

Diagnose de microrganismos potencialmente patogênicos em árvores de *Euplassa semicostata*, em remanescente florestal em Minas Gerais

Karine Fernandes Caiafa^{1*} , Genaina Aparecida de Souza¹ , Thaline Martins Pimenta¹ , Gleison Augusto dos Santos¹ , Raul Firmino dos Reis Neto² , Felipe Maerschner Aguiar Peixoto² 

¹Universidade Federal de Viçosa, Avenida P. H. Rolfs, s/n, Campus Universitário, CEP 36570-900, Viçosa, MG, Brasil

²Vale S. A. Mina Córrego do Feijão, Fazenda Córrego do Feijão, s/n, CEP 35460-000, Brumadinho, MG, Brasil

*Autor correspondente:
karine.caiafa@ufv.br

Termos para indexação:
Diaporthe sp.
Mancha foliar
Mycosphaerella gregaria

Index terms:
Diaporthe sp.
Leaf spot
Mycosphaerella gregaria

Histórico do artigo:
Recebido em 27/10/2023
Aprovado em 24/11/2024
Publicado em 18/12/2024

Resumo - Este estudo foi realizado com o objetivo de identificar microrganismos causadores de lesões foliares em *Euplassa semicostata* Plana, com potencial de interferir em seu florescimento. Sete árvores de *E. semicostata* foram mapeadas em um remanescente florestal em Nova Lima, MG. Amostras de folhas destas plantas foram coletadas e enviadas ao laboratório para diagnose. Os microrganismos potencialmente patogênicos encontrados foram *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria*. Futuros ensaios deverão ser realizados a fim de comprovar a associação entre a presença persistente destes fungos e a dificuldade de florescimento destas árvores.

Diagnosis of potentially pathogenic microorganisms in *Euplassa semicostata* trees, in a forest remnant in Minas Gerais State, Brazil

Abstract - This study was carried out with the objective of identifying microorganisms that cause leaf lesions in *Euplassa semicostata* Plana, with the potential to interfere with its flowering. Seven trees of *E. semicostata* were mapped in a remaining forest in Nova Lima, Minas Gerais State, Brazil. Leaf samples from these plants were collected and sent to the laboratory for diagnosis. The pathogenic environmental microorganisms found were *Diaporthe* sp. and *Mycosphaerella gregaria*. Future tests should be carried out in order to prove the association between the persistent presence of these fungi and the difficulty in flowering of these trees.



Parte da tese de Karine Fernandes Caiafa
.- Universidade Federal de Viçosa, 2022.

Euplassa semicostata Plana, conhecida popularmente como euplassa, é uma espécie arbórea que se destaca por sua notável raridade e pelo limitado conhecimento que temos sobre ela (Caiafa et al., 2022). Pertencente à família Proteaceae, essa planta é endêmica do estado de Minas Gerais, com apenas um registro documentado na Bahia (CNCFlora, 2012; Prance

& Amorim, 2021). Sua presença na natureza é difusa, sendo encontrada principalmente em regiões de elevadas altitudes e em áreas geograficamente restritas, como os Campos Rupestres e Cerrados de Minas Gerais, além da Caatinga baiana (CNCFlora, 2012). A falta de informações detalhadas sobre essa espécie ressalta a necessidade de estudos adicionais para

melhor compreender sua ecologia, conservação, limitações para seu cultivo e importância para o ecossistema local.

Euplassa semicostata permanece como um enigma a ser desvendado, representando um desafio intrigante para a comunidade científica (Neves & Conceição, 2010). Sua reprodução é caracterizada por ser muito lenta, sendo que muitos indivíduos, monitorados por empresas que buscam incluir essa espécie em programas de restauração, nunca alcançaram a fase de floração. Em outras palavras, não houve produção de frutos e sementes (Caiafa et al., 2022).

Sua dificuldade em florescer pode estar relacionada a uma série de fatores internos e externos à planta, inclusive à presença de algumas doenças (Katanić et al., 2021; Proietti et al., 2022). Alguns fungos ou bactérias, quando colonizam as plantas, podem representar um obstáculo significativo para sua floração. As doenças, muitas vezes causadas por estes patógenos, podem comprometer a saúde e vitalidade da planta, direcionando seus recursos para combater a infecção em vez de investi-los na produção de flores e frutos (Thiessen et al., 2020). Além disso, algumas doenças podem danificar diretamente as estruturas reprodutivas da planta, prejudicando sua capacidade de produzir flores viáveis (Nazarov et al., 2020; Thiessen et al., 2020). Como resultado, a floração pode ser adiada, reduzida em quantidade ou até mesmo completamente inibida, impactando não apenas a reprodução da planta, mas também a disponibilidade de alimento para polinizadores e a dinâmica do ecossistema em que a planta está inserida (Kooi & Ollerton, 2020). Portanto, o controle e a prevenção de doenças em plantas desempenham um papel crucial na manutenção da biodiversidade e na promoção de ecossistemas saudáveis.

Ao realizar expedições de campo com o propósito de investigar fatores que afetam negativamente a capacidade de floração e reprodução de *E. semicostata*, notou-se que todas as plantas exibiam lesões foliares decorrentes da ação de possíveis agentes patogênicos. Diante dessa constatação, este estudo foi realizado com o objetivo de identificar os microrganismos

causadores dessas lesões, com potencial de interferir no seu florescimento.

Árvores de *E. semicostata* foram encontradas em um remanescente florestal em Nova Lima, pertencente à mineradora Vale S.A., localizada no centro do estado de Minas Gerais, (20°7'10"S e 43°57'03"W). Formações vegetais, variando principalmente entre Floresta Estacional Semidecidual, Cerrado e Campo Rupestre, caracterizam esta região, que apresenta temperatura média anual e precipitação de 19,9 °C e 1.258 mm, respectivamente (Santos et al., 2020). O município de Nova Lima está localizado a 759 m acima do nível do mar com clima quente e temperado, sendo julho e dezembro os meses mais secos e chuvosos com precipitação média de 10 mm e 270 mm, respectivamente (Instituto Nacional de Meteorologia, 2021). Estas plantas foram monitoradas por quatro anos, porém, nunca floresceram.

Amostras de folhas de *E. semicostata* de todos os indivíduos foram coletadas em campo, acondicionadas em caixas de isopor contendo gelo e, posteriormente, enviadas ao Laboratório de Patologia Florestal/Bioagro da Universidade Federal de Viçosa, para diagnose (Figura 1).



Foto: Karine Fernandes Caiafa

Figura 1. Folhas de *Euplassa semicostata* coletadas em Nova Lima, Minas Gerais, com manchas sugerindo a presença de doenças.

Figure 1. *Euplassa semicostata* leaves collected in Nova Lima, Minas Gerais State, Brazil, with spots suggesting the presence of diseases.

No laboratório, foram realizadas análises macro e microscópicas detalhadas, isolamento direto e indireto e análises morfológicas e moleculares para identificação dos microrganismos encontrados (Alfenas & Mafia, 2016). Para a identificação molecular foi realizado o sequenciamento da região ITS (Internal Transcribed Spacer) do DNA ribossomal (rDNA), utilizando os primers ITS1 e ITS4.

Os fungos *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria* foram isolados a partir das folhas de *E. semicostata*. Na amostra de folha (Figura 2) foram observadas manchas semicirculares de coloração preta (mancha menor) (Figura 2C) e manchas de coloração marrom-clara (mancha maior) (Figura 2B).

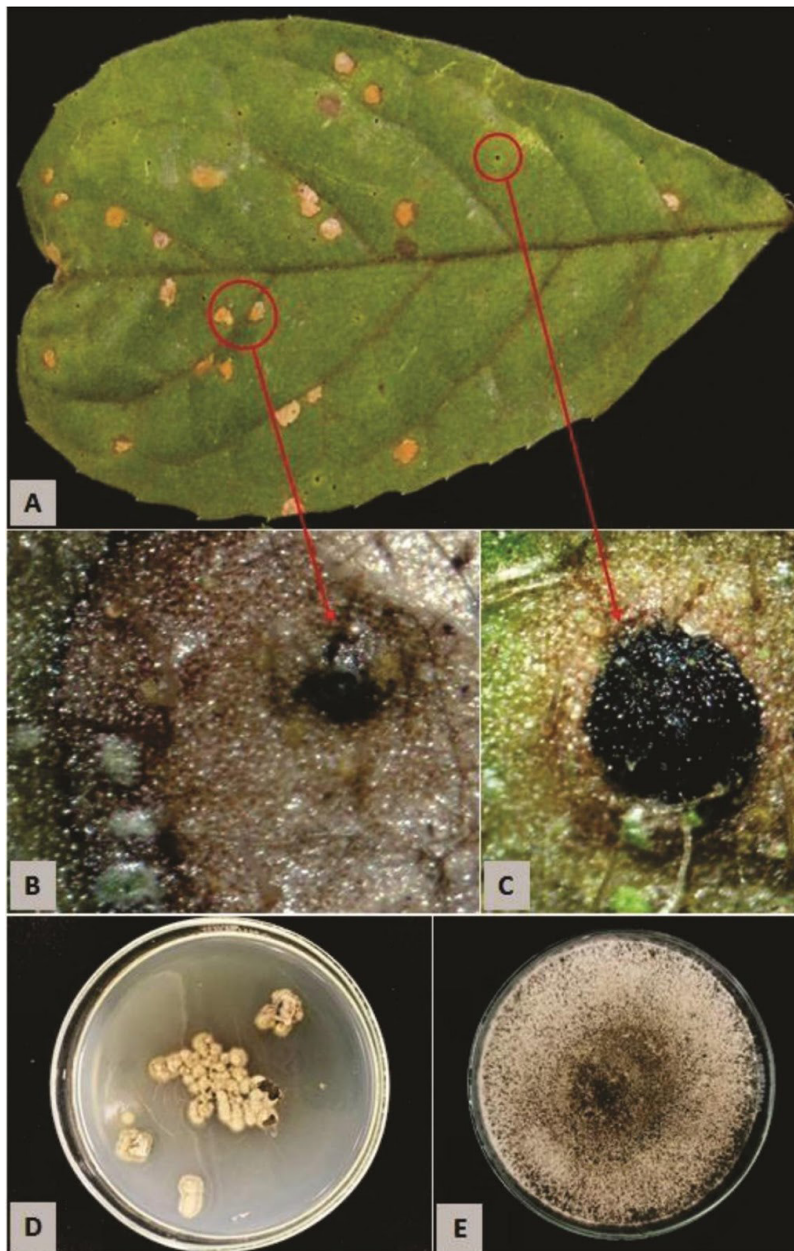


Foto: Rafael Ferreira Alfenas

Figura 2. (A) Folha de *Euplassa semicostata* recebida para diagnose com presença de manchas no limbo foliar; (B) ascoma de *Mycosphaerella gregaria*; (C) ascoma de *Diaporthe* sp.; (D) cultura de *Mycosphaerella gregaria* e (E) cultura de *Diaporthe* sp.

Figure 2. (A) *Euplassa semicostata* leaf received for diagnosis with the presence of spots on the leaf blade; (B) *Mycosphaerella gregaria* ascoma; (C) *Diaporthe* sp. ascoma; (D) culture of *Mycosphaerella gregaria* and (E) culture of *Diaporthe* sp.

A partir de cortes histológicos e observação em microscópio de luz, verificou-se a presença de ascos e ascósporos (Figura 3).

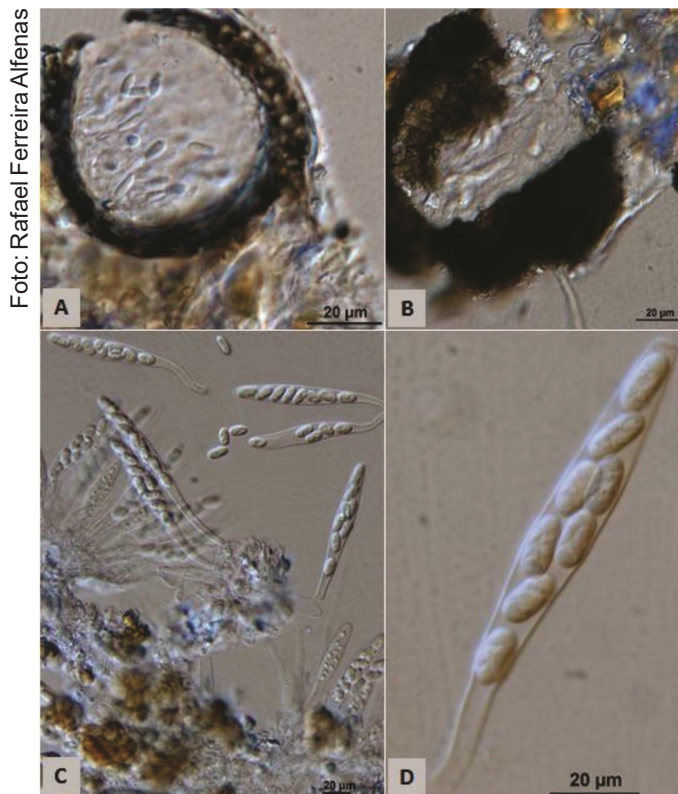


Figura 3. Estruturas fúngicas encontradas em folha de *Euplassa semicostata*, visualizadas sob microscópio de luz: (A - B) Ascis e ascósporos de *Mycosphaerella gregaria*; (C - D) Ascis e ascósporos de *Diaporthe* sp.

Figure 3. Fungal structures found in *Euplassa semicostata* leaf, viewed under a light microscope: (A - B) Ascis and ascospores of *Mycosphaerella gregaria*; (C - D) Ascis and ascospores of *Diaporthe* sp.

Após a obtenção de culturas fúngicas puras (Figuras 2D e 2E), procedeu-se ao sequenciamento da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*) e a partir da análise de similaridade de sequências de nucleotídeos do GenBank usando o BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool*) do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), observou-se 97,7% de similaridade com *Diaporthe* sp. (Accession n°: MG976432.1) para o isolado obtido a partir da mancha menor (Figuras 2A e 2C) e 95,0% de similaridade com *Mycosphaerella*

gregaria (Accession n°: JN695513.1) para o isolado obtido a partir da mancha maior (Figuras 2A e 2B).

A dificuldade de *E. semicostata* em florescer pode estar relacionada a fatores externos (Silva et al., 2021), como fotoperíodo, temperatura e vernalização (Michael et al., 2020), além de fatores internos, como nutrição, fitohormônios, genética e, principalmente, idade da planta (Izawa, 2021). Contudo, também pode estar relacionada à presença de *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria* que, em situações de alta incidência e severidade nas folhas, podem reduzir a superfície fotossintética, diminuindo a produção de fotoassimilados (Alfenas & Mafia, 2016; Hilário et al., 2023) e, consequentemente, prejudicar sua floração (Borghi & Fernie, 2020).

Não há relatos de *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria* causando doenças em *E. semicostata*, contudo esses fungos já foram relatados como patógenos em outros hospedeiros (Kwaśna et al., 2021; Indrayadi et al., 2023). Por exemplo, espécies de *Diaporthe* podem causar cancrs, morte descendente, podridão de raízes, podridão de frutos, manchas foliares e murcha em uma ampla variedade de hospedeiros de plantas (Indrayadi et al., 2023). Analogamente, espécies de *Mycosphaerella* sp. são encontradas associadas a manchas foliares em diversas espécies de plantas (George et al., 2022). Estas doenças podem provocar enormes perdas de produtividade devido à intensa desfolha (Carnegie & Ades, 2002).

Esses patógenos tendem a colonizar as folhas das plantas hospedeiras, causando lesões foliares que, por sua vez, comprometem a capacidade da planta de produzir flores saudáveis e abundantes. Além disso, a infecção por esses fungos pode minar a saúde geral da planta, redirecionando recursos vitais para a defesa contra a infecção, em detrimento da alocação de energia para a reprodução. Consequentemente, a presença persistente de *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregaria* pode ser uma das razões para a dificuldade de florescimento observada nas árvores de *E. semicostata*, e deverá ser investigada através de ensaios.

Conclusões

A presença de *Diaporthe* sp. e *Mycosphaerella gregária* foi constatada em todos os exemplares de *Euplassa semicostata* avaliados, o que pode representar uma ameaça à saúde global dessas plantas. Esses patógenos têm o potencial de impactar adversamente a capacidade da espécie de florescer e, como resultado, reduzir a produção subsequente de frutos e sementes.

Futuros ensaios deverão ser realizados a fim de comprovar a associação entre a presença persistente destes fungos e a dificuldade de florescimento destes indivíduos.

Conflitos de interesse

Os autores não têm conflitos de interesse a declarar.

Contribuição de autoria

Karine Fernandes Caiafa: conceituação, análise formal, investigação, metodologia, supervisão, escrita – primeira redação e escrita – revisão e edição. **Genaina Aparecida de Souza:** metodologia, supervisão, escrita – revisão e edição. **Thaline Martins Pimenta:** escrita – revisão e edição. **Gleison Augusto dos Santos:** conceituação, metodologia, supervisão, escrita – revisão e edição. **Raul Firmino dos Reis Neto:** escrita – revisão e edição. **Felipe Maerschner Aguiar Peixoto:** escrita – revisão e edição.

Referências

- Alfenas, A. C. & Mafia, R. G. (ed.). **Métodos em fitopatologia**. 2a ed. Viçosa, MG: Ed da UFGV, 2016.
- Borghi, M. & Fernie, A. R. Outstanding questions in flower metabolism. **The Plant Journal**, v. 103, p. 1275-1288, 2020. <https://doi.org/10.1111/tpj.14814>.
- Caiafa, K. F. et al. Indução de florescimento e frutificação em campo de *Euplassa semicostata* Plana. **Boletim Técnico SIF**, n. 2, p. 1-8, 2022. <http://dx.doi.org/10.53661/2763-686020220000002>.
- Carnegie, A. J. & Ades, P. K. *Mycosphaerella* leaf disease reduces growth of plantation-grown *Eucalyptus globulus*. **Australian Forestry**, v. 66, n. 2, p. 113-119, 2002. <https://doi.org/10.1080/00049158.2003.10674900>.
- CNCFlora. *Euplassa semicostata*. In: _____. **Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Conservação da Flora, 2012. Available from: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Euplassa semicostata>. Access on: Mar. 14, 2022.
- George, M. et al. Symptomatology of Sigatoka leaf spot disease in banana landraces and identification of its pathogen as *Mycosphaerella eumusae*. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 21, n. 4, p. 278-287, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.09.004>.
- Hilário, S. et al. The impact of two *Diaporthe* species on *Vaccinium corymbosum* physiological performance under different water availability scenarios. **European Journal of Plant Pathology**, v. 166, p. 161-177, 2023. <https://doi.org/10.1007/s10658-023-02651-w>.
- Indrayadi, H. et al. Reconhecendo os sintomas da doença ceratocystis em um viveiro de *Eucalyptus pellita*. **Australasian Plant Pathology**, v. 52, p. 625-636, 2023. <https://doi.org/10.1007/s13313-023-00951-7>.
- Instituto Nacional de Meteorologia (Brasil). **Normais climatológicas do Brasil**. 2021. Available from: <https://portal.inmet.gov.br/normais>. Access on: Aug. 9, 2021.
- Izawa, T. What is going on with the hormonal control of flowering in plants? **The Plant Journal**, v. 105, p. 431-445, 2021. <https://doi.org/10.1111/tpj.15036>.
- Kwaśna, H et al. Mycobiota associated with the vascular wilt of poplar. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 892, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10050892>.
- Katanić, Z. et al. Photosynthetic efficiency in flag leaves and ears of winter wheat during fusarium head blight infection. **Agronomy**, v. 11, p. 2415, 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122415>.
- Kooi, C. J. V. & Ollerton, J. The origins of flowering plants and pollinators. **Science**, v. 368, p. 1306-1308, 2020. <https://doi.org/10.1126/science.aay3662>.
- Michael, T. E. B. et al. Crosstalk in the darkness: bulb vernalization activates meristem transition via circadian rhythm and photoperiodic pathway. **BMC Plant Biology**, v. 20, n. 77, p. 1-16, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2269-x>.
- Nazarov, P. A. et al. Infectious plant diseases: etiology, current status, problems and prospects in plant protection. **Acta Naturae**, v. 12, n. 3, 2020. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11026>.
- Neves, S. P. S. & Conceição, A. A. Recently burnt 'campo rupestre' in the Chapada Diamantina, Bahia, Brazil: resprouters and seeders, with endemic rock species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 697-707, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000300013>.
- Prance, G. T. & Amorim, A. M. A. **Proteaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, [2021]. Available from: <http://servicos.jbrj.gov.br/flora/search/Proteaceae>. Access on: Out. 21, 2024.
- Proietti, S. et al. Flowering mechanisms and environmental stimuli for flower transition: bases for production scheduling in greenhouse floriculture. **Plants**, v. 11, n. 3, p. 432, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11030432>.
- Santos, B. R. dos et al. Forest matrix favors the recovering of seed rain in areas undergoing restoration. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 4, p. e20180190, 2020. <https://doi.org/10.1590/2179-8087.019018>.

Silva, T. R. G. et al. Abiotic factors in plant growth and flowering. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e19710, 2021. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13817>.

Thiessen, L. D. et al. Post surveying for potential diseases and abiotic disorders of industrial hemp (*Cannabis sativa*) production. **Plant Health Progress**, v. 21, p. 321-332, 2020. <https://doi.org/10.1094/PHP-03-20-0017-RS>.