

Estado da publicação: O preprint não foi publicado em outro meio.

# Adaptabilidade fisiológica de *Lasiodiplodia* spp. da aceroleira em uma região semiárida

Catarina Oliveira Dourado, Alexandre Sandri Capucho, Leonardo Aparecido Brandão da Silva, Gustavo Rodrigues Coelho, Francine Hiromi Ishikawa

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.14376>

Submetido em: 2025-12-01

Postado em: 2025-12-04 (versão 1)

(AAAA-MM-DD)

## **Adaptabilidade fisiológica de *Lasiodiplodia* spp. da aceroleira em uma região semiárida**

Dourado, Catarina Oliveira<sup>1</sup>

[cat.dourado@gmail.com](mailto:cat.dourado@gmail.com)

<https://orcid.org/0009-0002-4579-6930>

Capucho, Alexandre Sandri<sup>1</sup>

[alexandre.capucho@univasf.com.br](mailto:alexandre.capucho@univasf.com.br)

<https://orcid.org/0000-0003-1002-9969>

da Silva, Leonardo Aparecido Brandão<sup>1</sup>

[plant.pathology321@gmail.com](mailto:plant.pathology321@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0002-5032-1967>

Coelho, Gustavo Rodrigues<sup>1</sup>

[gustavorodc@gmail.com](mailto:gustavorodc@gmail.com)

<https://orcid.org/0000-0001-7682-4717>

Ishikawa, Francine Hiromi<sup>1</sup>

[francine.hiromi@univasf.com.br](mailto:francine.hiromi@univasf.com.br)

<https://orcid.org/0000-0002-7491-2657>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Vale do São Francisco - Centro de Ciências Agrárias

### **Resumo**

A morte descendente causada por fungos do gênero *Lasiodiplodia* é uma importante doença da aceroleira na região semiárida do Brasil. Informações sobre a influência de fungicidas em espécies de *Lasiodiplodia* da aceroleira é desconhecido. Sendo assim a DE50 (dose efetiva para reduzir o crescimento micelial em 50% de sete espécies de *Lasiodiplodia* foi estimada *in vitro* para o fungicida tiofanato metílico. A temperatura ótima salinidade e componentes de adaptabilidade, também foram mensuradas para as espécies. A DE50 para o

fungicida MBC variou de 0,742 a 2,702  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Dentre as sete espécies estudadas, a *L. pseudotheobromae* e *L. iraniensis*, apresentaram maior sensibilidade ao tiofanato metílico, seguidos por *L. brasiliense*, *L. gonubiensis*, *L. euphorbicola* e *L. hormozganensis*, que numa escala relativa de sensibilidade são as espécies moderadamente sensíveis e, por fim, *L. theobromae* foi a espécie menos sensível ao fungicida. Em temperaturas extremas (10 e 40°C) as espécies de *Lasiodiplodia* não se desenvolveram. A temperatura ótima para o crescimento micelial das espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleira foi 25,3°C. Para a espécie *L. brasiliense*, houve indicação de custos de adaptabilidade. Essa espécie, moderadamente sensível ao tiofanato metílico, apresentou maior crescimento micelial em condições de alto estresse salino. As demais espécies não apresentaram custos de adaptação.

**Palavras-chave:** Botryosphaeriaceae, *fitness*, *Malpighia emarginata*, tiofanato metílico

Physiological Adaptability of *Lasiodiplodia* spp. from Acerola in a Semi-Arid Region

Abstract

Drop dieback caused by fungi of the genus *Lasiodiplodia* is an important disease of acerola in the semi-arid region of Brazil. Information on the influence of fungicides on *Lasiodiplodia* species of acerola is unknown. Thus, the ED50 (effective dose to reduce mycelial growth by 50%) of seven *Lasiodiplodia* species was estimated in vitro for the fungicide thiophanate-methyl. The optimal temperature, salinity, and adaptability components were also measured for the species. The ED50 for the MBC fungicide ranged from 0.742 to 2.702  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Among the seven species studied, *L. pseudotheobromae* and *L. iraniensis* showed the greatest sensitivity to thiophanate-methyl, followed by *L. brasiliense*, *L. gonubiensis*, *L. euphorbicola*, and *L. hormozganensis*, which, on a relative scale of sensitivity, are moderately sensitive species, and finally, *L. theobromae* was the least sensitive species to the fungicide. At extreme temperatures (10 and

40°C), the *Lasiodiplodia* species did not develop. The optimal temperature for mycelial growth of the *Lasiodiplodia* species was... The temperature of *Lasiodiplodia* isolated from acerola trees was 25.3°C. For the species \**L. brasiliense*\*, there was an indication of adaptability costs. This species, moderately sensitive to thiophanate-methyl, showed greater mycelial growth under high saline stress conditions. The other species did not show adaptation costs.

Keywords: Botryosphaeriaceae, fitness, \**Malpighia emarginata*\*, thiophanate-methyl

## 1. Introdução

O gênero *Lasiodiplodia*, um dos causadores da morte descendente da aceroleira, compreende mais de 40 espécies conhecidas, dos quais sete delas foram relatadas em aceroleira pela primeira vez em 2017 em pomares comerciais no Nordeste Brasileiro (CABRAL, 2017). Espécies deste gênero apresentam hospedeiros lenhosos de importância agrícola (CROUS, 2017), causando uma ampla gama de sintomas, incluindo sintomas externos como cancrios de ramos, clorose, resinose e sintomas internos como estriamento negro em tecidos condutores (ÚRBEZ-TORREZ, 2012).

A expressão desses fungos é geralmente associada ou desencadeada por condições de estresse (CROUS, 2017; MEHL, 2016), associada à mudança climática e ações antrópicas, gerando cada vez mais impactos na agricultura (ZLATICOVIC, 2016). Modelos de mudança climática, salinização de solos por água de irrigação e o uso limitado de princípios ativos de fungicidas estão associados aos fatores de estresse que, juntamente com a pressão biológica nestes patógenos, podem desencadear uma epidemia de doenças no campo (ARNOLD, 2003; SLIPPERS, 2007).

A adaptabilidade ou fitness de fitopatógenos pode ser definida como a habilidade relativa de um patógeno sobreviver e se reproduzir em um período de tempo e exposto a um determinado ambiente (HARTEVEL, 2014). Nesse contexto, as mutações associadas a resistência a fungicidas é amplamente dependente da aptidão ao estresse ambiental, visto que afeta a dinâmica da

competição entre resistência e sensibilidade implicando assim no manejo da doença (KARAOGLANADIS, 2011; PARNELL, 2005). A evolução da resistência a fungicidas é diminuída se as subpopulações apresentarem menor aptidão saprofítica (HARTVEL, 2014).

Uma série de fatores pode levar a resultados desfavoráveis quando doenças são tratadas com fungicidas, tais como pulverização inadequada, erros de dosagem e condições climáticas desfavoráveis (PEREIRA, 2012). Um dos fatores mais incômodos é a perda de eficácia, o que leva a resistência do patógenos a um fungicida com específico modo de ação (MILGROOM, 2015). No Brasil, há apenas três fungicidas registrados para a cultura da aceroleira, um a base de boscalida (anilida), o segundo por uma mistura de boscalida (anilida) + cresoxim-metílico (estrobilurina) e o terceiro uma mistura de tiofanato-metílico e fluazinam. Todos estes fungicidas apresentam modo de ação específico, como a inibição da respiração celular, a mitose e divisão celular na célula do fungo (AGROFIT, 2019). Estudos *in vitro* avaliaram a eficácia de fungicidas no manejo de *Lasiodiplodia* (AL-JABRI, 2017; CAVALCANTE, 2014; PEREIRA, 2012; VIEIRA, 2017), no entanto não há estudos de avaliação de fungicidas de espécies de Botryosphaeriaceae de aceroleira.

A capacidade destes fungos de infectarem múltiplos hospedeiros aumenta a ameaça que eles representam como potenciais patógenos de importância econômica e ecológica, podendo algumas espécies desses fungos estarem associadas a diferentes culturas que estejam instaladas a uma distância relativamente próxima uma da outra (MEHL, 2016).

O desenvolvimento de estratégias que garantam a durabilidade de resistência de um hospedeiro a um fitopatógeno aborda questões relacionadas à adaptação a um novo ambiente (FOURNET, 2012). De fato, para parasitas altamente especializados, como a *Lasiodiplodia*, a composição genética das cultivares representa um fator ambiental essencial para a adaptação (THANGAVELU, 2007).

Apesar da abundância das informações sobre as consequências diretas de seleção de plantas hospedeiras resistentes a populações de parasitas, pouco se sabe sobre sua consequência na escala intra-espécies e inter-espécies, ou seja, em termos adaptação específica do genótipo e patogenicidade cruzada (FOURNET, 2012).

Alguns estudos apontam espécies de *Lasiodiplodia* infectando e causando danos em manga, videira, cajueiro, maracujazeiro, coco e aceroleira no nordeste brasileiro (MARQUES, 2013; CORREIA, 2016; NETTO, 2018; LIMA, 2012; PEREIRA, 2006). A espécie *L. theobromae* tem sido relatada e associada a morte descendente da aceroleira (LIMA, 2012), entretanto, a mangueira e a videira se destacam como as principais frutíferas acometidas por este grupo de fungos na região (MARQUES, 2013; CORREIA, 2016). Os objetivos deste estudo foram (i) determinar a sensibilidade de sete espécies de *Lasiodiplodia* ao fungicida tiofanato metílico e (ii) avaliar os componentes de adaptabilidade, temperatura e salinidade para essas espécies fúngicas.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Espécies de *Lasiodiplodia***

Sete isolados *Lasiodiplodia* coletados de pomares de aceroleira foram usados neste estudo (Tabela 1). As espécies foram determinadas por inferências filogenéticas baseadas sequências parciais do gene do fator 1- $\alpha$  de alongação (EF1- $\alpha$ ) e espaço interno do transcrito (ITS) como descrito por Cabral (2017). Os isolados foram mantidos na coleção de cultura fitopatogênica do Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal do Vale do São Francisco. Culturas para uso foram armazenadas em tubos de ensaio contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) inclinado e mantido a 25 °C no escuro.

Inicialmente, a patogenicidade das espécies foi restaurada pela inoculação pelo método do corte em mudas de aceroleira cv. Junco. Após o aparecimento dos sintomas, fragmentos do caule foram usados para reisolar cada espécie do patógeno em meio BDA nas mesmas condições de incubação.

### **2.2 Sensibilidade a tiofanato metílico**

Um produto comercial a base de apenas tiofanato metílico (Support, 500 g/L do ingrediente ativo) foi usado para quantificar a sensibilidade das espécies de *Lasiodiplodia*. O fungicida foi adicionado ao meio de cultura BDA fundente a 45°C. As concentrações avaliadas foram 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 3,0 e 10,0  $\mu\text{g}$  de ingrediente ativo (i.a.) mL<sup>-1</sup>. Discos de micélio de 4,76 mm de diâmetro foram retirados da margem da colônia de cada espécie com 7 dias de

crescimento em BDA no escuro a 25 °C e transferidos para o centro de placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo BDA suplementado com cada dose do fungicida. As placas foram incubadas a 25°C no escuro até as avaliações. Placas de Petri contendo BDA sem as alíquotas do fungicida foram utilizadas como testemunha.

### **2.3 Temperatura**

Os sete isolados de *Lasiodiplodia* foram utilizados para avaliar o efeito da temperatura no crescimento do fungo in vitro. Os discos de micélio de 4,76 mm foram retirados de bordas de placas de Petri com 7 dias de incubação a 25 °C no escuro. Posteriormente, cada espécie foi transferida para o centro de placas contendo BDA e incubadas sob as temperaturas 10, 15, 20, 25, 30 e 40°C.

### **2.4 Sensibilidade osmótica**

A sensibilidade osmótica foi avaliada por meio do crescimento micelial dos fungos em meio BDA, nas mesmas condições do experimento anterior, contendo diferentes concentrações de NaCl no meio. Da mesma forma que o experimento anterior, discos de micélio foram retirados das margens de culturas aos 7 dias de incubação de cada espécie e transferidos para o centro de placas de Petri de 9 cm de diâmetro suplementados com 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 e 8,0% de (peso/volume) de NaCl. Placas de Petri contendo BDA sem NaCl foram utilizadas como testemunha.

### **2.4 Análises Estatísticas**

Para cada avaliação de crescimento micelial das componentes de adaptabilidade, o experimento foi repetido duas vezes, em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema fatorial, com 5 repetições. A unidade experimental foi constituída de uma placa de Petri, contendo cada combinação concentração-fungo para cada componente de adaptabilidade avaliada. Para componente sensibilidade ao tiofanato metílico, o fator 1 consistiu das oito concentrações de fungicida, obtidas a partir da utilização de alíquotas

do produto comercial, e o fator 2 consistiu do crescimento micelial das sete espécies de *Lasiodiplodia* (Tabela 1). Para a componente temperatura, o fator 1 consistiu das incubações em oito temperaturas diferentes e o fator 2, do crescimento micelial das sete espécies de *Lasiodiplodia*. Para avaliação da sensibilidade osmótica o fator 1 consistiu em sete concentrações de NaCl e o fator 2, do crescimento micelial das sete espécies de *Lasiodiplodia*.

Para todas as variáveis analisadas, o diâmetro das colônias foi mensurado, em duas posições perpendiculares, imediatamente quando o diâmetro de alguma das espécies fúngicas em estudo alcançou 75% do diâmetro da placa, descontando-se o diâmetro inicial do disco de micélio.

Gráficos de dispersão, relacionando crescimento micelial e concentração do ingrediente ativo dos fungicidas, crescimento micelial e faixas de temperatura, crescimento micelial e concentração de NaCl, foram realizados. As funções de regressão foram ajustadas para determinar a concentração de fungicida necessária para inibir 50% do crescimento micelial (DE<sub>50</sub>) e para determinar a concentração salina para inibir 50% do crescimento micelial (NaCl<sub>50</sub>). Este procedimento foi realizado para cada espécie fúngica. Os gráficos e regressões foram realizados com o auxílio do programa SigmaPlot 10.0.

Os dados de diâmetro das colônias relacionados ao crescimento micelial referente à sensibilidade ao tiofanato metílico e DE<sub>50</sub>, temperatura, sensibilidade osmótica e NaCl<sub>50</sub> foram submetidos ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov), análise de variância (ANOVA) e agrupamento de médias (Scott-Knott,  $\alpha=0,05$ ) com o auxílio do programa Sisvar versão 5.4 (FERREIRA, 2014). Com base nos valores da DE<sub>50</sub>, as espécies fúngicas foram agrupadas como sensíveis, moderadamente sensíveis e pouco sensíveis ao fungicida, bem como para a determinação dos valores da NaCl<sub>50</sub> referente à sensibilidade osmótica.

**Tabela 1:** Lista de espécies de *Lasiodiplodia* de pomares de acerola utilizados neste estudo

Espécie	Origem	Localização	Cv.	M.	Hospedeiros	Referência
			<i>emarginata</i>	<i>a</i>		

Comum

<i>L. pseudotheobromae</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho-N2-Petrolina-PE	9°21'21,5"S e 40°34'16,2"W		<i>Acacia, Citrus; Coffea</i> ; <i>Rosa</i> , rambutã, longan, manga, videira, espada-de-são-jorge, laranja ( <i>C. sinensis</i> ), manga, caju, cajá, mamão, uva.	ALVES, 2008; ABDOLLAZADEH, 2010; BURGUES, 2018; KEE, 2018; PHILLIPS, 2013; MACHADO, 2019; LI, 2019; SERRATO-DIAZ, 2019; COUTINHO, 2017; MARQUES, 2013; NETTO, 2017 MACHADO, 2014
<i>L. gonubiensis</i>	Campus da UEL Londrina-PR	23°20'19,2"S e 51°12'41"W	Valéria	<i>S. cordatum</i> , caju, <i>A. smithii</i> , laranja	PAVLIC, 2004; NETTO, 2018 TAN, 2018
<i>L. euphorbicola</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho-N9-Petrolina-PE	9°21'21,5"S e 40°34'16,2"W	Costa Rica	pinhão manso ( <i>J. curcas</i> ), caju, videira, fruta-de-palma ( <i>N. cochenilifera</i> )	CORREIA, 2015; MACHADO, 2014; NETTO, 2017; CONFORTO, 2019
<i>L. theobromae</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho-N11-Petrolina-PE	9°16'31,5"S e 40°34'48,9"W	Okinawa	manga, mamão, coco, cajueiro, kiwi, cajá, uva, limão-tahiti ( <i>C. latifolia</i> )	ABDOLLAZADEH, 2010; COSTA, 2010; SAKALIDIS, 2011; ISMAIL, 2012; NI, 2012; MARQUES, 2013; AL-SADI, 2013; TRAKUNYINGCHARO EN, 2014; RODRIGUEZ-GALVEZ, 2017; MUNIRAH, 2017; AL-JABRI, 2017;(NETTO, 2014) ROSADO, 2016;(ZHOU, 2015)(RODRIGUEZ-GALVEZ, 2015; CORREIA, 2016, NETTO, 2017
<i>L. hormozganensis</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho-N9-	9°15'16,5"S e 40°25'42,3"W	Flor Branca	espada-de-são-jorge, beringela ( <i>S. melongena</i> ), mamão, manga, anonáceas	ABDOLLAZADEH, 2010; BURGUES, 2018; FAYETTE, 2019; KEE, 2018; SERRATO-DIAZ 2019; COSTA,

	Petrolina- PE				2010; MACHADO, 2014; MACHADO, 2019; MARQUES, 2013
<i>L. iraniensis</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho- N7- Petrolina- PE	917'38,4''S e 40°29'52,9''W	Junco	manga, juglan, limão- tahiti, macadamia, limão (Citrus lemon), blueberry, acácia, rambutã e espada-de- são-jorge (S. <i>trifasciata</i> ), mangueira, cajueiro, videira, fruta-de- palma, anonáceas	ABDOLLAHZADEH, 2010; BAUTISTA- CRUZ, 2019 JAMI, 2019; KEE, 2018; LIDLE, 2019; SERRATO-DIAZ, 2019 CORREIA, 2016; FEIJO, 2019; NETTO, 2014; NETTO, 2018; MACHADO, 2019; MARQUES, 2013
<i>L. brasiliense</i>	Perímetro Irrigado Sen. Nilo Coelho- N7- Petrolina- PE	17'38,4''S e 40°29'52,9''W	Costa Rica	Uva, espada-de-são- jorge, algodão, limão- tahiti, caju, manga,caja, maçã.	NETTO, 2014 CORREIA, 2016; MACHADO, 2019; MARTINS, 2018; NETTO, 2014; BURGUESS, 2018; URBÉZ-TÓRREZ, 2011 BURGUESS, 2018; TAN, 2018 BAUTISTA- CRUZ, 2019

### 3. Resultados e Discussão

Este é o primeiro estudo de sensibilidade a fungicida de isolados de *Lasiodiplodia* provenientes de aceroleira. Os isolados de *Lasiodiplodia* estudados apresentaram diferenças significativas na sensibilidade ao tiofanato metílico (Figura 1). Com relação à DE<sub>50</sub>, os valores variaram de 0,742 a 2,702 µg/mL (Figura 2). Para esta variável também houve diferenças significativas entre as sete espécies de *Lasiodiplodia* estudadas. Como esperado, com o aumento da concentração do ingrediente ativo fungicida no meio de cultura, houve uma redução no crescimento micelial *in vitro* dos fungos estudados. A dose recomendada para uso em campo do produto comercial Support (500 g. L<sup>-1</sup> i.a.) foi incluída nos tratamentos avaliados.

Baseado nesses resultados, os isolados *L. pseudotheobromae* e *L. iraniensis*, apresentam maior sensibilidade ao tiofanato metílico, seguidos de *L. brasiliense*, *L. gonubiensis*, *L. euphorbicola* e *L. hormozganensis*, que em uma escala relativa de sensibilidade foram as espécies moderadamente sensíveis, e *L. theobromae* foi a espécie menos sensível ao fungicida. Essas diferenças na sensibilidade podem estar associadas a uma característica natural das espécies/isolados ou eles foram provenientes de uma população que desenvolveu resistência ao fungicida.

Analisando os isolados *L. pseudotheobromae*, *L. iraniensis* e *L. hormozganensis* observa-se que as duas primeiras apresentaram menores DE<sub>50</sub>, com valores abaixo de 0,882 µg/mL. Cabral (2017), trabalhando com os mesmos isolados fúngicos, observou que a primeira espécie foi a mais frequente nas amostragens do patógeno em aceroleiras em campo, correspondendo a 33% dos isolados coletados na cultura. O fato de a cultura não demandar frequentes pulverizações com fungicidas pode nos levar a acreditar que este menor valor de DE<sub>50</sub> contribuiu para o aumento da frequência dessa espécie sensível no campo de cultivo.

As três espécies mencionadas anteriormente também foram avaliadas na cultura da mangueira e o maior valor de DE<sub>50</sub> foi de 2,82 µg/mL (DOS SANTOS et al., 2018). Considerando que o uso de fungicidas, inclusive do grupo benzimidazol, é mais comum na cultura da mangueira em relação à aceroleira, é esperada que a sensibilidade associada a isolados da aceroleira correspondem a uma característica natural dos mesmos devido a não aplicação de fungicidas na cultura e, conseqüentemente, a não exposição ao princípio ativo.

*L. theobromae* apresentou DE<sub>50</sub> de 2,702 µg/mL. Esse valor apenas coloca este isolado na posição menos sensível em relação aos demais em estudo, mas, não é um valor capaz de classificar o isolado como não sensível ao princípio ativo. Na região do Submédio do Vale do São Francisco, esta espécie já foi relatada em mamoeiro (CAVALCANTE et al., 2014), mangueira (DOS SANTOS et al., 2018), bananeira (VIEIRA et al., 2017) e videira (PEIXINHO, 2008). Cavalcante et al. (2014) encontraram, em pomares de mamoeiro que se fazem o uso intensivo de fungicidas, isolados de *L. theobromae* com faixa de DE<sub>50</sub> de 0,88 a 496,51 µg/mL. Considerando que esta espécie é sabidamente

capaz de infectar uma alta gama de hospedeiros (>500 espécies), pode estar ocorrendo o fenômeno de salto de hospedeiros, ou seja, provavelmente o isolado coletado de aceroleira anteriormente infectava outro hospedeiro em que é comum o uso intensivo de fungicidas, como na cultura da videira e mangueira. Assim, este isolado poderia já ter submetido a uma grande exposição ao princípio ativo testado.

Esta hipótese é reforçada pela característica dos plantios da região, em que as lavouras de diferentes hospedeiros são muito próximas entre si. Este fato já foi comprovado para outros patossistemas, como *Phytophthora infestans* na cultura da batata e *Magnaporthe oryzae* na cultura do arroz (STUKENBROCK & MCDONALD, 2008). Assim, é importante a realização de estudos complementares para comprovar a ocorrência do salto de hospedeiros neste patossistema.

A análise dos valores de DE50 nos permite inferir que as espécies estudadas apresentam diferenças na sensibilidade ao tiofanato metílico. Assim, há necessidade de se determinar qual espécie fúngica está no campo causando danos, para que haja um manejo de fungicidas mais eficiente na cultura.

Independente da espécie de *Lasiodiplodia* que está ocorrendo na lavoura, seria recomendado um cuidado no uso de fungicidas de um mesmo ingrediente ativo, uma vez que já há relatos de mutação de ponto simples no gene da  $\beta$ -tubulina, como no códon 198, o que torna a patógeno resistente a benzimidazóis, como o tiofanato metílico (DOS SANTOS et al., 2018). Esta resistência está associada a alelos resistentes que são frequentemente raros ou inexistentes em populações de fungos antes do uso de um determinado fungicida, mas pode surgir após a alta exposição a fungicidas.

Apesar de pouco frequente a utilização de fungicidas para o manejo de Botryosphaeriaceae em aceroleira, na região do Submédio São Francisco são utilizados os fungicidas DMI-Inibidores da demetilação, Carboxamidas, Benzimidazóis e Tiofanatos (Tabela 2). Estes mesmos fungicidas são amplamente utilizados para o manejo de outras frutíferas (DOS, SANTOS; PEREIRA, 2012; CAVALCANTE, 2014) o que reforça mais ainda a hipótese o fenômeno de salto de hospedeiros.

**Tabela 2:** Principais fungicidas utilizados por produtores no Sumédio do São Francisco para o manejo de *Lasiodiplodia* em pomares de aceroleira.

Ingrediente ativo	Grupo Químico	Modo de ação/ Sítio <sup>ab</sup>
Difenoconazol	Metil-benzimidazol carbamato	Mitose e divisão celular/montagem de $\beta$ - tubulina
	Triazol	Biossíntese de esteróides da membrana/ demetilação-C14 na biossíntese de esteróis (erg11/cyp51)
Carbedazim	Metil-benzimidazol carbamato	Mitose e divisão celular/montagem de $\beta$ - tubulina
Iprodiona	Dicarboxamida	Biossíntese de esteróides da membrana/ NADH citcromo c redutas na peroxidação de lipídeos
Tiofanato metílico	Metil-benzimidazol carbamato	Mitose e divisão celular/montagem de $\beta$ - tubulina

Vale ressaltar que seis das sete espécies avaliadas neste estudo foram recém-identificadas causando morte descendente em aceroleira (CABRAL, 2017). Outros estudos recentes também identificaram essas espécies em outras culturas. Há relatos recentes de *L. brasiliense* em macieiras, no Ceará (MARTINS, 2018). Cardoso et al. (2017) relataram o primeiro caso desta espécie fúngica causando podridão pós-colheita em frutos de pinha (*Annona squamosa*). Coutinho et al. (2017) identificaram *L. brasiliense*, além de *L. euphorbicola*, *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae* e *L. gonubiensis* causando gomose e morte descendente em anonáceas, caju, sapoti, tamarindo, pitomba e em anacardiáceas. Os autores indicaram a ocorrência do fenômeno do salto de hospedeiros entre as espécies fúngicas estudadas no presente trabalho, porém em outros hospedeiros.

Em relação ao componente de adaptabilidade temperatura, todas as espécies apresentaram um padrão quadrático de crescimento (Figura 3) em que, nas temperaturas extremas (10 e 40°C), não houve crescimento micelial dos fungos. Para 25% das espécies foi observado maior crescimento micelial apenas na temperatura de 20°C. Para 50% das espécies, o maior crescimento micelial ocorreu em 25 e 30°C. Em 12,5% das espécies, o maior crescimento micelial, estatisticamente, foi em 20, 25 e 30°C. A faixa temperatura ideal (Tabela 3) obtida pela derivada das equações de regressão dos fungos, está entre 23,91 e 25,81°C. Essa faixa de temperatura ótima está relacionada à faixa de temperatura média anual referente à região em que esses isolados foram coletados, em torno de 25 °C a 28°C (POSSAS, 2012).

Zhou (2019) verificou que isolados de *Lasiodiplodia* sp. obtidos de *blueberry* obtiveram a temperatura de crescimento ótimo 30,3 °C e crescimento micelial a 40°C, indicando que altas temperaturas favorecem o desenvolvimento deste gênero. Foi observado também para espécies de Botryosphaeriaceae por Netto (2017), *Neofusicocum batangarum* (27,9°C), *Pseudofusicocum stromaticum* (27,9° C), *L. brasiliense* (31,2 °C) e *L. jatrophiicola* (31,0 °C), indicando a predominância dessas espécies em climas tropicais e subtropicais, em altas temperaturas e umidade relativa. Há relato que a componente de adaptabilidade temperatura pode afetar a sua morfologia por induzir modificações na estrutura intracelular (SONGY, 2019)

Em relação ao componente de adaptabilidade salinidade, o crescimento micelial *in vitro* para as sete espécies foi máximo na ausência de sal no meio de cultura. Como previsto, com o aumento das concentrações salinas no meio, esse crescimento reduziu significativamente. Houve espécies que apresentaram relativo crescimento na presença de até 2% de NaCl. Um exemplo foi *L. hormozganensis* que apresentou reduzido crescimento naquela concentração, aumentando 24,64% na ausência de NaCl (Figura 4). Para espécies sensíveis, como *L. pseudotheobromae*, esse valor foi de 10,86%.

Um total de 87,5% das espécies apresentou diferenças significativas entre as concentrações de 0% e 1%, sendo apenas a espécie *L. euphorbicola* a que não diferiu em crescimento micelial entre essas faixas de NaCl no meio. A espécie *L. gonubiensis* não apresentou crescimento micelial a partir de 6% de NaCl no meio de cultura.

A espécie *L. brasiliense* demonstrou uma alta adaptabilidade relativa (em relação à testemunha) à presença de sal no meio de cultura, pois necessitou de cerca de 2,3% de NaCl no meio para reduzir seu crescimento micelial em 50% (NaCl<sub>50</sub>) (Figura 5). Esse valor é cerca de 153% maior em relação a espécie com o segundo maior valor. Já *L. pseudotheobromae* e *L. iraniensis* foram as espécies mais sensíveis à presença do sal no meio, reduzindo o NaCl<sub>50</sub> na presença de apenas 0,5% de NaCl no meio de cultura. *L. pseudotheobromae* não apresentou diferenças significativas entre as concentrações a partir de 6%. Isso demonstra que o ambiente ausente em salinidade promove melhores condições para o crescimento desta espécie. À medida que o sal aumenta de concentração no meio, o crescimento micelial diminui. O mesmo ocorreu para *L.*

*hormozganensis*, a partir dos tratamentos de 3% de NaCl; e para *L. iraniensis* nas concentrações a partir de 4%; e para *L. theobromae* e *L. brasiliensis* nas concentrações a partir de 5%.

Resultados semelhantes foram encontrados por Arafat et al. (2013) que estudaram o efeito da salinidade da água de irrigação na redução do crescimento de *L. theobromae*. Os autores identificaram que a concentração de sal capaz de elevar a condutividade elétrica da água de irrigação para 15,63 dS/m<sup>2</sup> (quantidade correspondente à concentração de 1% de NaCl) foi capaz de reduzir o crescimento do fungo em 17,03%. No presente trabalho, a redução foi de 40,93%, entretanto o nosso experimento foi *in vitro*.

Um estudo de Fujimira et al. (2015) mostrou que espécies fúngicas que apresentam certa resistência ao estresse hídrico apresentam uma mutação de ponto na proteína histidina quinase. Este trabalho foi realizado com isolados de *Botryosphaeriaceae* resistentes a dicarboximidas. Os autores provaram que a mutação induz o acúmulo de glicerol em resposta ao estresse hídrico (dos SANTOS, 2018). Isso demonstra que condições até mesmo adversas para a planta podem ser favoráveis ao crescimento do fungo previamente associado à planta sob estresse (Lima et al, 2013).

Componentes de adaptabilidade, como taxa de crescimento micelial e virulência podem refletir o potencial patogênico dos isolados para se reproduzir, disseminar e estabelecer novas infecções e é utilizado para prever o desenvolvimento de resistência e para determinar estratégias de manejo da doença (BRENT, 2007; ISHI, 2015). As espécies em questão não apresentaram custos de adaptabilidade em relação à sensibilidade ao tiofanato metílico, entretanto, a espécie *L. brasiliense*, moderadamente sensível ao fungicida, apresentou maior crescimento micelial em alta concentração salina. Dos Santos et al. (2018) demonstraram que essa capacidade de crescer sob estresse salino é um fenômeno característico em *Botryosphaeriaceae*.

#### **4. Conclusões**

O tiofanato metílico foi capaz de inibir o crescimento micelial *in vitro* das sete espécies de *Lasiodiplodia*. *L. pseudotheobromae* e *L. iraniensis* apresentam maior sensibilidade ao tiofanato metílico, enquanto *L. theobromae* foi a espécie

menos sensível ao fungicida. Em temperaturas extremas (10 e 40°C), as espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleiras não se desenvolveram. A faixa ótima média de temperatura para o crescimento micelial das espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleira foi 25,3°C. A maior concentração de NaCl no meio não foi capaz de inibir o crescimento de espécies de *Lasiodiplodia*, sendo *L. brasiliense* a espécie que apresentou menor taxa de redução de crescimento micelial em condições de alto estresse salino.

### **AUTHORSHIP CONTRIBUTION (CONTRIBUIÇÃO DE AUTORIA)**

Dourado, Catarina Oliveira: Project administration (Equal); Writing - original draft (Equal)

Capucho, Alexandre Sandri: Data curation (Equal); Resources (Equal); Software (Equal); Supervision (Equal); Validation (Equal); Visualization (Equal); Writing - original draft (Equal); Writing - review & editing (Equal)

da Silva, Leonardo Aparecido Brandão: Investigation (Supporting); Validation (Supporting); Visualization (Supporting); Writing - original draft (Equal)

Coelho, Gustavo Rodrigues: Investigation (Equal); Methodology (Supporting); Supervision (Supporting); Validation (Supporting); Writing - original draft (Equal); Writing - review & editing (Supporting)

Ishikawa, Francine Hiromi: Conceptualization (Equal); Data curation (Equal); Formal analysis (Equal); Methodology (Equal); Software (Equal); Supervision (Equal); Validation (Equal); Visualization (Equal)

### **AVAILABILITY OF DATA AND MATERIAL (declaração de disponibilidade de dados de pesquisa)**

The datasets generated and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

## FUNDING

CNPq/UNIVASF pela concessão de bolsa de IC ao primeiro autor. Este projeto foi financiado pela FACEPE e CNPq.

## CONFLICTS OF INTEREST

All authors declare that they have no conflict of interest.

## ETHICAL APPROVAL

Not applicable.

## 5. Referências

AL-JABRI, M.K.; AL-SHAILI, M.; AL-HASHMI, A.; NASEHI, A.; AL-MAHMOOLI, I.H.; AL-SADI, A. M.; Characterization and evaluation of fungicide resistance among *Lasiodiplodia theobromae* isolates associated with mango dieback in Oman. **Journal of Plant Pathology**, v. 99, n. 3, p.753-759, 2017.

ARAFAT, K. H.; MOHAMAD, A. M.; ELSHARABASY, S. Influence of environmental conditions, salinity and root exudates on incidence and disease severity of *Lasiodiplodia theobromae* that caused root rot of date palm offshoots and biocontrolling. **The Journal of Biological Chemistry**, v.8, n,1, p.73-91, 2013.

ARNOLD, A.E.; HERRE, E.A., 2003. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: Ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). **Mycologia** v.95, p.388–398, 2003.

BRENT, K.J.; HOLLOMON, D. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it crop pathogens: How Can It Be Managed? **Crop Life: International Fungicide Resistance Action Committee**.v.0, p.60, 2003.

CABRAL, P.G.; **Botryosphaeriales associated with acerola dieback in Brazil and stem-end rot, gummosis, leaf blight and dieback of ornamental, fruit and native trees cultivated near to orchards in Northeastern Brazil**. Tese Doutorado-UFV, Viçosa, 100f, 2017.

CARDOSO, J. E.; LIMA, J. S.; VIANA, F. M. P.; OOTANI, M. A.; ARAÚJO, F. S. A.; FONSECA, W. L.; LIMA, C. S.; MARTINS, M. V. V. First Report of *Lasiodiplodia brasiliensis* causing postharvest fruit rot of custard apple (*Annona squamosa*) in Brazil. **Plant disease**, v. 101, n. 8, p. 1542, 2017

CAVALCANTE, R.D.C.; GUERREIRO LIMA, W.; MARTINS, B.; TOVAR-PEDRAZA; MICHEREFF, J.; CÂMARA, M.P.S. Thiophanate-methyl sensitivity and fitness in *Lasiodiplodia theobromae* populations from papaya in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 140, p. 241-259, 2014.

CORREIA, K.C.; SILVA.; MORAIS JR, M.A.; ARMENGOL, J; PHILLIPS, A.J.L. Phylogeny, distribution and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of table grape in the main Brazilian exporting region. **Plant Pathology**, v.65, p.92–103, 2016. NETTO, M.S.B.; LIMA, W. G. Lima; CORREIA, K. C.; da SILVA, C.F.B.; THON, M.; MARTINS, R. N.G.; MICHEREFF, S.J., CÂMARA, M. Analysis of phylogeny, distribution and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with gummosis of Anacardium in Brazil, with a new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Biology**, p. 1-46, 2016. LIMA, J.S.; CARDOSO, J.E.; MOREIRA, R.C., ALVES, E.S.; MOREIRA, R.C.; ALVES, E.S. Caracterização cultural de isolados de *Lasiodiplodia theobromae* e patogenicidade em plantas de aceroleira. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n.1, p. 10, 2012.

COUTINHO; I. B. L.; FREIRE, F. C. O.; LIMA, C. S.; Lima, J. S.; GONÇALVES, F. J. T.; Machado, A. R.; Silva, A. M. S.; Cardoso, J. E. Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. **Plant Pathology**, v. 66, n. 1, 2017.

CROUS, P.W. *Botryosphaeriaceae*: Systematics, pathology, and genetics. **Fungal biology**, v.121, p. 305-306, 2017.

DOS SANTOS, K.M.; TSUJI, S.S.; CÂMARA, M.P.S.; MICHEREFF, S.J.; LOPES, U.P. Sensitivity to methyl benzimidazole carbamate fungicides of *Botryosphaeriaceae* species from mango orchards in the Northeast of Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v.153, p.209-222, 2019.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciência e Agrotecnologia*, v.38, p.109-112, 2014 <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>> Acesso em out 2019.

FUJIMURA, M.; BANNO, S.; ICHIOSHII, A.; FUKUMI, F. Histidine kinase inhibitors. In H. Ishii & D.RI. Hollomon, Fungicide resistance in plant pathogens: Principles and a guide to practical management. **Springer Japan**, p. 181–197, 2015.

ISHII,H.; HOLLOMON, D.W. Fungicide resistance in plant pathogens. **Springer**, p. 485, 2015.

KARAOGLANADIS, G. S.; LUO, Y. MICHAELIDES, T. J. Competitive ability and fitness of *Alternaria alternata* isolates resistant to QoI fungicides. **Plant Disease**, v.92, n.2, p. 178-182, 2011.

MARTINS, M. V. V.; LIMA, J. S.; HAWERROTH, F. J.; OOTANI, M. A.; ARAUJO, F. S. A.; CARDOSO, J. E.; SERRANO, L. A. L.; VIANA, F. M. P. First Report of *Lasiodiplodia brasiliense* Causing Disease in Apple Trees in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, n. 5, p. 1027, 2018.

MEHL, J.W.M.; SLIPPERS, B.; ROUX, J.; WINGFIELD, M.J. Overlap of latent pathogens in the *Botryosphaeriaceae* on a native and agricultural host. **Fungal Biology**, 2016. FOURNET, S.; KERLAN, L. R.; RENAULT, L.; DANTEC, J.P.; ROUAUX, C.; MONTARRY, J. Selection of nematodes by resistant plants has implications for local adaptation and cross-virulence. **Plant Pathology**, v.62, p.1-10, 2012.

MEHLA, J. W.; SLIPPERS, B.; ROUX, J.; WINGFIELD, J. Overlap of latent pathogens in the *Botryosphaeriaceae* on a native 1 and agricultural host. **Fungal Biology**, p. 46, 2016.

MICHEL, B.E.; RADCLIFFW, D. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. **Agronomy Journal Abstract.**, v.87., p. 126-130, 1995.

MILGROOM, M. G. Population biology of plant pathogens: genetics, ecology, and evolution. **St. Paul: APS Press**, p. 399, 2013.

NETTO, M.S.B.; LIMA, W. G. Lima; CORREIA, K. C.; da SILVA, C.F.B.; THON, M.; MARTINS, R. N.G.; MICHEREFF, S.J., CÂMARA, M. Analysis of phylogeny, distribution and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with gummosis of *Anacardium* in Brazil, with a new species of *Lasiodiplodia*. **Fungal Biology**, v.121, p. 1-46, 2017.

PARNELL, S., GILLIGAN, C. A. BOSCH, V.D. Small-scale fungicide spray heterogeneity and the coexistence of resistant and sensitive pathogen strains. **Phytopathology**, v.95, p.632-639., 2005.

PEIXINHO, G. DE S.; RIBEIRO, V.G.; AMORIM, E.P. DA R. Controle da podridão seca (*Lasiodiplodia theobromae*) em cachos de videira cv. Itália por óleos essenciais e Quitosana. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.1, p.26-31, 2017.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G.S.S.; RIBEIRO, V.B. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p.6, 2006.

PEREIRA, A. V. S.; MARTINS, R. B.; MICHEREFF, S. J.; SILVA, M. B.; CÂMARA, M. P. S. Sensitivity of *Lasiodiplodia theobromae* from Brazilian papaya orchards to MBC and DMI fungicides. **European Journal of Plant Pathology**, v.132, p.489–498, 2012. AGROFIT. **Agrofit, Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)> Acesso em: 17 mai 2019.

PITT, W.M.; SOSNOWSKI, M.R.; HUANG, R.; STEEL, C.C.; SAVOCCHIA, S. Evaluation of Fungicides for the Management of *Botryosphaeria* Canker of Grapevines. **Plant disease**, v. 96, n. 9, p. 1303-1308, 2012.

POSSAS J. M. C; CORREA, M. M. MOURA, G. B. A.; LOPES, P.M.O.; CALDAS, A.C.; FONTES JUNIOR, R.P. Zoneamento agroclimático para a cultura do pinhão-mansão no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.9, p.993–998, 2012.

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

STUKENBROCK, E.H.; MCDONALD, B.A. The origins of plant pathogens in agro-ecosystems. **Annual Review of Phytopathology**, v. 46, p. 75-100, 2008.

TAVARES, S. C. C. de H. Epidemiologia e manejo integrado de *Botryodiplodia theobromae* – situação atual no Brasil e no mundo. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.46-52. 2002.

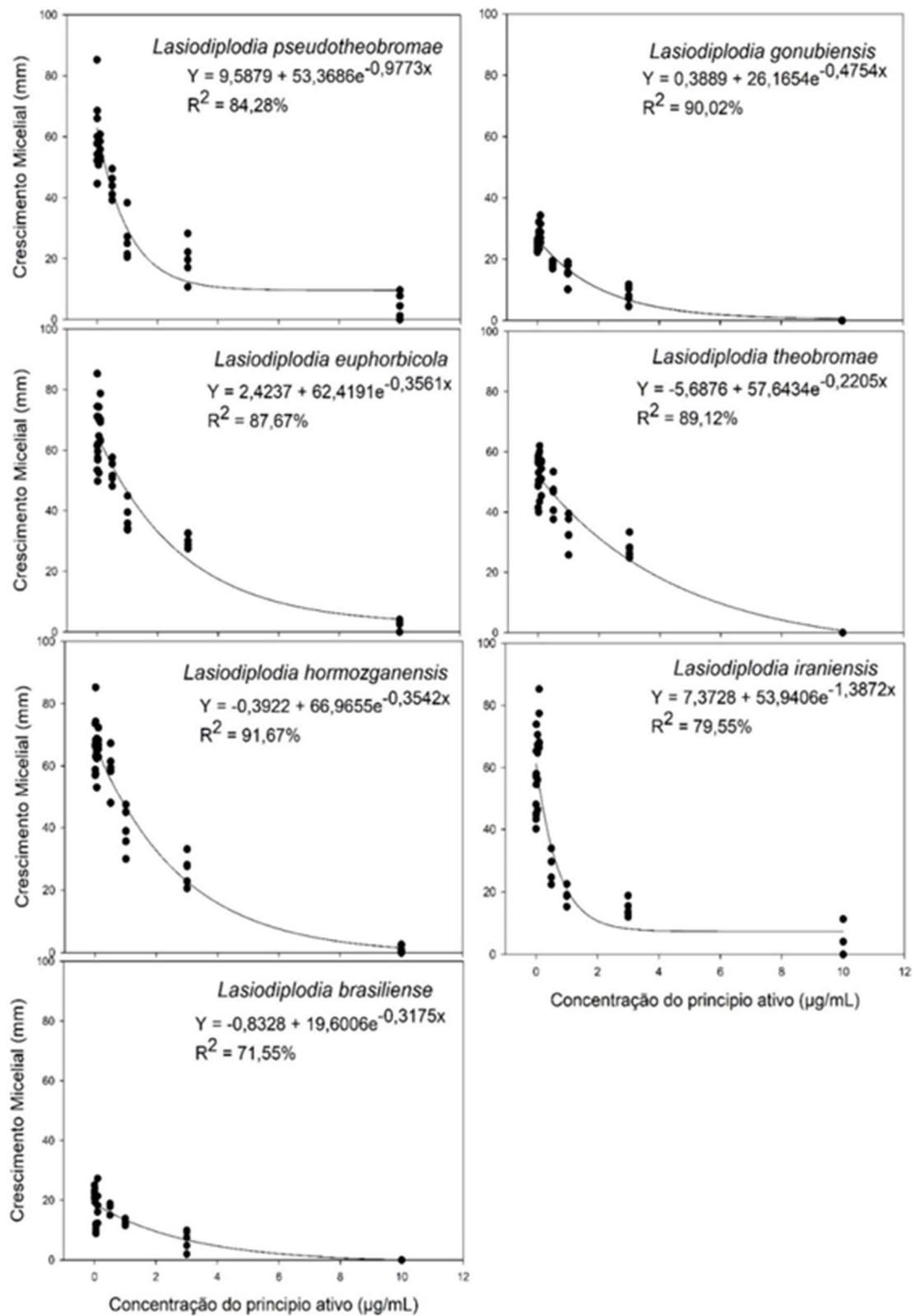
THAGAVELU, R.; SANGEETHA, G.; MUSTAFFA, M.M. Cross-infection potential of crown rot pathogen (*Lasiodiplodia theobromae*) isolates and their management using potential native bioagents in banana. **Australasian Plant Pathology**, v. 36, p.595–60, 2007. MARQUES, M. W.;LIMA, N. B.; MORAIS, M.A.; BARBOSA, M.A.; MICHEREFF, S.J.; PHILLIPS, A.J.L.; CÂMARA, M.P.S. Species of *Lasiodiplodia* associated with mango **Fungal Diversity**, v.61, p.181-193, 2013.

VIEIRA, W.A.S.V.; LIMA, W.G.; NASCIMENTO, E.S.; MICHEREFF, S.J.; REIS, A.; DOYLE, V.P.; CÂMARA, M.P.S. Thiophanate-methyl resistance and fitness components of *Colletotrichum musae* isolates from banana in Brazil. **Plant Disease**, v.101, n.9, p. 1660-1665, 2017.

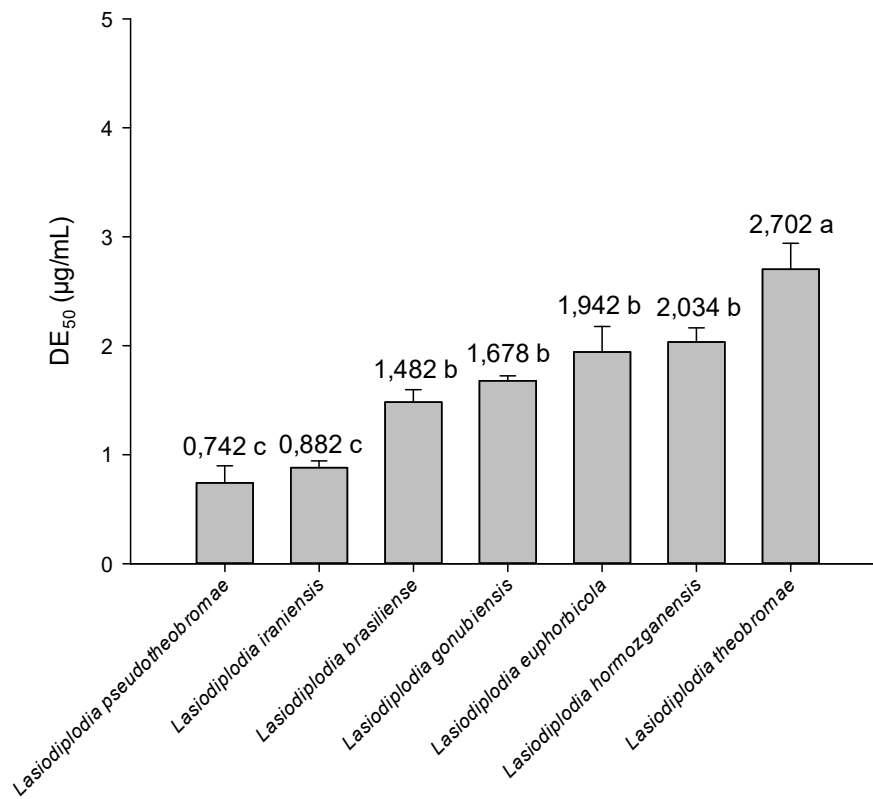
ZHAO, L.; WANG, Y.; HE, W. ZHANG, Y. Stem Blight of Blueberry Caused by *Lasiodiplodia vaccinii* sp. nov. in China. **Plant Disease**, v. 103, p. 2041-2050, 2019.

ZLATICOVIC, M.; KECA, N.; WINGFIELD, M.J.; SLIPPERS, B. *Botryosphaeriaceae* associated with the dieback of ornamental trees in the Western Balkans, **Antonie van Leeuwenhoek**, p.22, 2016.

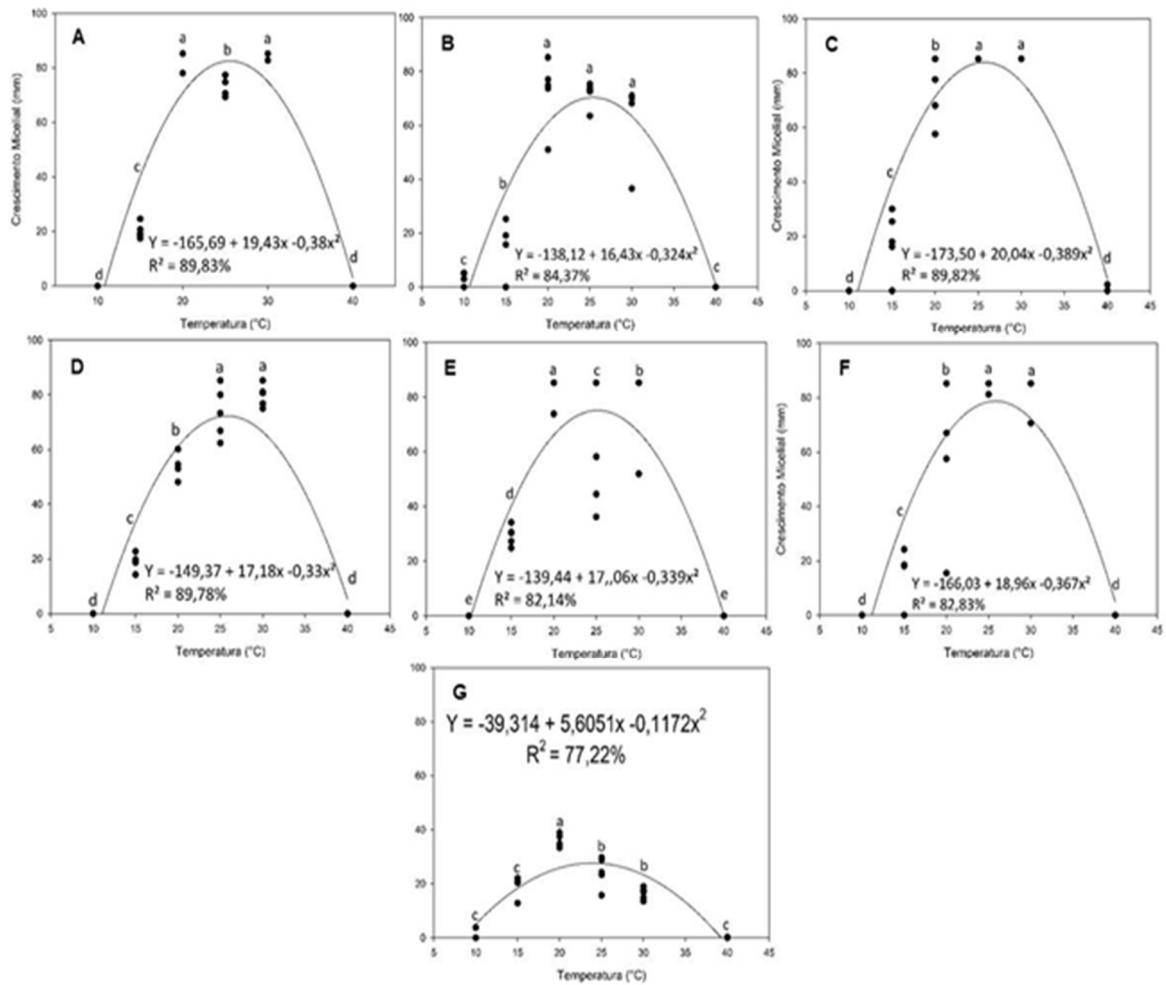




**Figura 1.** Efeito de concentrações de tiofanato metílico no crescimento micelial de sete espécies de *Lasiodiplodia* isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*), 72 horas após a incubação



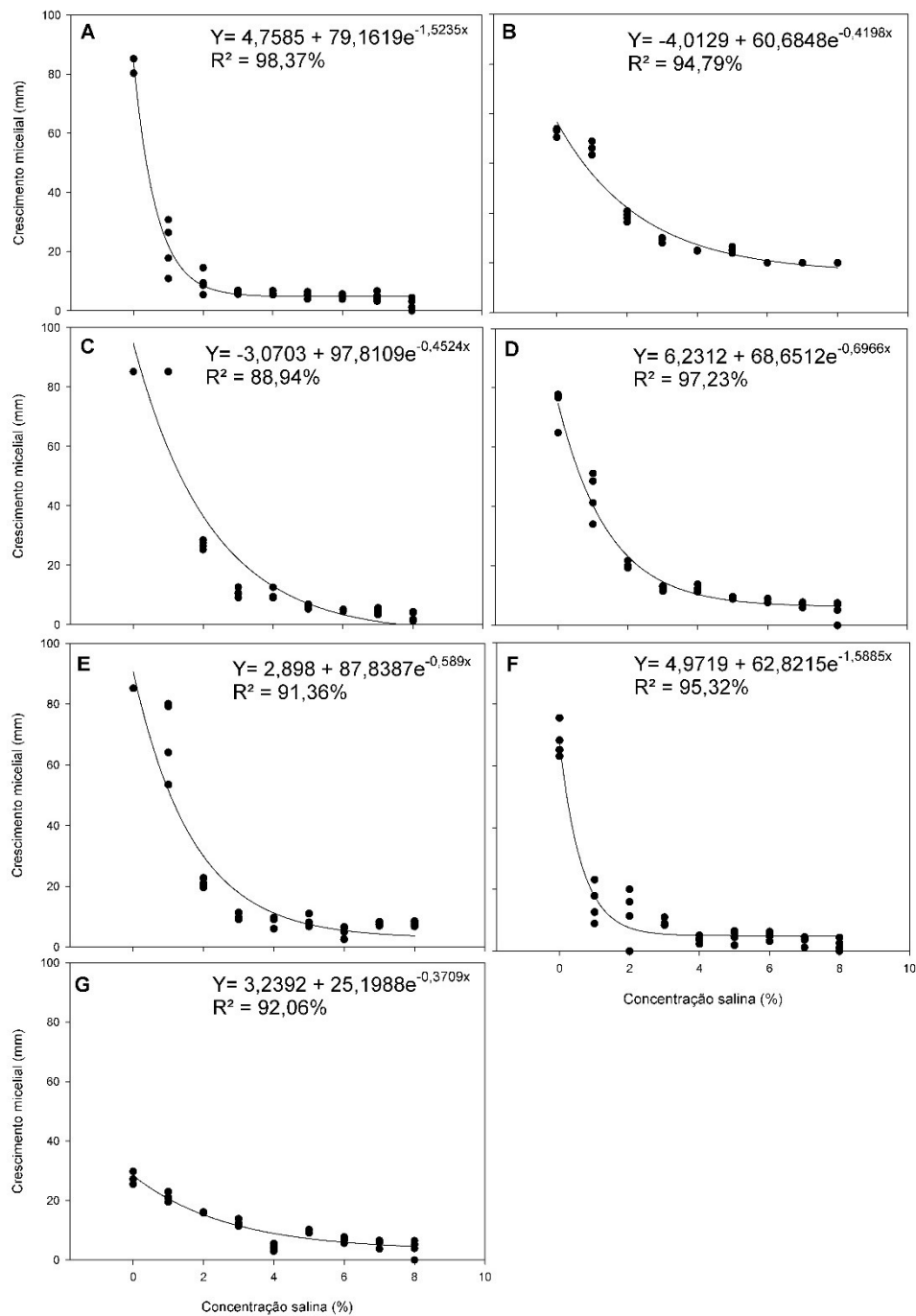
**Figura 2.** Variação da dose efetiva de tiofanato metílico necessário para inibir 50% (DE<sub>50</sub>) do crescimento micelial das diferentes espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleira (*Malpighia emarginata*).



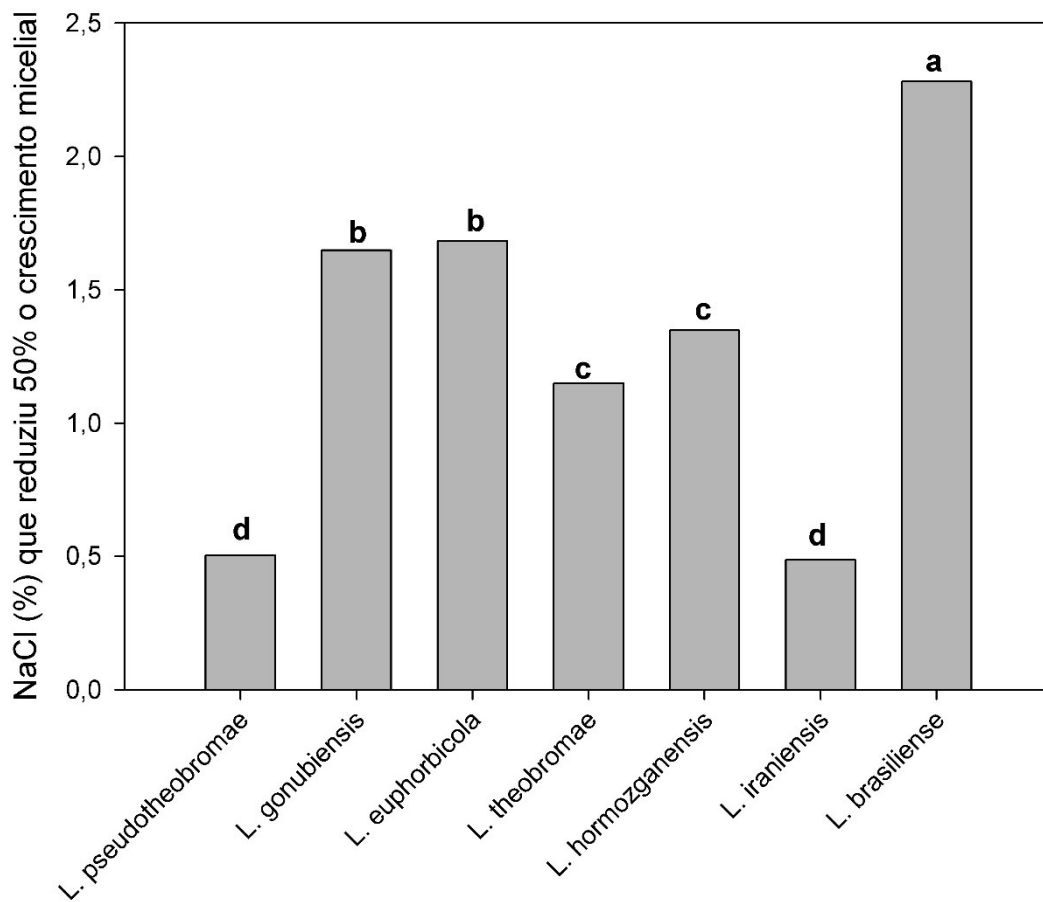
**Figura 3.** Influência da temperatura no crescimento micelial de sete espécies de *Lasiodiplodia* spp. isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*). Legenda: A) *L. pseudotheobromae*, B) *L. gonubiensis*, C) *L. euphorbicola*, D) *L. theobromae*, E) *L. hormozganensis*, F) *L. iraniensis*, G) *L. brasiliense*.

**Tabela 3.** Temperatura ótima obtida por meio da derivada da equação de regressão para o desenvolvimento das sete espécies de *Lasiodiplodia* isoladas de aceroleira (*M. emarginata*).

<b>Espécie</b>	<b>Temperatura ótima (°C)</b>
<i>L. brasiliense</i>	23,91
<i>L. euphorbicola</i>	25,70
<i>L. gonubiensis</i>	25,36
<i>L. hormozganensis</i>	25,15
<i>L. iraniensis</i>	25,81
<i>L. pseudotheobromae</i>	25,54
<i>L. theobromae</i>	25,80
Média	25,30



**Figura 4.** Efeito de concentrações de NaCl no meio de cultura BDA no crescimento micelial de sete espécies de *Lasiodiplodia* isolados de aceroleira (*Malpighia emarginata*). Legenda: A) *L. pseudotheobromae*, B) *L. gonubiensis*, C) *L. euphorbicola*, D) *L. theobromae*, E) *L. hormozganensis*, F) *L. iraniensis*, G) *L. brasiliense*



**Figura 5.** Variação da concentração de NaCl no meio de cultura BDA necessária para inibir 50% do crescimento micelial das diferentes espécies de *Lasiodiplida* isoladas de aceroleira (*Malpighia emarginata*).

## Este preprint foi submetido sob as seguintes condições:

- Os autores declaram que os necessários Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de participantes ou pacientes na pesquisa foram obtidos e estão descritos no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que a elaboração do manuscrito seguiu as normas éticas de comunicação científica.
- Os autores declaram que estão cientes que são os únicos responsáveis pelo conteúdo do preprint e que o depósito no SciELO Preprints não significa nenhum compromisso de parte do SciELO, exceto sua preservação e disseminação.
- Os autores declaram que os dados, aplicativos e outros conteúdos subjacentes ao manuscrito estão referenciados.
- O manuscrito depositado está no formato PDF.
- Os autores declaram que a pesquisa que deu origem ao manuscrito seguiu as boas práticas éticas e que as necessárias aprovações de comitês de ética de pesquisa, quando aplicável, estão descritas no manuscrito.
- Os autores declaram que uma vez que um manuscrito é postado no servidor SciELO Preprints, o mesmo só poderá ser retirado mediante pedido à Secretaria Editorial do SciELO Preprints, que afixará um aviso de retratação no seu lugar.
- Os autores concordam que o manuscrito aprovado será disponibilizado sob licença [Creative Commons CC-BY](#).
- O autor submissor declara que as contribuições de todos os autores e declaração de conflito de interesses estão incluídas de maneira explícita e em seções específicas do manuscrito.
- Os autores declaram que o manuscrito não foi depositado e/ou disponibilizado previamente em outro servidor de preprints ou publicado em um periódico.
- Caso o manuscrito esteja em processo de avaliação ou sendo preparado para publicação mas ainda não publicado por um periódico, os autores declaram que receberam autorização do periódico para realizar este depósito.
- O autor submissor declara que todos os autores do manuscrito concordam com a submissão ao SciELO Preprints.