deposição de gota de suspensão de esporos no caule com ferimento C) aspersão de suspensão de esporos no caule com ferimento e D) aspersão da suspensão de esporos no caule sem o ferimento.....22

Figura 2 - Médias diárias das variáveis climatológicas em casa de vegetação: temperatura e umidade relativa do ar, em casa de vegetação, no município de Lavras, MG.....24

Figura 3 - Sintomas causados com a inoculação de *Ceratocystis manginecans* em mudas de café arábica. A, A1) tratamento adicional (sem o inóculo); B) amarelecimento foliar; C) murcha e enrolamento das folhas; D) seca generalizada e morte de ramos e folhas; E, E2) descoloração interna do córtex do caule em corte longitudinal; E1) cancro e F, F1) formação de peritécios na área inoculada do caule.....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Severidade (%) de <i>C. manginecans</i> em mudas de cultivares de café arábica em função dos diferentes métodos de inoculação.	25
--	----

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1 - Experimento 1: Análise de variância para a severidade de <i>C. manginecans</i> em mudas de cultivares de café arábica, inoculadas utilizando-se diferentes metodologias.	38
Apêndice 2 - Experimento 2: Análise de variância para a severidade de <i>C. manginecans</i> em mudas de cultivares de café arábica, inoculadas utilizando-se diferentes metodologias.	38
Apêndice 3 - Análise conjunta de dois experimentos repetidos ao longo do tempo para a severidade de <i>C. manginecans</i> em mudas de cultivares de café arábica, inoculadas utilizando-se diferentes metodologias.....	38
Apêndice 4 - Análise de variância para a severidade de <i>C. manginecans</i> em mudas de cultivares de café arábica, inoculadas utilizando-se diferentes metodologias.	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	Impacto das doenças na produção cafeeira	13
2.2	Distribuição e impacto de <i>C. manginecans</i>	14
2.3	Epidemiologia	16
2.4	Sintomatologia das doenças causadas por <i>C. manginecans</i>.....	17
2.5	Eficiência dos métodos de inoculação de <i>C. manginecans</i>	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Delineamento experimental.....	20
3.2	Isolado e preparo do inóculo	21
3.3	Inoculação de <i>C. manginecans</i>	21
3.4	Severidade.....	23
3.5	Análises estatísticas	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1	Severidade.....	25
4.2	Sintomatologia	28
5	CONCLUSÕES	31
	REFERÊNCIAS	32
	APÊNDICES.....	38

1 INTRODUÇÃO

O café brasileiro é uma importante *commodity* para o comércio global, sendo o país o maior produtor e exportador da bebida, responsável por aproximadamente 34% da produção mundial. Na safra 2023/2024, a produção foi de cerca de 54,2 milhões de sacas de café beneficiado, 1,6% abaixo do volume produzido na safra anterior (Conab, 2025). Vários fatores podem impactar a produtividade do cafeeiro e a qualidade dos grãos e da sua bebida, incluindo clima, fertilidade do solo, nutrição das plantas, além de doenças e pragas (Pozza; Pozza, 2023). Dentre as doenças, destacam-se a ferrugem, a cercosporiose, a mancha de Phoma, a antracnose e a mancha aureolada, entre outras, as quais, dependendo de sua intensidade, podem causar perdas significativas (Pozza, 2021).

Além desses desafios, a ocorrência de novas doenças ainda podem dificultar o manejo da cultura e reduzir ainda mais o lucro do produtor. Com a expansão das áreas em produção para os limites ou até mesmo fora da área dos biomas com condições edafoclimáticas favoráveis ao cultivo do cafeeiro, do cenário de mudanças climáticas nas áreas adaptadas ao seu cultivo e as novas técnicas de mecanização e de tratos culturais, patógenos até então não relatados ou descritos no cafeeiro podem ser encontrados causando doenças. Entre eles, citam-se as doenças associadas ao fungo *Ceratocystis* spp. As espécies desse fungo podem representar ameaça significativa à cultura do cafeeiro. Embora o fungo *Ceratocystis manginecans* já tenha sido amplamente registrado em diversos hospedeiros no Brasil, seu primeiro relato em cafeeiros (*Coffea arabica* L.) ocorreu em 2022, no oeste do estado da Bahia (Almeida *et al.*, 2024). Segundo esses autores, os sintomas característicos da doença incluem o amarelecimento e a seca de ramos e folhas, além da formação de cancrios ao redor dos pontos de infecção no caule, seja nos ramos ortotrópicos ou plagiotrópicos. Sob os cancrios, observa-se o xilema descolorido e a casca interna necrótica, com a descoloração do córtex geralmente progredindo até a morte do tronco e dos ramos. A principal forma de entrada do patógeno está associada a ferimentos, causados com maior frequência durante a colheita mecanizada, poda e operações de capina.

Embora o patógeno represente ameaça à cafeicultura, estudos detalhados sobre a seleção de cultivares resistentes e a formulação de estratégias de manejo ainda estão em andamento e certamente podem mitigar as perdas associadas a essa doença. Nesse sentido, o desenvolvimento de metodologias eficientes de inoculação torna-se etapa fundamental para a avaliação precoce, em mudas, da resistência ao patógeno. A introdução do patógeno torna a avaliação da resistência tarefa complexa no campo, pois as infecções naturais são imprevisíveis e dependem de fatores ambientais difíceis de controlar. Em condições controladas, essas

metodologias não apenas viabilizam a seleção de cultivares resistentes em programas de melhoramento, mas também são fundamentais para compreender as interações planta-patógeno. Além disso, é imprescindível serem confiáveis e eficazes e ainda representarem, como o patógeno infectou ou penetrou o cafeeiro no campo, reproduzindo as formas de infecção ou penetração e os sintomas já descritos. Ao ajustar a técnica de inoculação a essas condições, a metodologia poderá ser empregada na avaliação da resistência de cultivares, da eficácia de produtos como fungicidas, agentes de controle biológico, indutores de resistência, entre outros (Almeida *et al.*, 2024; Brito *et al.*, 2020; Nasution *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2016).

Nesse contexto, diversos métodos de inoculação artificial, com diferentes tipos e concentrações de inóculo, foram descritos para avaliar a severidade das doenças causadas por *C. manginecans*, porém em outras espécies de plantas e em condições diferentes de ambiente. No entanto, a falta de padronização nas metodologias pode levar a inconsistências nos resultados e a possíveis erros nas avaliações e estimação da quantidade de doença. Entre os métodos comumente utilizados, destacam-se a inserção de discos de micélio do patógeno (Araujo *et al.*, 2014a; Fernandes *et al.*, 2024; Firmino *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2016; Nasution *et al.*, 2022; Pratama *et al.*, 2021; Trang *et al.*, 2022) e a deposição de suspensões de esporos, com concentrações variando de 10^7 esporos/mL⁻¹ (Cassol *et al.*, 2024; Oliveira *et al.*, 2021), a $2,5 \times 10^6$ esporos/ mL⁻¹ (Oliveira *et al.*, 2015; Méndez-Álvarez *et al.*, 2023; Pimenta *et al.*, 2017; Piveta *et al.*, 2016; Valdetaro *et al.*, 2015) e 3×10^6 esporos/ mL⁻¹ (Valdetaro *et al.*, 2019), aplicadas em incisões realizadas em troncos, ramos ou folhas. Especificamente para o cafeeiro, o método de deposição de gotas de suspensão de esporos (2×10^4 esporos/ mL⁻¹) em ferimento no caule foi utilizado para a execução do postulado de Koch, no primeiro relato de *C. manginecans* nesta espécie (Almeida *et al.*, 2024). No entanto, ainda há pouca informação sobre a viabilidade de outros métodos de inoculação em plantas de café arábica (*C. arabica*), capazes de representar a interação patógeno, ambiente e hospedeiro e reproduzir os sintomas da doença, na mesma intensidade do campo.

Portanto, considerando os desafios impostos devido à ocorrência de *C. manginecans* na cafeicultura e a crescente necessidade de estratégias eficazes para a seleção precoce de cultivares resistentes e a formulação de estratégias de manejo, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência de diferentes métodos de inoculação de *C. manginecans* e a resposta de resistência em mudas de café arábica, com o intuito de otimizar a seleção de cultivares e de métodos de controle.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Impacto das doenças na produção cafeeira

Por se tratar de cultura perene, produtiva e rentável, a cultura do cafeeiro é amplamente cultivada no Brasil, em diferentes biomas, desde a região dos tabuleiros costeiros, da mata atlântica, com grandes áreas nos cerrados até a floresta amazônica, compreendendo as regiões de transição, com diferentes altitudes, tipos de solo e clima, ou seja, a variação das condições edafoclimáticas é enorme. A área total destinada à cafeicultura no país, considerando o cultivo das espécies *C. arabica* e *C. canephora*, totaliza 2,23 milhões de hectares, com produção próxima aos 55 milhões de sacas de 60 Kg (Conab, 2025). Apesar desse volume, vários fatores podem reduzir essa produção, entre eles as doenças, as quais, dependendo da intensidade, podem estar associadas a perdas em larga escala (Pozza, 2021).

Entre as principais doenças responsáveis por afetar o cafeeiro, a ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome), destaca-se como a mais importante, causando perdas significativas em cultivares suscetíveis e quando não controlada adequadamente, causa redução na produção de até 90% e desfolha superior a 70% (Colares, 2018). Outra doença de importância econômica é a cercosporiose (*Cercospora coffeicola* Berkeley & Cooke), a qual causa lesões em folhas e frutos, acarretando diretamente em danos na produção e no rendimento do cafeeiro (Pozza, 2021). Além disso, em condições específicas de ambiente, destaca-se a mancha-de-Phoma (*Phoma* spp.), a doença ocorre principalmente em regiões com microclima frio, expostas a ventos provenientes do Sul e geralmente em altitudes superiores a 900 metros (Pozza, 2021). Sua importância para a cultura do café é significativa, pois ocorre desde a fase de formação de mudas no viveiro até a produção da cultura, ocasionando perdas as quais variam de 15 a 43% na produção (Pozza, 2021).

Ademais, destacam-se a mancha aureolada (*Pseudomonas coronafaciens* pv. *garcae*) e o crestamento bacteriano (*Pseudomonas cichorii*), como as duas principais doenças bacterianas do cafeeiro. Operações, como colheita e poda, podem promover ferimentos em folhas e ramos novos, favorecendo o processo de infecção das bactérias (Pozza, 2021). Sob condições adversas a bactéria tem uma fase epifítica na superfície foliar do cafeeiro. Irrigações frequentes favorecem as doenças, principalmente em viveiros, quando a irrigação é realizada mais de uma vez ao dia. Além disso, sementes de café provenientes de plantas com sintomas do crestamento bacteriano, também podem conter inóculo viável (Belan *et al.*, 2016). Outras doenças, como a antracnose, ocasionada por fungos do gênero (*Colletotrichum* spp.) causam perdas significativas. Nos países produtores da África podem causar perdas de até 80% na produção,

devido à queda de frutos verdes. De patogenicidade comprovada, causa sintomas desde a seca de ponteiros até a podridão de grãos (Pozza, 2021).

As doenças citadas anteriormente são verificadas em grande parte das lavouras cafeeiras e já possuem descrição detalhada, como, por exemplo, ciclo de vida do agente etiológico, sintomas característicos, condições favoráveis para o progresso da doença e estratégias de manejo. No entanto, devido às novas condições edafoclimáticas de cultivo, ao desenvolvimento de novas cultivares, às novas técnicas de mecanização e à variabilidade do patógeno, além do fato de o cafeeiro ser uma cultura perene e das interações entre essas variáveis, a ocorrência de doenças não se restringe às já conhecidas. Isso significa que a planta pode estar exposta a novos patógenos ao longo de todo o ano. Esses patógenos podem ser conhecidos por causar doenças em outras culturas ou representar novos agentes etiológicos. Nesse sentido, em 2018, duas novas espécies do fungo *Ceratobasidium* spp. foram relatadas causando uma nova doença em cafeeiros (*C. arabica*) no Brasil. Os sintomas observados incluem lesões necróticas e a presença de micélio branco em formato de fios, caracterizando a doença (De Melo *et al.*, 2018). Já em 2022, o fungo *C. manginecans*, amplamente registrado em diversos hospedeiros no Brasil, foi relatado causando doença em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). Os sintomas característicos da doença incluem o amarelecimento e a seca de ramos e folhas, além da formação de cancrios ao redor dos pontos de infecção no caule, seja nos ramos ortotrópicos ou plagiotrópicos. Sob os cancrios, observa-se o xilema descolorido e a casca interna necrótica, com a descoloração do córtex geralmente progredindo até a morte do tronco e dos ramos. A principal forma de entrada do patógeno está associada a ferimentos, causados com maior frequência durante a colheita mecanizada, poda e operações de capina (Almeida *et al.*, 2024).

2.2 Distribuição e impacto de *C. manginecans*

O fungo *C. manginecans* tem ampla distribuição geográfica e pode ser encontrado causando doenças, de importância econômica em diversas espécies em climas tropicais, subtropicais e temperados e em todos os continentes (Harrington, 2013). Com a revisão taxonômica das espécies brasileiras de *Ceratocystis*, populações anteriormente classificadas como *Ceratocystis fimbriata* foram reclassificadas, principalmente com o emprego da biologia molecular, para *C. manginecans*, ou seja, essa espécie tem genes diferentes ou capazes de separá-la de *C. fimbriata*, sendo assim podendo representar uma especialização capaz de ser mais eficaz na disseminação, infecção e até mesmo na colonização do cafeeiro (Harrington, 2013; Harrington *et al.*, 2024). Este fungo apresenta ampla gama de hospedeiros, incluindo tanto espécies agrônômicas quanto florestais (Baker *et al.*, 2003; Da Silva *et al.*, 2017; Fernandes *et al.*, 2022; Ferreira *et al.*, 2017; Harrington *et al.*, 2024, Oliveira *et al.*, 2015;

Oliveira *et al.*, 2021; Silveira *et al.*, 2006; Valdetaro *et al.*, 2015; Valdetaro *et al.* 2019). Em mangueiras (*Mangifera indica* L.), a doença causada por *C. manginecans* é conhecida por vários nomes, como “seca-da-mangueira”, “mal-do-Recife”, murcha de Ceratocystis, declínio ou murcha da mangueira. O fungo foi inicialmente observado na cultura, em Recife, no estado de Pernambuco, em meados da década de 30 (Ribeiro *et al.*, 1995) e, em seguida, em São Paulo, no município de Jardinópolis (Arruda, 1940). Os primeiros testes de inoculação para comprovar a patogenicidade foram realizados em 1953 por Viégas (1960). Atualmente, a doença já foi observada em outros países, como Paquistão e Omã, causando sérios danos e representando problema global para o cultivo de manga (Al Adawi *et al.*, 2013; Fateh *et al.* 2006; Van Wyk *et al.*, 2007).

O primeiro registro do patógeno em eucalipto (*Eucalyptus* sp.) no Brasil ocorreu em 1999 (Ferreira *et al.*, 1999). No entanto, segundo Ferreira *et al.* (2006), o patógeno já havia sido observado em *E. tereticornis* Smith desde 1975 em amostras provenientes do sul da Bahia e fora deste estado foi registrado em plantios monoclonais de *E. grandis* Hill Ex-Maiden no sul do Mato Grosso do Sul. Em 2003 e 2004, o patógeno também foi detectado nos estados de Minas Gerais e São Paulo, em plantios clonais. Atualmente, o fungo está amplamente distribuído em plantios de eucalipto em várias regiões do Brasil e do mundo (Chi *et al.*, 2023; Ferreira *et al.*, 2011; Fourie *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2015). Em seringueiras (*Hevea brasiliensis*) (Willd. Ex A. Juss.) Müll. Arg., o patógeno foi detectado em 1972 em plantios localizados no estado do Pará, causando sintomas, inicialmente, no painel de sangria (De Albuquerque; Duarte; Silva, 1972; Silveira *et al.*, 1994). Posteriormente, o patógeno também foi relatado nos estados do Acre, Bahia e São Paulo (Silveira *et al.* 1985; Valdetaro *et al.*, 2015). Em figueiras (*Ficus carica* L.), o fungo foi relatado ocasionando a doença da seca-da-figueira, na região de Valinhos, no estado de São Paulo (Valarini; Tokeshi, 1980). Além disso, entre as décadas de 1970 e 80 foi relatada a ocorrência do patógeno em *Gmelina arborea* Roxb., no estado do Pará (Muchovej *et al.*, 1978). Na Costa Rica, tem representado ameaça à sustentabilidade das plantações comerciais de *G. arborea*, causando perdas de até 40% (Méndez-Álvarez *et al.*, 2020; Méndez-Álvarez *et al.*, 2023).

Em *Acacia decurrens* Willd., o fungo foi relatado em 1988, na região do Capão Bonito - SP, além disso foi relatada em *A. mearnsii* De Wild, em plantações no Rio Grande do Sul (Ribeiro *et al.*, 1988; Santos; Ferreira, 2003). No Sudeste Asiático, a Murcha de Ceratocystis, tem comprometido gravemente a rentabilidade das plantações de *Acacia mangium* Willd. (Brawner *et al.*, 2022; Fourie *et al.*, 2015; Tarigan *et al.*, 2011a). Em kiwi (*Actinidia deliciosa*) (A. Chev) C. F. Liang et A. R. Ferguson, o patógeno foi inicialmente relatado causando sintomas

de amarelecimento foliar, murcha e seca dos ramos, no estado do Rio Grande do Sul (Sonogo *et al.*, 2010; Piveta *et al.*, 2013; Piveta *et al.*, 2016). Além disso, no ano de 2012, no Mato Grosso, o patógeno também foi reportado em plantios comerciais de teca (*Tectona grandis* L.f). Atualmente, representa um dos principais problemas fitossanitários da cultura, causando perdas significativas em plantios no estado (Firmino *et al.*, 2012;). No mesmo ano, o fungo foi relatado em sementes e plantas de andiroba (*Carapa guianensis*), no estado de Roraima (Halfeld-Vieira *et al.*, 2012; Valdetaro *et al.*, 2019).

Já no café arábica (*C. arabica*), o patógeno foi identificado em plantios comerciais da cultivar Catuaí Vermelho IAC 144, no município de Luís Eduardo Magalhães – BA, onde as plantas inicialmente apresentavam sintomas de amarelecimento de folhas, evoluindo para seca, inclusive dos ramos plagiotrópicos onde estavam inseridas. Nesses ramos e também no ortotrópico foram observados cancos ao redor da área de infecção. O xilema descolorido e a casca interna necrótica foram observados sob os cancos, com a descoloração progredindo até a morte do tronco ou ramo. A mortalidade das plantas tendeu a ocorrer ou progredir dentro ou na mesma linha de plantio, sugerindo transmissão por operações de mecanização, citam-se a colheita, a poda, operações de capina ou controle de plantas daninhas (Almeida *et al.*, 2024). Além de *C. manginecans*, outras espécies do gênero *Ceratocystis* representam ameaça significativa à cafeicultura. O fungo *Ceratocystis costarricensis* tem sido relatado como um patógeno altamente agressivo, transmitido no solo em lavouras de café arábica na Costa Rica, onde causa sérios prejuízos à produção (Baker *et al.*, 2003; Harrington *et al.*, 2024). Porém, essa doença não se restringiu à América Central. Na Colômbia, um dos maiores produtores de café do mundo, o cancro de *Ceratocystis*, causado por *Ceratocystis colombiana*, é considerada a principal doença. A doença está presente em todas as regiões cafeeiras do país, afetando todas as variedades comerciais cultivadas. Ferimentos por lesões mecânicas foram relatados como a principal via de entrada do patógeno nas plantas, tornando essencial o manejo adequado das práticas culturais para minimizar a intensidade da doença (Castro Caicedo *et al.*, 2013; Harrington *et al.*, 2024; Marin *et al.*, 2003; Van Wyk *et al.*, 2010).

2.3 Epidemiologia

A epidemiologia de *C. manginecans*, e suas respectivas doenças, em seus hospedeiros está fortemente relacionada à produção e disseminação do seu inóculo, presença de hospedeiros suscetíveis e condições ambientais favoráveis (Nasution *et al.*, 2019). O patógeno é disseminado principalmente por esporos, variando conforme a espécie de *Ceratocystis*, seus principais tipos de esporos são os endoconídios, os aleurioconídios, os clamidósporos e os ascósporos. Os aleurioconídios possuem paredes espessas e duráveis, permitindo sua

sobrevivência por longos períodos no solo, o qual facilita a transmissão da doença entre hospedeiros suscetíveis (Araujo *et al.*, 2014b; Souza *et al.*, 2013). Como a maioria dos fungos filamentosos, os esporos das espécies de *Ceratocystis* infectam seus hospedeiros por ferimentos, onde os esporos germinam após a deposição (Harrington, 2013; Nasution *et al.*, 2019), portanto, o ferimento é crítico para a infecção.

A disseminação do patógeno também pode ser facilitada por transmissão mecânica, com o uso de ferramentas de poda, colheita, operações de capina, controle de plantas daninhas ou atividades humanas, provocando feridas nos hospedeiros (Almeida *et al.*, 2024; Cassol *et al.*, 2025; Oliveira *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2018; Seta *et al.*, 2021; Syazwan *et al.*, 2021). Além disso, a enxertia de raízes e a transmissão de esporos por água de irrigação e vento são mecanismos adicionais de propagação do patógeno (Harrington, 2013). Essas práticas e condições ambientais favorecem a infecção e a disseminação do patógeno nas plantações, especialmente em hospedeiros suscetíveis, levando a altas taxas de infecção e morte de plantas (Nasution *et al.*, 2019).

2.4 Sintomatologia das doenças causadas por *C. manginecans*

A infecção por *C. manginecans* provoca sintomas semelhantes em diferentes hospedeiros, mas com variações específicas dependendo da planta afetada. Em plantas lenhosas como o eucalipto, os sintomas geralmente se iniciam com o amarelecimento de folhas, a sua murcha e também de galhos e ramos, resultando na seca e morte da planta. Nessa cultura, as infecções ocorrem a partir do solo, via raízes e atingem o colo das plantas. Após penetrar no hospedeiro, o fungo se move no xilema e, posteriormente, no sentido radial no interior das células do parênquima medular. Essa colonização vascular bloqueia o fluxo de água e nutrientes, resultando na murcha, seca e morte das plantas infectadas (Araujo *et al.*, 2014a; Da Silva *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2006; Trang *et al.*, 2022). Os sintomas internos podem ser observados em cortes transversais. Inicialmente, observam-se estrias escuras na medula, as quais progridem no sentido radial. Na casca do tronco, podem ser encontrados os cancrios, sendo observados a partir deles, estrias de cor marrom escura, capazes de atingir o câmbio. A descoloração ou mudança da cor do câmbio pode estender-se por longa distância a partir das raízes chegando aos ramos. Os elementos dos vasos são intensamente colonizados por *C. manginecans*, com a formação de aleuroconídios (Araujo *et al.*, 2014a; Ferreira; Alfenas; Mafía, 2013). Tanto a forma de infecção, colonização e os sintomas observados em eucalipto podem ser similares aos registrados em outras espécies, como *G. arborea*, *Acacia* spp., *T. grandis*, *A. Deliciosa*, *C. arabica* e *M. indica* (Almeida *et al.*, 2024; Ferreira; Alfenas; Mafía,

2013; Firmino *et al.*, 2012; Fourie *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016; Piveta *et al.*, 2013; Piveta *et al.*, 2016; Sonego *et al.*, 2010; Tarigan *et al.*, 2011).

Contudo, na seringueira, os sintomas geralmente começam no painel de sangria e caracterizam-se por renovação desuniforme da casca, com partes do caule apresentando o lenho exposto, em alternância com o tecido renovado. Além disso, ocorre a formação de pústulas, com exsudação de látex acima da região de corte, e o desenvolvimento de camada branca acinzentada sobre os tecidos mais jovens. Com o progresso da infecção, pode-se observar a morte da árvore (De Albuquerque *et al.*, 1972; Ferreira; Alfenas; Mafia, 2013; Valdetaro *et al.*, 2015). Já no caso da andiroba, os sintomas são observados tanto em sementes cobertas por esporulação fúngica de *C. manginecans*, geralmente associada à gomose, quanto em mudas com sintomas de seca, sob árvores naturalmente estabelecidas de andiroba (Halfeld-Vieira, *et al.*, 2012; Valdetaro *et al.*, 2019). No cafeeiro (*C. arabica*), o fungo provoca clorose e morte das plantas afetadas. As folhas tornam-se amareladas e secam, enquanto os cancrios se desenvolvem ao redor de ferimentos no tronco principal. A infecção compromete o xilema, causando descoloração dos tecidos internos e necrose da casca, sintomas que avançam até levar à morte de ramos ou do tronco inteiro (Almeida *et al.*, 2024). A transmissão pode ocorrer por meio de operações mecânicas, como colheita ou capina, mecanismo semelhante ao observado em plantações de eucalipto.

2.5 Eficiência dos métodos de inoculação de *C. manginecans*

A inoculação de *Ceratocystis* spp. nos hospedeiros geralmente ocorre por meio de ferimentos em troncos, ramos ou folhas, seguida da transferência do inóculo para o local de infecção. Entre as técnicas mais utilizadas, destaca-se o ferimento realizado no caule com bisturi, comumente utilizado em diversas plantas, como o cafeeiro (Almeida *et al.* (2024), eucalipto (Gomes *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2015), mangueira (Araujo *et al.* 2014a; Oliveira *et al.*, 2016), kiwi (Piveta *et al.*, 2016), seringueira (Valdetaro *et al.*, 2015), andiroba (Halfeld-Vieira *et al.*, 2012; Valdetaro *et al.*, 2019), teca e acácia (Anjos *et al.*, 2023; Santos; Ferreira, 2003). Em mangueira e teca, a inserção de discos de micélio do patógeno nas incisões resultou em sintomas internos ocorrendo entre 40 e 120 dias, respectivamente (Araujo *et al.*, 2014a; Oliveira *et al.*, 2016; Anjos *et al.*, 2023; Fernandes *et al.*, 2024; Santos; Ferreira, 2003). Araujo *et al.* (2014a), ao utilizarem esse método de inoculação, identificaram diferentes níveis de suscetibilidade entre cultivares de manga. As cultivares Espada, Haden e Palmer apresentaram maior suscetibilidade à doença causada por *C. manginecans*, enquanto as cultivares Tommy Atkins e Ubá apresentaram resistência moderada e alta resistência, respectivamente. De acordo com esses autores, a resistência de mangueiras à doença está associada à capacidade de

acumular compostos fenólicos em resposta à infecção e colonização do patógeno. Esses compostos podem inibir o crescimento do fungo e a obstrução dos vasos, limitando assim o progresso da doença.

Além desse método, a deposição de gotas de suspensão de esporos na concentração de $2,5 \times 10^6$ conídios mL^{-1} , também tem sido utilizada para inocular *Ceratocystis* spp. em clones de eucalipto. Pimenta *et al.* (2017), usaram o método para estudar respostas fisiológicas de clones de *Eucalyptus* spp. resistentes e suscetíveis. Os clones resistentes apresentaram maior acúmulo de açúcares solúveis, reforço na lignificação e ativação precoce de enzimas de defesa, como polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD), enquanto os suscetíveis mostraram respostas tardias e menos intensas. Além disso, os resistentes acumularam mais compostos fenólicos, como ácido clorogênico e cafeico, essenciais na defesa contra o patógeno. Oliveira *et al.* (2015), utilizaram o mesmo método para avaliar a resposta de clones de *Eucalyptus* spp. à infecção por isolados de *C. manginecans*, verificando a capacidade dos isolados em causar a doença em todos os clones testados. A comparação entre plantas inoculadas e controles revelou sintomas típicos da infecção, como lesões escuras em sentido longitudinal e radial no caule, além de casos de morte regressiva evoluindo para murcha e morte da planta. Esse resultado evidenciou a eficiência do método de inoculação na indução dos sintomas característicos da doença, permitindo uma avaliação precisa da agressividade dos isolados e da resistência dos clones.

Já em mudas de seringueira e kiwi, a aplicação de 500 μL de suspensão de esporos do fungo, com a concentração de $2,5 \times 10^6$ esporos mL^{-1} , foi eficaz em testes de patogenicidade. Após 60 dias da inoculação, sintomas de murcha e descoloração interna foram observados nas plantas inoculadas (Valdetaro *et al.*, 2015; Piveta *et al.*, 2016). A mesma metodologia tem sido utilizada para avaliar a resistência genética ao fungo em genótipos de *Gmelina arborea* (Méndez-Álvarez *et al.*, 2023). Em outros hospedeiros, como a andiroba e o cafeeiro, a deposição de gotas com suspensão de esporos do fungo, em outras concentrações, como (3×10^6 esporos mL^{-1}) para andiroba e 2×10^4 conídios mL^{-1} para o cafeeiro, gerou resultados satisfatórios. Foram observados sintomas e sinais semelhantes aos da infecção original nas culturas (Almeida *et al.*, 2024; Valdetaro *et al.*, 2019). Aos 60 dias, nenhuma das plantas de andiroba morreu, mas sintomas de murcha foram notados em algumas plantas inoculadas. Além disso, observou-se descoloração escura estendendo-se continuamente a partir do ponto de inoculação, especialmente acima desse ponto (Valdetaro *et al.*, 2019). Já no cafeeiro, os sintomas de descoloração interna na haste variaram de 33 a 40 mm. Plantas inoculadas apresentam amarelecimento nas folhas, mas nenhuma morreu no período de avaliação de 30

dias (Almeida *et al.*, 2024). No entanto, ainda há pouca informação sobre a eficácia de outros métodos de inoculação em plantas de café arábica que consigam reproduzir os sintomas da doença observados em campo.

Além dos métodos listados anteriormente, a inoculação de folhas destacadas em *Acacia mangium* é um método inovador, rápido e eficaz para avaliar a suscetibilidade à *C. manginecans*, substituindo a inoculação em plantas cultivadas em vasos. O protocolo consiste em ferir as folhas com uma agulha estéril, aplicar 10 µL de suspensão de conídios (2×10^5 conídios/ mL⁻¹) e incubar a 25 °C em ambiente úmido, permitindo a observação dos sintomas por até três semanas. A severidade da doença é quantificada por meio da medição do comprimento das lesões e do cálculo de um índice de descoloração (Nasution *et al.*, 2022; Tran *et al.*, 2018). Um protocolo similar tem sido empregado na seleção de cacauzeiros resistentes à murcha causada por *Ceratocystis cacaofunesta* (Dos Santos *et al.*, 2021). Nesse método, utiliza-se a aplicação de 30 µL ou 20 µL de suspensão com 3×10^4 UFC/mL do patógeno em discos foliares feridos. A resposta à infecção é avaliada por contagem do número de peritécios formados após quatro dias. Por meio dessa metodologia, já foram identificadas vinte e seis novas fontes de resistência à *C. cacaofunesta* (Dos Santos *et al.*, 2021; Magalhães *et al.*, 2019). Esses métodos oferecem vantagens em relação às abordagens tradicionais, permitindo selecionar o maior número de genótipos de forma mais rápida e em estágios iniciais do desenvolvimento das plantas. Assim, tornam-se ferramentas valiosas para acelerar o processo de seleção de materiais genéticos com maior tolerância às doenças antes da avaliação em campo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado duas vezes ao longo do tempo, entre março e abril de 2024, em casa de vegetação. Durante esse período, as condições climáticas foram monitoradas diariamente. A temperatura e a umidade relativa do ar foram registradas por “Datalogger”, marca Bilbos, modelo BL-500, instalado em abrigo protegido próximo à bancada do experimento.

3.1 Delineamento experimental

O estudo foi implementado em esquema fatorial ($4 \times 4 + 1$), com quatro cultivares de café arábica, quatro metodologias de inoculação e um tratamento adicional, totalizando 17 tratamentos. O fator 1 correspondeu às cultivares de café arábica Catuaí Vermelho IAC 144, Catuaí Vermelho IAC 99, Catucaí Amarelo 24/137 e Mundo Novo IAC 379/19, com oito a dez pares de folhas definitivas. O fator 2 consistiu os métodos de inoculação, sendo a aspersão de suspensão de esporos com ou sem ferimento no caule, a deposição de gotas de suspensão de

esporos e a inserção de disco micelial, ambos com ferimento no caule. O tratamento adicional consistiu na deposição de gota de água destilada e esterilizada no ferimento do caule de mudas da cultivar Catuaí Vermelho IAC 144. A escolha desse método como tratamento adicional justifica-se por ser o único protocolo descrito para inoculação do patógeno em mudas de café arábica, além de ser eficaz para obter sintomas semelhantes aos observados no campo. Além disso, no caso da cultivar Catuaí Vermelho IAC 144, ela é a única até então relatada como suscetível ao patógeno (Almeida *et al.*, 2024). Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo cada repetição composta por quatro mudas, com um ano de idade, cultivadas em sacos de polietileno, com substrato de terra, esterco bovino e areia, na proporção de 2:1:1. As mudas foram mantidas por 30 dias na casa de vegetação, sob condições de temperatura de 25 ± 1 °C, antes das inoculações.

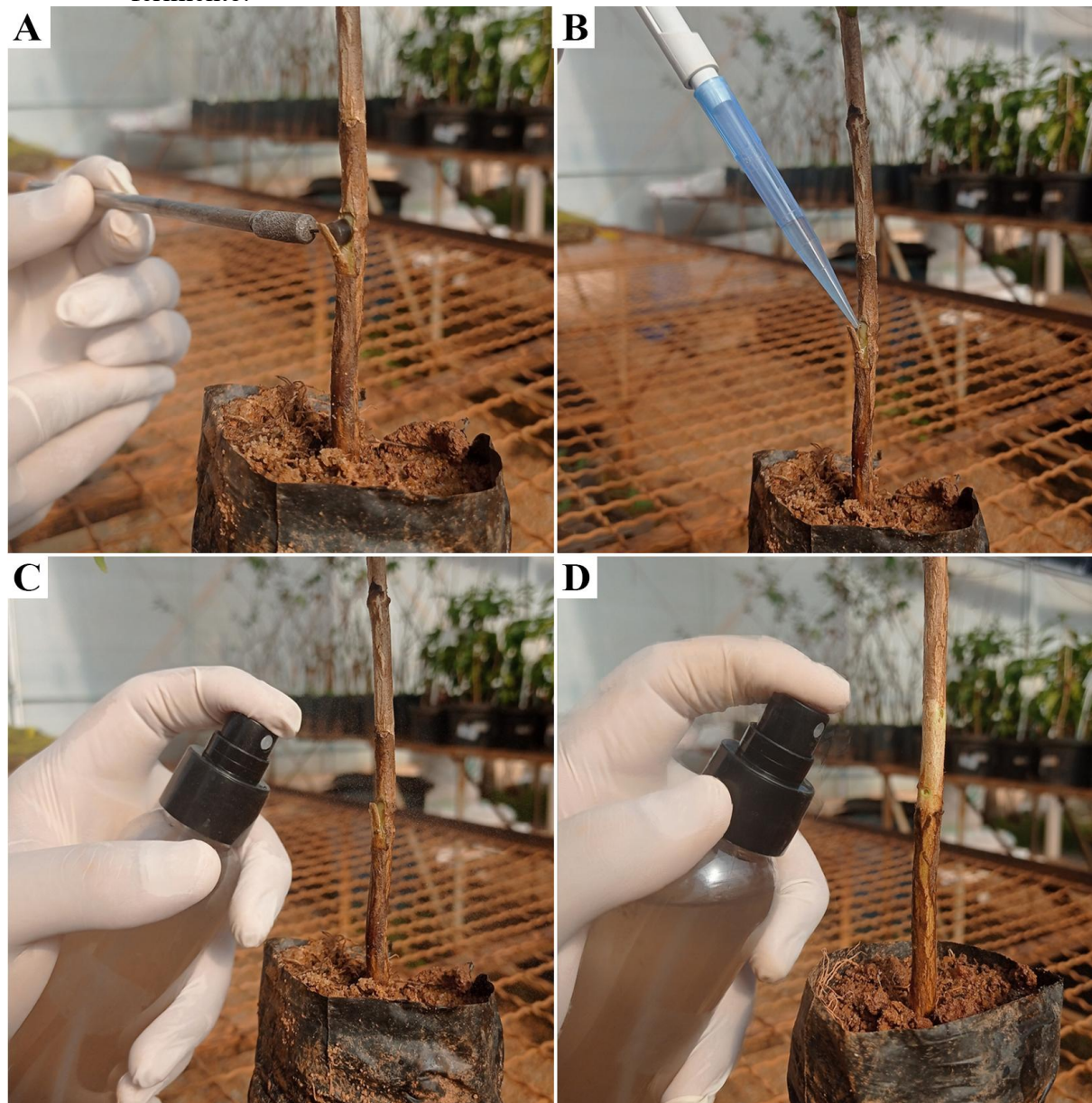
3.2 Isolado e preparo do inóculo

Utilizou-se o isolado KLC1 de *C. manginecans*, obtido originalmente de plantas doentes de café arábica, cultivar Catuaí Vermelho IAC 144, provenientes da estação experimental da Fundação de Apoio à Pesquisa e Desenvolvimento do Oeste Baiano, localizada no município de Luís Eduardo Magalhães – BA (Almeida *et al.*, 2024). O isolado está depositado na coleção do Laboratório de Patologia Florestal, do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras. Para produzir o inóculo o fungo foi multiplicado em meio de cultura MYEA (2% de extrato de malte, 0,2 % de extrato de levedura e 2% de ágar), em incubadora BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), a 25 ± 1 °C, sob fotoperíodo alternado de 12 horas de luz branca (Lâmpada led tubo T8 9W, marca Osram) e 12 horas de escuro, durante 20 dias. Após esse período, para obter a suspensão de esporos, adicionou-se 10 mL de água destilada e esterilizada às placas de Petri, seguido de raspagem da superfície das colônias fúngicas com pincel de cerdas macias, previamente esterilizado. A suspensão de esporos (conídios, ascósporos e aleuroconídios) foi filtrada em dupla camada de gaze previamente esterilizada. Posteriormente, a concentração da suspensão de inóculo foi ajustada para $2,5 \times 10^6$ esporos/mL¹, utilizando-se câmara de “Neubauer” (Laia; Alfenas; Harrington, 2000).

3.3 Inoculação de *C. manginecans*

Os métodos avaliados foram escolhidos de acordo com a praticidade de realização e para simular ferimentos, os quais são a principal via de entrada do patógeno no cafeeiro (Almeida *et al.*, 2024). Para a inoculação, foi feita uma incisão longitudinal de 1 cm, em forma de cunha, na epiderme do caule das plantas, sem a retirada dessa parte do caule, a 3 cm da área do coleto, utilizando estilete esterilizado (Figuras 1A, B e C).

Figura 1 - Métodos de inoculação de *Ceratocystis manginecans* em mudas de café arábica. A) inserção de disco de micélio no caule com ferimento; B) deposição de gota de suspensão de esporos no caule com ferimento C) aspersão de suspensão de esporos no caule com ferimento e D) aspersão da suspensão de esporos no caule sem o ferimento.



Fonte: Do autor (2025).

No método de inoculação por disco de micélio no ferimento no caule, utilizou-se disco de 3 mm de diâmetro retirado da borda da colônia do fungo, esse foi inserido na área da incisão do caule, com a face do inóculo voltada para o lenho da planta (Figura 1A). Para o método de deposição de gota da suspensão de esporos no ferimento do caule, foi aplicada uma gota de 500 μL , com concentração de $2,5 \times 10^6$ esporos/ mL^{-1} , utilizando-se pipeta automática (Figura 1B). No tratamento por aspersão da suspensão de esporos do ferimento no caule, 500 μL da suspensão ($2,5 \times 10^6$ esporos/ mL^{-1}) foram aspergidos utilizando-se pulverizador plástico

manual (Figura 1C). Para o tratamento por aspersão da suspensão de esporos sem o ferimento do caule, 500 µL da suspensão ($2,5 \times 10^6$ esporos/mL⁻¹) foram aspergidos com pulverizador plástico manual (Figura 1D). Plantas do tratamento adicional foram inoculadas com a deposição de gota de 500 µL de água destilada e esterilizada no ferimento do caule. Posteriormente, a área inoculada com o patógeno ou tratamento adicional (sem o inóculo) foi revestida com filme plástico, para evitar a evaporação da água presente na suspensão de inóculo e prevenir a infecção por outros microrganismos. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em casa de vegetação por 30 dias.

3.4 Severidade

Após 30 dias da inoculação, o caule de cada planta foi seccionado verticalmente, de forma longitudinal. O comprimento dos sintomas observados no córtex, acima e abaixo do ponto de inoculação, foi medido com régua. O percentual de severidade da doença foi calculado dividindo-se o comprimento da lesão nos tecidos internos do caule (cm) por sua altura total (cm), ou seja, do nível do solo até o meristema apical e multiplicando-se por 100, de acordo com equação proposta por Oliveira (2010).

$$S(\%) = \left(\frac{CL}{HP} \right) * 100$$

Sendo:

S (%) = severidade

CL = comprimento da lesão;

HP = altura da planta.

3.5 Análises estatísticas

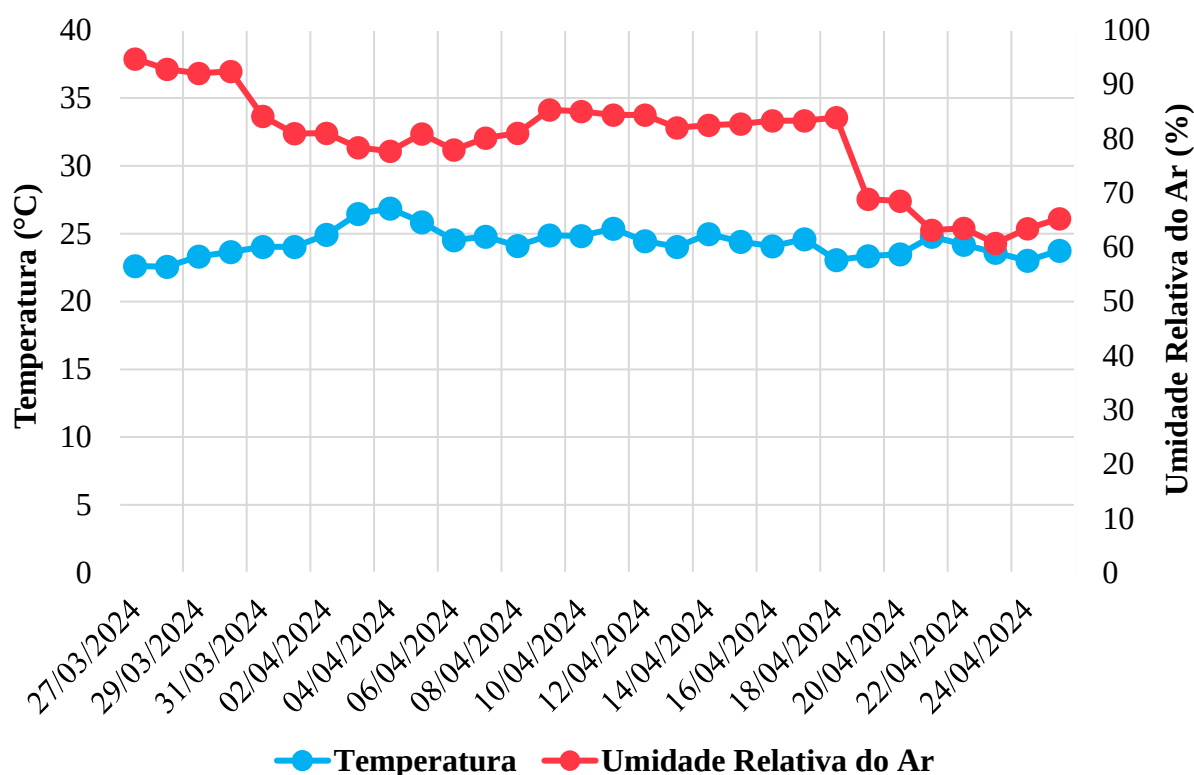
Os experimentos foram implantados duas vezes, ou seja, repetidos no tempo. Sendo assim, a análise conjunta dos dados foi realizada para verificar se havia diferença entre os experimentos. Na análise conjunta dos dados, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ensaios, portanto, os dados apresentados referem-se à média dos dois experimentos (Apêndice 1, 2 e 3). Os dados obtidos foram submetidos à análise dos pressupostos da análise de variância. A normalidade e a homogeneidade foram avaliadas por testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Como os pressupostos foram atendidos, os dados não foram transformados e assim foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Quando o teste F, na ANOVA, foi significativo ($p < 0,05$), as variáveis amostradas foram submetidas ao teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$) (Jelihovschi; Faria; Allaman, 2014) ou por contraste ortogonal com o tratamento adicional. Todas as análises estatísticas foram realizadas no

software R v. 4.2.2 (Development Core Team, 2022), utilizando os pacotes Agricolae (De Mendiburu, 2023) e ExpDes.pt (Ferreira *et al.*, 2014).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura da casa de vegetação variou entre 22,6 e 26,9 °C, com média de 24,3°C, enquanto a umidade relativa do ar foi de 60,7 a 94,7%, com média de 79,5%, durante o período de realização dos experimentos (Figura 2).

Figura 2 - Médias diárias das variáveis climatológicas em casa de vegetação: temperatura e umidade relativa do ar, em casa de vegetação, no município de Lavras, MG.



Fonte: Do autor (2025).

Consequentemente, o ambiente foi favorável à infecção, pois, segundo Oliveira *et al.* (2015), o crescimento de *C. manginecans* é mais eficiente em temperaturas entre 24 e 26 °C. Enquanto seu desenvolvimento é reduzido a 15 °C e inexistente a 4 °C, 10 °C ou 35 °C (Tarigan *et al.*, 2011a). Além da temperatura, a umidade relativa do ar também desempenhou um papel importante, pois, de acordo com Mafía *et al.* (2011), níveis de umidade próximos ou superiores a 80% são ideais para protocolos de identificação de fontes de resistência a doenças causadas por *C. manginecans*. Essas condições não apenas favorecem o desenvolvimento do patógeno e a expressão dos sintomas, mas também permitem a manifestação dos mecanismos de resistência constitutivos ou induzidos, resultantes da resistência intrínseca de cada material genético, garantindo uma avaliação precisa de seu comportamento frente à infecção.

4.1 Severidade

Houve diferença significativa ($p < 0,001$) para o contraste tratamento adicional (sem o inóculo) vs fatorial para a variável severidade, ou seja, não ocorreu sintomas de descoloração interna do córtex do caule nas plantas do tratamento adicional, na qual houve somente a aplicação de água destilada esterilizada no ferimento do caule (Tabela 1).

Tabela 1 - Severidade (%) de *C. manginecans* em mudas de cultivares de café arábica em função dos diferentes métodos de inoculação.

Métodos de inoculação	Cultivares			
	Catuaí Vermelho IAC 144	Catuaí Vermelho IAC 99	Catuaí Amarelo 24/137	Mundo Novo IAC 379/19
Gota com ferimento	17,19 aA*	14,81 aB	17,65 aA	10,4 aC
Disco micelial com ferimento	15,71 bA	14,82 aA	14,69 bA	9,97 aB
Aspersão com ferimento	16,64 aA	14,86 aB	14,9 bB	11,15 aC
Aspersão sem ferimento	0,00 cA	0,00 bA	0,00 cA	0,00 bA
Tratamento adicional	0,00***			
Coefficiente de variação (%)	6,86			

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si no teste de agrupamento de Scott-Knott ($p < 0,05$).

*** Contraste do tratamento adicional com o fatorial ($p < 0,001$).

Fonte: Do autor (2025).

Ocorreu interação significativa ($p < 0,05$) entre as cultivares e os métodos de inoculação para a variável severidade, portanto, realizou-se o desdobramento entre os fatores (Apêndice 4). Os métodos com ferimentos foram os de maior eficiência. Sendo a maior porcentagem de severidade observada nos métodos de inoculação por deposição de gota de suspensão de esporos, com valores variando de 10,40 a 17,19%, e por aspersão de suspensão de esporos, com variação de 11,15 a 16,64% (Tabela 1). A inoculação com disco micelial resultou em severidade significativamente menor, variando de 9,97 a 14,69% (Tabela 1). Além disso, nas mudas inoculadas por aspersão de suspensão de esporos, sem a realização de fermentos no caule, não foram observados sintomas de descoloração interna do córtex do caule. Em relação às cultivares, a maior porcentagem de severidade foi observada na cultivar Catuaí Vermelho IAC 144, com valores variando de 15,71 a 17,19% (Tabela 1). Em contraste, a cultivar Mundo Novo IAC 379/19 apresentou a menor severidade, variando de 9,97 a 10,40% (Tabela 1). A infecção por *C. manginecans* nas cultivares inoculadas foi confirmada utilizando iscas de cenoura,

preparadas com amostras de tecido do caule das plantas avaliadas (Moller; Devay, 1968). Este é o primeiro relato da suscetibilidade de novas cultivares de café arábica ao fungo *C. manginecans* (Almeida *et al.*, 2024).

Ou seja, os ferimentos são necessários para a infecção de *C. manginecans* no cafeeiro e o progresso dos sintomas, explicando a maior severidade observada nas metodologias com essa técnica (Tabela 1). Nesse sentido, Harrington (2013), afirma a necessidade de ferimentos no hospedeiro, pois, as espécies de *Ceratocystis* infectam preferencialmente por ferimentos. Essas lesões, frequentemente causadas por atividades humanas, como a poda, a capina ou a colheita mecanizada, podem criar pontos de entrada, facilitando a penetração e o estabelecimento do patógeno nos tecidos do hospedeiro (Cassol *et al.*, 2025; Harrington, 2007; Tarigan *et al.*, 2011b). Nesse sentido, muitas dessas operações são comuns no cultivo de manga (*M. indica*) (Oliveira *et al.*, 2016), acácia (*Acacia* spp.) (Syazwan *et al.*, 2021), erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (Santos *et al.*, 2018) e teca (*T. grandis*) (Seta *et al.*, 2021), culturas nas quais a infecção por espécies de *Ceratocystis* também é frequente.

Na cafeicultura, essas práticas culturais são amplamente utilizadas para manter a produtividade da lavoura, controlar pragas, doenças, renovar plantas, remover ervas daninhas e otimizar a colheita (Thomaziello, 2013). Segundo Almeida *et al.* (2024), os ferimentos ocasionados durante operações de poda, colheita mecanizada ou capina estão associados à transmissão de *C. manginecans* em cafeeiros infectados no oeste da Bahia. A mortalidade das plantas tendeu a ocorrer dentro da mesma linha de plantio, similar ao padrão de transmissão observado em plantações de eucalipto afetadas por murcha de *Ceratocystis* (Ferreira *et al.*, 2011). Nessa área não foi observado a presença de besouros de ambrosia, reconhecidos como importantes vetores no transporte de esporos do fungo para plantas saudáveis recém-feridas. Nesse sentido, os ferimentos frescos gerados por práticas culturais ou por colheita mecanizada tornam-se locais propícios para a entrada do patógeno em cafeeiros no campo. Dessa forma, a proteção desses ferimentos, seja com a aplicação de fungicidas ou de outras barreiras protetoras, surge como estratégia potencialmente eficaz de controle de *C. manginecans* no cafeeiro (Cassol *et al.*, 2024; Cassol *et al.*, 2025; Harrington, 2013; Muquessuane, 2024). Até o momento, estudos detalhados sobre a formulação de estratégias de manejo para *C. manginecans* em cafeeiros, incluindo fungicidas, agentes de controle biológico, nanopartículas metálicas, indutores de resistência, entre outros, permanecem em andamento, destacando a necessidade de avanços nessa área (Muquessuane, 2024).

Nesse contexto, os resultados desse trabalho permitiram estabelecer novo protocolo de inoculação para avaliar a resistência de cultivares de café e a eficácia de produtos como

fungicidas, agentes de controle biológico, indutores de resistência a *C. manginecans*. O protocolo é composto por três etapas principais: *i*) inoculação de mudas com até um ano de idade, utilizando-se um ferimento prévio no caule, seguido da aplicação de 500 µL da suspensão de esporos ($2,5 \times 10^6$ esporos/mL⁻¹) com o uso de pipeta automática; *ii*) incubação das plantas em casa de vegetação por 30 dias e *iii*) avaliação da severidade, com a medição do comprimento da lesão nos tecidos internos do caule, tanto acima quanto abaixo do ponto de inoculação. Entre as principais vantagens desse método, destaca-se sua alta padronização e reprodutibilidade. A aplicação de quantidades específicas de esporos e o uso de um método de inoculação uniforme garantem a replicabilidade das condições experimentais, permitindo comparações consistentes entre diferentes experimentos e amostras. Essa padronização é essencial para reduzir variações indesejadas e aumentar a confiabilidade dos resultados. Ademais, a eficácia do método deve-se principalmente ao fungo ser inserido diretamente na planta, através de uma lesão, facilitando a infecção e colonização do patógeno na planta e reduzindo o tempo para o aparecimento dos primeiros sintomas (Nogueira *et al.*, 2019).

Além de ser prático e eficiente, o protocolo de inoculação apresenta vantagens significativas, pois utiliza mudas com até um ano de idade, facilitando o manuseio em ambientes controlados, como casas de vegetação. A aplicação precisa da suspensão de esporos em um único ferimento no caule reduz a variação na severidade da doença, assegurando a penetração eficiente do patógeno e otimizando o uso de tempo e recursos. A padronização da aplicação (500 µL) minimiza possíveis discrepâncias na concentração do inóculo, tornando o método mais reprodutível. Além disso, o período de incubação relativamente curto, de apenas 30 dias, contribui para a agilidade do processo, permitindo a obtenção de resultados em tempo hábil para programas de melhoramento genético ou estudos de patogenicidade. Além disso, a medição do comprimento das lesões nos tecidos internos fornece um indicador direto da interação planta-patógeno, facilitando a classificação de resistência ou suscetibilidade. Outro ponto relevante, o protocolo proposto se assemelha às condições naturais de infecção, fortalecendo sua aplicabilidade prática (Almeida *et al.*, 2024).

A eficácia desse método já foi demonstrada em diferentes estudos. Oliveira *et al.* (2015), o utilizaram para avaliar a resposta de clones de *Eucalyptus* spp. à infecção por isolados de *C. manginecans*, verificando a capacidade dos isolados em causar a doença em todos os clones testados. Nas plantas inoculadas, em relação à testemunha ocorreram sintomas típicos da infecção, como lesões escuras estendendo-se longitudinalmente e radialmente no caule, progredindo para murcha, seca e morte da planta. Esse resultado evidenciou a eficiência do método de inoculação na indução dos sintomas característicos da doença, permitindo uma

avaliação precisa da agressividade dos isolados e da resistência dos clones. De forma semelhante, Pimenta *et al.* (2017), usaram esse método para estudar respostas fisiológicas de clones de *Eucalyptus* spp. resistentes e suscetíveis. Os clones resistentes apresentaram maior acúmulo de açúcares solúveis, reforço na lignificação e ativação precoce de enzimas de defesa, como polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD), enquanto os suscetíveis mostraram respostas tardias e menos intensas. Além disso, os resistentes acumularam mais compostos fenólicos, como ácido clorogênico e cafeico, essenciais na defesa contra o patógeno. Esse mecanismo de defesa baseado na produção de compostos fenólicos também foi observado na cultura da mangueira. Araujo *et al.* (2014a), ao avaliarem a suscetibilidade de diferentes cultivares de manga a *C. manginecans*, indicaram a resistência das plantas ao patógeno está diretamente relacionada à capacidade de acumular esses metabólitos secundários em resposta à infecção fúngica. Esses compostos desempenham um papel fundamental ao inibir o crescimento do fungo e promover a obstrução dos vasos, limitando assim a progressão da doença.

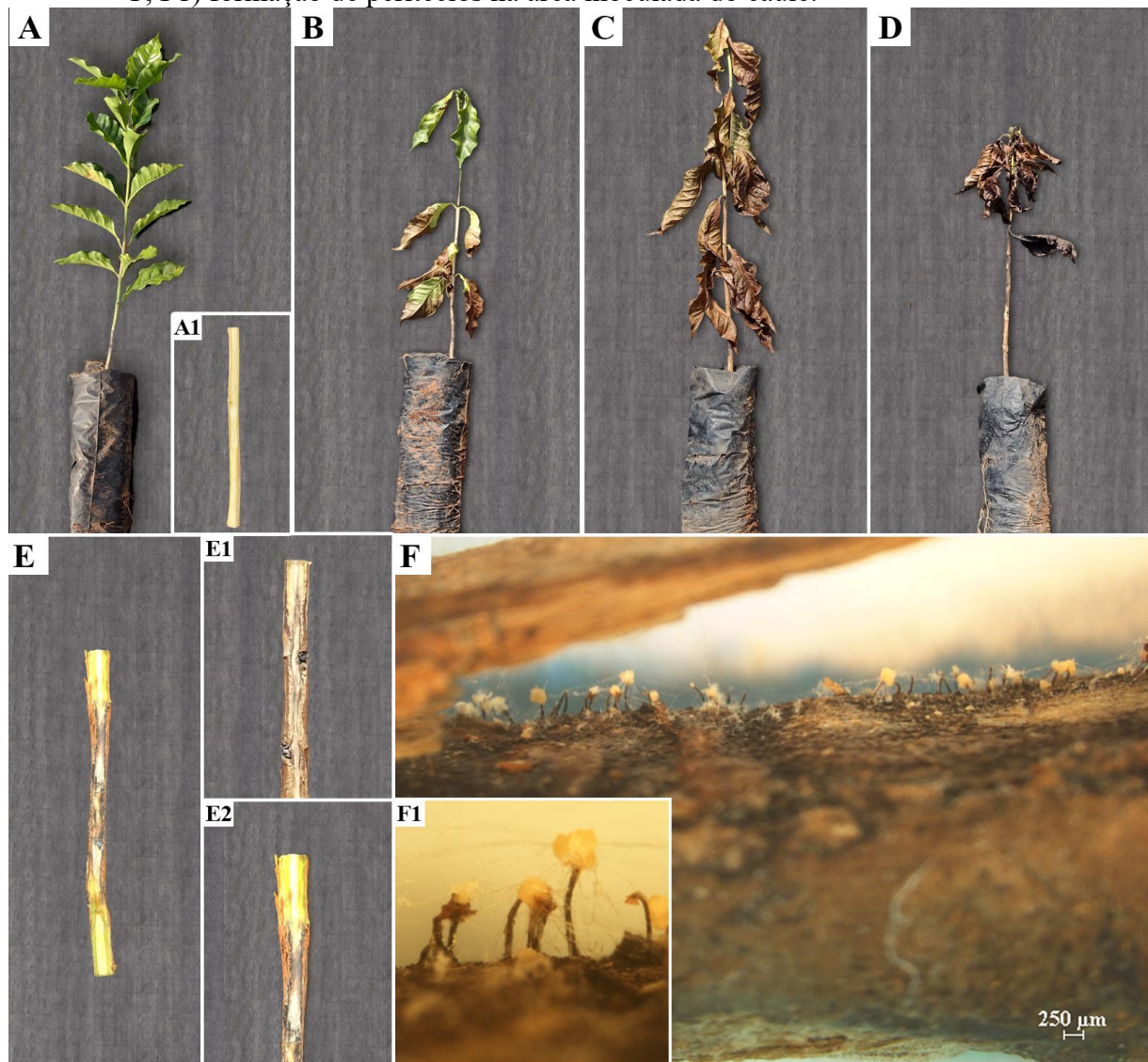
Valdetaro *et al.* (2015), ao estudarem mudas de seringueira, Piveta *et al.* (2016), em pesquisas com mudas de kiwi, e Méndez-Álvarez *et al.* (2023), ao avaliarem a resistência de genótipos de *Gmelina arborea*, também obtiveram sucesso com esse método. Em todos esses casos, a aplicação de 500 μL da suspensão de esporos do fungo, na concentração de $2,5 \times 10^6$ esporos/ mL^{-1} , mostrou-se eficaz na indução da doença, permitindo a avaliação tanto da suscetibilidade quanto da resistência das plantas. Esses resultados reforçam a confiabilidade do protocolo para diferentes culturas, destacando seu potencial como ferramenta para programas de melhoramento genético do cafeeiro, com a aplicação padronizada de inóculo com essa concentração se mostrando eficiente não apenas para avaliar a patogenicidade, mas também para determinar a resistência das plantas. Até o momento, esse é o primeiro estudo a avaliar a eficiência de métodos de inoculação de *C. manginecans* em mudas de diferentes cultivares de café arábica, representando avanço significativo no entendimento da interação entre o patógeno e essa cultura.

4.2 Sintomatologia

Não foram observados sintomas típicos causados por *C. manginecans* em mudas inoculadas por aspersão de suspensão de esporos sem ferimento no caule, nem em plantas do tratamento adicional (Figura 3A, A1). Em contraste, os métodos de inoculação envolvendo ferimento no caule resultaram no desenvolvimento de sintomas da doença em todas as cultivares testadas, 30 dias após a inoculação. Os primeiros sintomas visuais de amarelecimento das folhas foram observados após 17 dias da inoculação (Figura 3B). Com o avanço do tempo,

aos 19 dias, esses sintomas progrediram para o início de murcha e enrolamento das folhas (Figura 3C). Aos 25 dias, constatou-se a seca e morte generalizada desses ramos e folhas, de forma progressiva, com aumento da velocidade de aparecimento dos sintomas, dependendo da extensão das lesões internas (Figura 3D). Além dos sintomas visíveis, também foram detectados sintomas internos, como a descoloração do córtex do caule em sentido longitudinal, visível em cortes transversais durante a avaliação da severidade (Figura 3E, E2). Também houve a formação de sintomas de cancro (Figura 3E, E1) e peritécios sob a área inoculada do caule (Figura 3F, F1).

Figura 3 - Sintomas causados com a inoculação de *Ceratocystis manginecans* em mudas de café arábica. A, A1) tratamento adicional (sem o inóculo); B) amarelecimento foliar; C) murcha e enrolamento das folhas; D) seca generalizada e morte de ramos e folhas; E, E2) descoloração interna do córtex do caule em corte longitudinal; E1) cancro e F, F1) formação de peritécios na área inoculada do caule.



Fonte: Do autor (2025).

Podridão nas raízes e caules, murcha vascular, descoloração interna dos tecidos vasculares e formação de cancos são sintomas característicos de infecção por espécies do gênero *Ceratocystis* (Da Silva *et al.*, 2018, Harrington, 2013). A murcha repentina das folhas é o primeiro sintoma visível relacionado à murcha vascular (Figura 3C). Esse processo pode ser desencadeado por diferentes fatores, sendo a interrupção na translocação de água no xilema a principal causa. A colonização dos vasos do xilema por patógenos compromete a integridade do sistema de transporte de seiva bruta, bloqueando o fluxo normal de água e nutrientes das raízes para a parte aérea da planta (Araujo *et al.*, 2014; Tumura; De Pieri; Furtado, 2012). Esse colapso vascular resulta em desidratação severa, culminando na morte da planta (Figura 3D). Em alguns casos, o estresse hídrico em plantas infectadas por *C. manginecans* pode ocorrer como resultado do crescimento de hifas do patógeno ou produção de esporo, nestes casos a presença dessas estruturas no interior dos vasos acaba por obstruir as perfurações existentes nos elementos traqueais. Além disso, o estresse também pode ser atribuído ao incremento da viscosidade da seiva, provocado devido a ação enzimática sobre os componentes dos tecidos do xilema (Araujo *et al.*, 2014; Firmino *et al.*, 2018; Pascholati *et al.*, 2008).

Nas infecções por espécies de *Ceratocystis*, a descoloração interna do córtex do caule, visível em direção longitudinal, ocorre devido à desintegração do sistema vascular da planta (Da Silva *et al.*, 2018; Ferreira; Milani, 2002). Essa característica de descoloração torna-se evidente quando o ramo afetado é seccionado verticalmente (Figura 3E, E2). A descoloração dos vasos inicia-se no ponto onde os esporos invadiram o tecido recentemente ferido. Esses esporos germinam rapidamente, colonizando tanto o xilema quanto o floema e absorvendo nutrientes do parênquima do xilema (Araujo *et al.*, 2014). Firmino *et al.* (2013) demonstraram, utilizando microscopia eletrônica de varredura, a capacidade do fungo de germinar, penetrar e se desenvolver nos elementos de vasos de plantas em um período de seis horas. Após doze horas da inoculação, observa-se o aumento significativo na quantidade de micélio. Segundo os autores, a descoloração é causada devido à combinação de produtos químicos de resposta do hospedeiro e à pigmentação dos esporos e hifas de *C. manginecans*. Presentes no cilindro vascular, as hifas do fungo migram para o câmbio e a casca interna, resultando na morte desses tecidos e na formação de sintomas de cancro (Araujo *et al.*, 2014; Harrington, 2013; Nasution *et al.*, 2019; Tumura; De Pieri; Furtado, 2012).

Além disso, os resultados obtidos neste estudo corroboram com os sintomas descritos por Almeida *et al.* (2024), que relataram a ocorrência de *C. manginecans* causando cancro e morte de plantas de *C. arabica*. Assim como observado no presente experimento, os autores destacaram o amarelecimento e morte das folhas, bem como a presença de cancro no caule,

descoloração interna do córtex do caule e necrose, os quais progrediram até a morte de ramos ou do tronco principal. A semelhança entre os sintomas externos, como o amarelecimento foliar, murcha e morte de ramos e internos, como a descoloração vascular e formação de peritécios na região do cancro reforça a consistência dos métodos de inoculação com ferimento no caule como representativos da patogenicidade de *C. manginecans* em cafeeiro *C. arabica*.

5 CONCLUSÕES

A infecção de *C. manginecans* no cafeeiro depende de ferimentos.

A aplicação de 500 µL de suspensão de esporos, na concentração de $2,5 \times 10^6$ esporos/mL⁻¹ destacou-se como o método de inoculação mais eficiente, rápido e prático de ser executado.

A cultivar Mundo Novo IAC 379/19 apresentou os menores índices de severidade.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5. ed. London, England: Academic Press Inc. (London), 2005. p. 922.
- AL ADAWI, A. O. *et al.* *Ceratocystis manginecans* associated with a serious wilt disease of two native legume trees in Oman and Pakistan. **Australasian Plant Pathology**, v. 42, n. 2, p. 179–193, 2013.
- ALFENAS, A. C. *et al.* Isolamento de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. (Ed.). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. p. 382.
- ALMEIDA, K. A. *et al.* First Report of *Ceratocystis manginecans* Causing Cankers and Death of *Coffea arabica* in Brazil. **Plant Disease**, v. 108, n. 5, p. 1399, 2024.
- ANGELOTTI, F.; GHINI, R.; BETTIOL, W. Como o aumento da temperatura interfere nas doenças de plantas? **Australasian Plant Pathology**, 2017.
- ANJOS, I. V. D. *et al.* Application of near-infrared reflectance spectroscopy for predicting damage severity in a diverse panel of *Tectona grandis* caused by *Ceratocystis fimbriata*. **Plants**, v. 12, n. 14, p. 2734, 2023.
- ARAÚJO, L. *et al.* Histopathological aspects of mango resistance to the infection process of *Ceratocystis fimbriata*. **Plant Pathology**, v. 63, n. 6, p. 1282–1295, 2014a.
- ARAÚJO, L. *et al.* Resistance in mango against infection by *Ceratocystis fimbriata*. **Phytopathology**, v. 104, n. 8, p. 820–833, 2014b.
- ARRUDA, S. C. Murcha (*Ceratostomella*) da mangueira, rubelose da jabuticabeira e carvão da tamareira. **O Biológico**, São Paulo, v. 6, n. 10, p. 310–311, 1940.
- BAKER, C. J. *et al.* Genetic variability and host specialization in the Latin American clade of *Ceratocystis fimbriata*. **Phytopathology**, v. 93, n. 10, p. 1274–1284, 2003.
- BELAN, L. L. *et al.* Occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* in coffee seeds. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 07, p. 1015–1021, 2016.
- BRAWNER, J. T. *et al.* Evaluating the inheritance of *Ceratocystis acaciivora* symptom expression in a diverse *Acacia mangium* breeding population. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 77, n. 1, p. 83–90, 2015.
- BRAWNER, J. T. *et al.* Screening clonally replicated *Acacia mangium* breeding populations for tolerance to *Ceratocystis* canker and wilt disease. **Tree Genetics & Genomes**, v. 18, n. 2, p. 17, 2022.
- BRITO, R. A. S. *et al.* *Trichoderma* species show biocontrol potential against *Ceratocystis* wilt in mango plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 158, n. 3, p. 781–788, 2020.
- CARVALHO, M. B. Sobre dois insetos nocivos à mangueira. **Boletim da Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio, Pernambuco**, v. 3, n. 2, p. 130–132, 1938.
- CASSOL, S. A. *et al.* Are fungicides effective in protecting pruning wounds against *Ceratocystis* wilt on kiwifruit vines? **Tropical Plant Pathology**, v. 49, n. 3, p. 459–465, 2024.
- CASSOL, S. A. *et al.* Limited Effectiveness of Conventional Sanitisers and Hot Water as an Alternative for Preventing the Spread of *Ceratocystis fimbriata* via Tools. **Journal of Phytopathology**, v. 173, n. 1, p. e70011, 2025.

CASTRO CAICEDO, B. L. *et al.* New coffee (*Coffea arabica*) genotypes derived from *Coffea canephora* exhibiting high levels of resistance to leaf rust and *Ceratocystis* canker. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 6, p. 485–494, 2013.

CHI, N. M. *et al.* Disease resistance of eucalypt clones to *Ceratocystis manginecans*. **Journal of Tropical Forest Science**, v. 35, n. 1, p. 1-9, 2023.

COLARES, M. R. N. **Modelagem de perdas de produtividade do cafeeiro relacionada à ferrugem**. 2018. 87 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café**, Brasília, DF, v.11, n. 4, quarto levantamento, janeiro 2025. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 31 jan. 2025

DA SILVA, A. C. *et al.* Eucalypt plants are physiologically and metabolically affected by infection with *Ceratocystis fimbriata*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 123, p. 170–179, 2018.

DA SILVA, A. C. *et al.* First Report of *Ceratocystis* Wilt Caused by *Ceratocystis fimbriata* on *Caryocar brasiliense* Trees in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 10, p. 1822–1822, 2017.

DE ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M. L. R.; SILVA, H. M. Ocorrência do mofo cinzento (*Ceratocystis fimbriata*) da seringueira. In: **Seminário Nacional da Seringueira**. Cuiabá, MS, 1972. p. 125–128.

DE MELO, M. P. *et al.* Two new *Ceratobasidium* species causing white thread blight on tropical plants in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 6, p. 559–571, 2018.

DE MENDIBURU, F. agricolae tutorial (Version 1.3-7). Universidad Nacional Agraria: La Molina, Peru, 2023.

DOS SANTOS, A. F. *et al.* First report of yerba mate wilt caused by *Ceratocystis fimbriata* in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 11, p. 2381–2381, 2018.

DOS SANTOS, E. *et al.* Selection of cacao trees resistant to *Ceratocystis* wilt by inoculation in leaf discs and field. **Tropical Plant Pathology**, v. 46, n. 5, p. 536–544, 2021.

ECHANDI, E. La Quema de los cafetos causada por *Phoma costarricensis* n. sp. **Revista de Biología Tropical**, v. 5, n. 1, p. 81–102, 1957.

FATEH, F. S. *et al.* *Ceratocystis fimbriata* isolated from vascular bundles of declining mango trees in Sindh, Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 1257, 2006.

FERNANDES, F. M. *et al.* Chromosomal polymorphism of the *Ceratocystis fimbriata* species complex in Brazil. **Fungal Genetics and Biology: FG & B**, v. 162, n. 103728, p. 103728, 2022.

FERNANDES, F. M. *et al.* Genetically differentiated populations of *Ceratocystis fimbriata* species complex points to host specialization in Brazil. **Plant Pathology**, v. 73, n. 7, p. 1823–1836, 2024.

FERREIRA, E. B. *et al.* ExpDes: an R package for ANOVA and experimental designs. **Applied Mathematics**, v. 5, n. 19, p. 2952, 2014.

FERREIRA, F. A. *et al.* Murcha de *Ceratocystis* em eucalipto no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, n. Supl, p. 284, 1999.

- FERREIRA, F. A. *et al.* Sintomatologia da murcha de *Ceratocystis fimbriata* em eucalipto. **Revista Árvore**, v. 30, n. 2, p. 155–162, 2006.
- FERREIRA, F. A. **Etiologia da murcha de *Ceratocystis fimbriata* em eucalipto no Brasil**. 2004. 68 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.
- FERREIRA, F. A.; MILANI, D. Diagnose visual e controle das doenças abióticas e bióticas do eucalipto no Brasil. Mogi Guaçu, SP. **International Paper**, p. 104, 2002.
- FERREIRA, M. A. *et al.* Genetic variability suggests that three populations of *Ceratocystis fimbriata* are responsible for the Ceratocystis wilt epidemic on kiwifruit in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 2, p. 86–95, 2017.
- FERREIRA, M. A. *et al.* Movimentação de genótipos de *Ceratocystis fimbriata* dentro e entre plantações de eucalipto no Brasil. **Fitopatologia**, v. 101, n. 8, p. 1005-1012, 2011.
- FERREIRA, M. A.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. *Ceratocystis fimbriata* em espécies florestais e agronômicas no Brasil. **Patologia florestal: desafios e perspectivas**. 1ed. São Carlos: Suprema Gráfica e Editora, p. 75-101, 2013.
- FIRMINO, A. C. *et al.* Análise histológica de plantas de eucalipto resistentes e suscetíveis inoculadas com *Ceratocystis fimbriata*. **Scientia Forestalis**, v. 46, n. 118, 2018.
- FIRMINO, A. C. *et al.* Resistência de genótipos de eucalipto a *Ceratocystis* spp. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, p. 165-173, 2013.
- FIRMINO, A. C.; TOZZE JR, H. J.; FURTADO, E. L. First report of *Ceratocystis fimbriata* causing wilt in *Tectona grandis* in Brazil. **New Disease Reports**, v. 25, n. 24, p. 2044-0588, 2012.
- FOURIE, A. *et al.* Molecular markers delimit cryptic species in *Ceratocystis* sensu stricto. **Mycological Progress**, v. 14, n. 1, p. 1-18, 2015.
- GOMES, C. A. F. C. *et al.* Inoculação de *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted em *Eucalyptus* spp. e avaliação da diversidade genética por marcadores ISSR. **Scientia Forestalis**, v. 47, n. 123, p. 579-587, 2019.
- HALFELD-VIEIRA, B. A. *et al.* First record of *Ceratocystis fimbriata* on *Carapa guianensis*. **New Disease Reports**, v. 26, n. 1, p. 13–13, 2012.
- HARRINGTON, T. C. Ceratocystis diseases. In: **Infectious Forest Diseases**. UK: CABI, 2013. p. 230–255.
- HARRINGTON, T. C. *et al.* An expanded concept of *Ceratocystis manginecans* and five new species in the Latin American clade of *Ceratocystis*. **Mycologia**, v. 116, n. 1, p. 184–212, 2024.
- HARRINGTON, T. C. The genus *Ceratocystis*. where does the oak wilt fungus fit? In: BILLINGS, R. F.; APPEL, D. N. (Eds.). **Proceedings of the 2nd National Oak Wilt Symposium**. vol. 166, pp. 21-35. USDA Forest Service, Forest Health Protection, Austin, Texas, 2009.
- HARRINGTON, T. C.; BAKER, C. J.; ALFENAS, A. C. Host specialization of *Ceratocystis fimbriata* in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 383, 2001.
- JELIHOVSCHI, E.; FARIA, J. C.; ALLAMAN, I. B. ScottKnott: A package for performing the Scott-Knott clustering algorithm in R. **TEMA. Tendencias em Matemática Aplicada e Computacional**, v. 15, n. 1, p. 3-17, 2014.

- LAIA, M. L., ALFENAS, A. C.; HARRINGTON, T. C. Isolation, detection in soil, and inoculation of *Ceratocystis fimbriata*, causal agent of wilting, die-back and canker in *Eucalyptus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 384. 2000.
- MAFIA, R. G. *et al.* Método de seleção e identificação de fontes de resistência à murcha do eucalipto causada por *Ceratocystis fimbriata*. **Revista Árvore**, v. 35, n. 4, p. 817–824, 2011.
- MAGALHÃES, L. *et al.* DIVERSIDADE PATOGÊNICA DE ISOLADOS DE *Ceratocystis cacaofunesta* NA REGIÃO CACAUEIRA DA BAHIA. **Agrotropica**, v. 31, n. 1, p. 27–36, 2019.
- MARIN, M. *et al.* Relationships of *Ceratocystis fimbriata* isolates from Colombian coffee-growing regions based on molecular data and pathogenicity. **Journal of Phytopathology**, v. 151, n. 7-8, p. 395-405, 2003.
- MÉNDEZ-ÁLVAREZ, D. *et al.* First report of *Ceratocystis fimbriata* causing wilt on *Gmelina arborea* in Costa Rica. **Forest Pathology**, v. 50, n. 5, p. 12628, 2020.
- MÉNDEZ-ÁLVAREZ, D. *et al.* Genetic resistance to *Ceratocystis fimbriata* in elite genotypes of *Gmelina arborea*. **Agronomía Mesoamericana**, v. 34, n. 3, 2023.
- MOLLER, W. J.; DEVAY, J. E. Carrot as a species-selective isolation medium for *Ceratocystis fimbriata*. **Phytopathology**, v. 58, p. 123–124, 1968.
- MUCHOVEJ, J. J. *et al.* *Gmelina arborea*: a new host of *Ceratocystis fimbriata*. **Plant Disease Reporter**, v. 62, n. 8, p. 717-719, 1978.
- MUQUESSUANE, C. A. **Seleção in vitro de nanopartículas, óleos essenciais e fungicidas para o controle de *Ceratocystis manginecans***. 2024. 85 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2024.
- NASUTION, A. *et al.* Ceratocystis wilt and canker—a disease that compromises the growing of commercial Acacia-based plantations in the tropics. **Australian Forestry**, v. 82, n. sup1, p. 80-93, 2019.
- NASUTION, A. *et al.* Phyllode inoculation provides a rapid protocol for preliminary screening of *Acacia* species for tolerance to *Ceratocystis* wilt and canker disease. **European Journal of Plant Pathology**, v. 163, n. 2, p. 321–339, 2022.
- NOGUEIRA, G. DE A. *et al.* Métodos de inoculação de *Fusarium solani* e *Sclerotium rolfsii* em meloeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 45, n. 1, p. 59–63, 2019.
- OLIVEIRA, L. S. S. **Agressividade de isolados de *Ceratocystis fimbriata* em clones de *Eucalyptus* spp.** 2010. 26 p. Dissertação (Mestrado em Etiologia; Epidemiologia; Controle) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.
- OLIVEIRA, L. S. S. *et al.* Aggressiveness, cultural characteristics and genetic variation of *Ceratocystis fimbriata* on *Eucalyptus* spp. **Forest Pathology**, v. 45, n. 6, p. 505-514, 2015.
- OLIVEIRA, L. S. S. *et al.* *Ceratocystis fimbriata* isolates on *Mangifera indica* have different levels of aggressiveness. **European Journal of Plant Pathology**, v. 145, n. 4, p. 847–856, 2016.
- OLIVEIRA, L. S. S. *et al.* Resistance of kiwifruit cultivars to ceratocystis wilt: An approach considering the genetic diversity and variation in aggressiveness of the pathogen. **Plant Pathology**, v. 70, n. 2, p. 349–357, 2021.

- PASCHOLATI, S. F. *et al.* **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular.** Piracicaba: Fealq, 2008. v. 1. 627 p.
- PIMENTA, L. *et al.* Physiological responses of *Eucalyptus* spp. hybrids to infection by *Ceratocystis fimbriata*. **Forest Pathology**, v. 47, n. 4, p. e12336, 2017.
- PIVETA, G. *et al.* *Ceratocystis fimbriata* on kiwifruit (*Actinidia* spp.) in Brazil. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 44, n. 1, p. 13-24, 2016.
- PIVETA, G. *et al.* Ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* em kiwi (*Actinidia deliciosa*) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 665-669, 2013.
- POZZA, E. A. Diagnóstico e controle de doenças. In.: CARVALHO, G.R et al. (Ed.). **Cafeicultura do cerrado.** Belo Horizonte: EPAMIG, p. 349-429, 2021.
- POZZA, E. A.; CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. Sintomas de injúrias causadas por doenças em cafeeiro. In: GUIMARAES, R. J; MENDES, A. N. G; BALIZA, D. P. (Ed.). **Semiologia do cafeeiro: sintomas de desordens nutricionais, fitossanitárias e fisiológicas.** Editora UFLA, p. 69–101, 2010.
- POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A. Coffee plant diseases affected by nutritional balance. **Coffee Science - ISSN 1984-3909, [S. l.]**, v. 18, p. e182086, 2023.
- PRATAMA, R. *et al.* First report of characterisation and pathogenicity of bullet wood (*Mimusops elengi*) sudden decline disease by *Ceratocystis* in Indonesia. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 22, n. 5, 2021.
- R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- RIBEIRO, I. J. A. *et al.* Gomose da acácia-negra causada por *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst. **Bragantia: Boletim Técnico do Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo**, v. 47, n. 1, p. 71–74, 1988.
- RIBEIRO, I. J. A. *et al.* Mango wilt.Xiv selection of mango (*Mangifera indica* L.) rootstocks resistant to the mango wilt fungus *Ceratocystis fimbriata* ell & halst. **Acta Horticulturae**, n. 370, p. 159–166, 1995.
- SANTOS, Á. F. dos.; FERREIRA, F. A. Murcha-de-Ceratocystis em Acácia-Negra no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 3, p. 325–325, 2003.
- SETA, G. W. *et al.* Impact of thinning and pruning on tree growth, stress wave velocity, and pilodyn penetration response of clonal teak (*Tectona grandis*) plantation. **Forest Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 57-66, 2021.
- SILVEIRA, A. P. *et al.* Caracterização do prejuízo provocado pelo mofo cinzento (*Ceratocystis fimbriata*) em painéis de seringueira (*Hevea brasiliensis*). **Summa Phytopathologica**, v. 20, p. 196-199, 1994.
- SILVEIRA, A. P. *et al.* Ocorrência e controle químico do mofo cinzento (*Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst.) da seringueira. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 10, p. 281, 1985.
- SILVEIRA, S. F. *et al.* *Annona squamosa*, a new host of *Ceratocystis fimbriata*. **Fitopatologia brasileira**, v. 31, n. 4, p. 394–397, 2006.
- SIVIERO, A. *et al.* Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* em plântulas e plantas jovens de citros. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 6, p. 574–580, 2002.

- SONEGO, O. R. *et al.* Primeiro relato da murcha-de-ceratocystis em kiwi. **Trop Plant Pathol**, v. 35, p. S233, 2010.
- SOUZA, A. G. C. *et al.* First report on the association between *Ceratocystis fimbriata*, an agent of mango wilt, *Xyleborus affinis*, and the sawdust produced during beetle colonization in Brazil. **Plant Disease**, v. 97, n. 8, p. 1116, 2013.
- SYAZWAN, S. A. *et al.* Survey, identification, and pathogenicity of *Ceratocystis fimbriata* complex associated with wilt disease on *Acacia mangium* in Malaysia. **Forests**, v. 12, n. 12, p. 1782, 2021.
- TARIGAN, M. *et al.* A new wilt and die-back disease of *Acacia mangium* associated with *Ceratocystis manginecans* and *C. acaciivora* sp. nov. in Indonesia. **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 2, p. 292–304, 2011a.
- TARIGAN, M. *et al.* Pruning quality affects infection of *Acacia mangium* and *A. crassicarpa* by *Ceratocystis acaciivora* and *Lasiodiplodia theobromae*. **Southern Forests**, v. 73, n. 3–4, p. 187–191, 2011b.
- THOMAZIELLO, R. A. Uso da poda no cafeeiro: por que, quando e tipos utilizados. **Visão agrícola**, v. 1, p. 1-4, 2013.
- TRAN, T. T. T. *et al.* Control of *Ceratocystis manginecans* causing wilt disease on *Acacia mangium* seedlings. **Australasian Plant Pathology**, v. 47, n. 6, p. 579–586, 2018.
- TRANG, T. T. *et al.* First report of canker and wilt disease in eucalypt caused by *Ceratocystis manginecans* in Vietnam. **Indian Phytopathology**, v. 75, n. 1, p. 287–291, 2022.
- TUMURA, K. G.; DE PIERI, C.; FURTADO, E. L. Murcha por *Ceratocystis* em eucalipto: avaliação de resistência e análise epidemiológica. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 54–60, 2012.
- VALARINI, P. J.; TOKESHI, H. *Ceratocystis fimbriata*, causal agent of fig dieback, and its control. **Summa Phytopathologica**, v. 6, p. 102–106, 1980.
- VALDETARO, D. C. O. F. *et al.* A host specialized form of *Ceratocystis fimbriata* causes seed and seedling blight on native *Carapa guianensis* (andiroba) in Amazonian rainforests. **Fungal Biology**, v. 123, n. 2, p. 170–182, 2019.
- VALDETARO, D. C. O. F. *et al.* Genetic variation, morphology and pathogenicity of *Ceratocystis fimbriata* on *Hevea brasiliensis* in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 40, n. 3, p. 184–192, 2015.
- VAN WYK, M. *et al.* *Ceratocystis manginecans* sp. nov., causal agent of a destructive mango wilt disease in Oman and Pakistan. **Fungal Divers**, v. 27, p. 213–230, 2007.
- VAN WYK, M. *et al.* New *Ceratocystis* species infecting coffee, cacao, citrus and native trees in Colombia. **Fungal Diversity**, v. 40, n. 1, p. 103–117, 2010.
- VIÉGAS, A. P. Seca da mangueira. **Bragantia**, v. 19, p. 162–182, 1960.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Experimento 1: Análise de variância para a severidade de *C. manginecans* em mudas de cultivares de café arábica, inoculadas utilizando-se diferentes metodologias.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	5,37081	1,79027	2,3515	0,084 ^{ns}
Método	3	2577,72799	859,24266	1128,585	<0,001 ***
Cultivar	3	197,59735	65,86578	86,5124	<0,001 ***
Método*Cultivar	9	89,96554	9,99617	13,1296	<0,001 ***
Adicional vs Fatorial	1	449,49629	449,49629	590,3975	<0,001 ***
Resíduo	48	36,54457	0,76135		
Total	67	3356,70255			
CV (%)	8,48				
Shapiro-Wilk	0,49				

Apêndice 2 - Experimento 2: Análise de variância para a severidade de *C. manginecans* em mudas de cultivares de café arábica, inoculadas utilizando-se diferentes metodologias.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	5,58002	1,86001	2,9082	0,044 *
Método	3	2442,56207	814,18736	1273,017	<0,001 ***
Cultivar	3	194,40184	64,80061	101,3185	<0,001 ***
Método*Cultivar	9	94,37797	10,48644	16,396	<0,001 ***
Adicional vs Fatorial	1	430,32281	430,32281	672,8282	<0,001 ***
Resíduo	48	30,69951	0,63957		
Total	67	3197,94421			
CV (%)	7,95				
Shapiro-Wilk	0,35				

Apêndice 3 - Análise conjunta de dois experimentos repetidos ao longo do tempo para a severidade de *C. manginecans* em mudas de cultivares de café arábica, inoculadas utilizando-se diferentes metodologias.

	GL	SQ	QM	F (value)	p>F
Tratamento	3	5008,7212	1669,5737	296,0503	<0,001
Experimento	1	1,766	1,776	0,3149	0,5758 ^{ns}
Tratamento/Experimento	3	115689	3,8563	0,6838	0,5637 ^{ns}
Experimento/Bloco	6	11,6353	1,9392	0,3439	0,9122 ^{ns}
Resíduo	114	642,9023	5,6395		
Total	127	5676,6037	1682,7847		

Apêndice 4 - Análise de variância para a severidade de *C. manginecans* em mudas de cultivares de café arábica, inoculadas utilizando-se diferentes metodologias.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	3	2,66433	0,88811	1,8225	0,1556 ^{ns}
Método	3	2504,36058	834,78686	1713,0771	<0,001 ***

Cultivar	3	195,30113	65,10038	133,5933	<0,001 ***
Método*Cultivar	9	81,92103	9,10234	18,679	<0,001 ***
Adicional vs Fatorial	1	439,85731	439,85731	902,637	<0,001 ***
Resíduo	48	23,39052	0,4873		
Total	67	3247,49492			
CV(%)	6,86				
Shapiro - Wilk	0,21				