



ACLEIDE MARIA SANTOS CARDOSO

**ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS A
CUCURBITÁCEAS NO BRASIL**

**LAVRAS - MG
2019**

ACLEIDE MARIA SANTOS CARDOSO

ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS A CUCURBITÁCEAS NO BRASIL

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, área de concentração Fitopatologia, para obtenção do título de Doutora.

Dr. Ludwig H. Pfenning
Orientador

Dra. Sarah da Silva Costa
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pela própria autora.

Cardoso, Aceide Maria Santos.

Espécies de *Fusarium* associadas a cucurbitáceas no Brasil /
Aceide Maria Santos Cardoso. - 2019.

113 p. : il.

Orientador: Ludwig H. Pfenning.

Coorientadora: Sarah da Silva Costa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. *Cucurbita moschata*. 2. *Fusarium lacertarum*. 3. *Citrullus
lanatus*. 4. *Cucumis melo*. 5. Cucurbitaceae. 6. *F. solani* f. sp.
cucurbitae. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

ACLEIDE MARIA SANTOS CARDOSO

ESPÉCIES DE *Fusarium* ASSOCIADAS A CUCURBITÁCEAS NO BRASIL
***Fusarium* SPECIES ASSOCIATED WITH CUCURBITACEAE IN BRAZIL**

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

APROVADA em 10 de Junho de 2019.

Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros
Dra. Gláucia Mara Moreira
Dr. Lucas Magalhães de Abreu
Dra. Márcia Michelle de Queiroz Ambrósio

UFLA
UFLA
UFV
UFERSA

Dr. Ludwig H. Pfenning
Orientador

Dra. Sarah da Silva Costa
Cooorientadora

LAVRAS – MG
2019

*Aos meus pais Levi Cardoso e Cleusa Maria dos Santos Cardoso, as minhas irmãs
Erica, Eva e Bruna e aos demais familiares e amigos, pelo apoio e carinho.
Aos meus amores Bernardo e Manoel pela paciência, amor, incentivo,
companheirismo e afeto.
Dedico*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu forças para continuar nos momentos mais difíceis dessa trajetória.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao programa de Pós-Graduação em Fitopatologia pela oportunidade concedida para a realização do Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Ludwig H. Pfenning pela atenção, pelos conhecimentos transmitidos e confiança durante todos esses anos.

À Dra. Sarah da Silva Costa, pela amizade, confiança e ensinamentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos membros da banca, Márcia Ambrósio, Gláucia Moreira, Lucas Abreu e Flávio Medeiros por terem aceito o convite e pelas valiosas sugestões.

Aos Laboratórios de microscopia eletrônica, virologia, fisiologia do parasitismo e patologia de sementes do DFP - UFLA, por contribuírem para a realização do trabalho.

Aos professores, Dr. Maruzanete P. Melo e Dra. Márcia Michelle Q. Ambrósio, ao pesquisador Daniel A. Schurt da Embrapa e aos engenheiros agrônomos Décio Shigihara da Satis e Vanderlei Souza da Emater, pela envio de material.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos, especialmente a Nevenka, Bárbara e Edson Luiz Resende pela colaboração na condução do trabalho e amizade.

Aos amigos que conheci em Lavras e levarei para toda vida, em especial a Gizeli, Fabíola e Priscila.

Aos meus pais e as minhas irmãs, por sempre me motivarem a continuar em busca dos meus sonhos.

Ao meu esposo Manoel e ao meu filho Bernardo, por todo amor, carinho e paciência.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão do trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Há duas formas para viver a sua vida. Uma é acreditar que não existe milagre. A outra é acreditar que todas as coisas são um milagre.

Albert Einstein

RESUMO GERAL

O objetivo deste trabalho foi investigar quais espécies do complexo *Fusarium solani* (FSSC) estão associadas a cucurbitáceas no Brasil e quais delas causam podridão do colo, raízes e do fruto em abóbora, e relatar a ocorrência de espécies do complexo *Fusarium chlamydosporum* (FCSC) e *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC), causando podridão em frutos de abóbora. Uma coleção de 72 isolados (FSSC = 67, FCSC = 3, FIESC = 2) foi obtida dos estados de MG, RN, CE, PI, GO, PE, RR e MA. Isolados monospóricos do FSSC e FCSC foram submetidos a análises de filogenia molecular das regiões gênicas *EF-1 α* + *RPB2* e os isolados do FIESC a análises de *EF-1 α* + *LSU* + *RPB2* + *CAM*. Foram realizados ainda testes de homotalismo e determinação dos *mating types* por PCR, cruzamentos em laboratório para indução da fase sexuada, e avaliação de marcadores morfológicos. Isolados representativos foram utilizados em testes de patogenicidade em plantas e frutos e na avaliação da transmissão do fungo de sementes a plantas. De acordo com a análise filogenética de máxima parcimônia, os isolados do FSSC agruparam-se em seis espécies distintas dentro do clado 3: *F. petroliphilum* (FSSC 1), *F. keratoplasticum* (FSSC 2), *F. falciforme* (FSSC 3+4), *F. solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) e "*Neocosmospora suttoniana*" (FSSC 20) representando espécies heterotáticas, e ainda *F. pseudensiforme* (FSSC 33), uma espécie homotática. Na análise combinada para o FCSC, os isolados agruparam com as linhagens FCSC 1 (n=2) e FCSC 2 (n=1). Para o FIESC, um isolado agrupou-se com *F. lacertarum* e outro com nenhuma das 38 linhagens conhecidas do FIESC, sendo preliminarmente denominada como FIESC 39. No teste de homotalismo, nenhum dos 67 isolados do FSSC produziu peritécios espontaneamente. Foi possível induzir, pela primeira vez, a reprodução sexuada de "*N. suttoniana*" em laboratório. Todas as espécies avaliadas se mostraram patogênicas a plantas de abóbora, sendo *F. cucurbitae* a espécie mais virulenta, provocando a morte das plantas de 5 a 10 dias após a emergência. A região do colo dessas plantas apresentavam-se umedecidos e com coloração avermelhada. Já os isolados do FCSC e FIESC causaram sintomas de amarelecimento e redução do porte e sistema radicular nas plantas de abóbora. Nos frutos, as maiores lesões foram causadas pelas espécies *F. cucurbitae* e "*N. suttoniana*". A transmissão do fungo de sementes a plantas foi confirmada para as seis espécies do FSSC, sendo que *F. cucurbitae* foi a espécie que mais afetou as sementes, reduzindo em até 82% a germinação e 35% o vigor. *Fusarium petroliphilum*, *F. keratoplasticum*, *F. cucurbitae* e *F. pseudensiforme* são reportados pela primeira vez em associação com cucurbitáceas no Brasil, e *F. keratoplasticum* e *F. pseudensiforme* em cucurbitáceas no mundo. *Fusarium lacertarum*, a linhagem FIESC 39 e FCSC 2 também são registrados pela primeira vez causando podridão de frutos em abóbora. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) agora é conhecido como *Fusarium cucurbitae*. Os resultados gerados poderão contribuir para a compreensão da diversidade espécies do FSSC em áreas de produção de cucurbitáceas no Brasil, e para o desenvolvimento de estratégias integradas de controle dessas doenças.

Palavras-chave: *Cucurbita moschata*, *Fusarium cucurbitae*, *Fusarium lacertarum*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, Cucurbitaceae.

GENERAL ABSTRACT

In this study we investigate which species of the *Fusarium solani* species complex (FSSC) are associated with cucurbits in Brazil and which of them cause stem rot, root rot, and rot of fruits. We still report the occurrence of species of the *Fusarium chlamydosporum* species complex (FCSC) and *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex (FIESC), causing fruit rot on pumpkins. A collection of 72 isolates (FSSC = 67, FCSC = 3, FIESC = 2) was obtained in the states of MG, RN, CE, PI, GO, PE, RR, and MA. Isolates were grouped into morphotypes, according to their morphological markers. Monospore isolates of FSSC and FCSC were identified by molecular phylogeny using partial sequences of the *EF-1 α* + *RPB2* genes, while for isolates of the FIESC, *EF-1 α* + *LSU* + *RPB2* + *CAM* sequences were used. The mating type idiomorphs were identified for isolates of the FSSC by a PCR reaction, for the application of the biological species concept using lab crossings. Representative isolates were selected for pathogenicity tests in pumpkin plants and fruits, and to evaluate transmission from seeds to plants. According to the molecular phylogenetic analysis using maximum parsimony, strains of FSSC belong to six different species: *F. petroliphilum* (FSSC 1), *F. keratoplasticum* (FSSC 2), *F. falciforme* (FSSC 3+4), *F. solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) and “*Neocosmospora suttoniana*” (FSSC 20), representing heterothallic species, and *F. pseudensiforme* (FSSC 33), an homothallic species. Strains of FCSC represent two phylogenetic species, FCSC 1 (n=2) and FCSC 2 (n=1). Strains of FIESC were identified as *F. lacertarum* and FIESC 39, a so far unknown phylogenetic species within this complex. “*Neocosmospora suttoniana*” formed fertile perithecia when strains of opposite mating types were crossed in the lab. The sexual stage of this species had not been reported before in the literature. All evaluated species caused disease when inoculated in pumpkin plantlets. *Fusarium cucurbitae* was the most virulent, causing death of plants 5 to 10 days after emergence. Species of FCSC and FIESC caused yellowing symptoms, and reduction of plant height and the root system of pumpkin plants. On fruits, major lesions were caused by *F. cucurbitae* and “*N. suttoniana*”. Transmission from seeds to plants was confirmed for all species. *Fusarium cucurbitae* is the most virulent species, reducing germination rate in 82% and 35% of seed vigor. *Fusarium keratoplasticum*, and *F. pseudensiforme* are reported here for the first time in association with cucurbits. *Fusarium petroliphilum*, *F. keratoplasticum*, *F. cucurbitae*, and *F. pseudensiforme* had not been reported before in association with cucurbits in Brazil. *Fusarium lacertarum* and the phylogenetic lineages FIESC 39 and FCSC 2 are also reported for the first time causing fruit rot of pumpkins. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) is now known as *Fusarium cucurbitae*. This study contributes to the knowledge about species diversity associated with cucurbits in production areas in Brazil. It will also support the development of plant disease management strategies and the search for genetic resistance in cucurbit germplasm.

Key words: *Cucurbita moschata*, *Fusarium cucurbitae*, *Fusarium lacertarum*, *Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, Cucurbitaceae.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium solani*, usando sequências combinadas de *EF-1 α* e *RPB2*. Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. *Fusarium staphyleae* (NRRL 22316) e *Fusarium cicatricum* (CBS 125552) foram utilizadas como *outgroup* 54
- Figura 2. Caracteres morfológicos do estágio sexuado e assexuado de espécies do FSSC 55
- Figura 3. Caracteres morfológicos do estágio assexuado de *F. cucurbitae* 59
- Figura 4. Sintomas de podridão do colo e dos frutos em *C. moschata* causada por espécies do FSSC 63
- Figura 5. Patogenicidade de espécies do FSSC em frutos de abóbora (*Cucurbita moschata*) utilizando o método de multiagulhas e o método com furador de inox 64
- Figura 6. Emergência em areia (IVE), germinação em rolo de papel, e sanidade de sementes de abóbora (*Cucurbita moschata*) inoculadas com espécies do FSSC 65
- Figura 7. Emergência em areia (IVE), estande médio e estande final de plântulas a partir de sementes de abóbora (*Cucurbita moschata*) inoculadas com espécies do FSSC 66
- Figura 1S. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium solani*, usando sequências de *RPB2*. Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. *Fusarium staphyleae* (NRRL 22316) e *Fusarium cicatricum* (CBS 125552) foram utilizadas como *outgroup* 77
- Figura 2S. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium solani*, usando sequências de *EF-1 α* . Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. *Fusarium staphyleae* (NRRL 22316) e *Fusarium cicatricum* (CBS 125552) foram utilizadas como *outgroup* 78

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 3

- Figura 1. Árvore filogenética de Máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium chlamydosporum*, usando sequências combinadas dos genes *EF-1 α* e *RPB2*. Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. Valores de CI = 0.752, RI = 0.719 93
- Figura 2. Árvore filogenética de Máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium incarnatum - equiseti*, usando sequências combinadas dos genes *EF-1 α* , *LSU*, *RPB2* e *CAM*. Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. Valores de CI = 0.689, RI = 0.752 94
- Figura 3. Caracteres morfológicos do estágio assexuado da linhagem FCSC2 do complexo *Fusarium chlamydosporum* e sintomas da doença em plantas e frutos de abóbora 96
- Figura 4. Caracteres morfológicos do estágio assexuado de espécies do complexo *Fusarium incarnatum - equiseti* e sintomas da doença em plantas e frutos de abóbora 97
- Figura 5. Patogenicidade de espécies do FCSC e FIESC em frutos de abóbora (*Cucurbita moschata*) utilizando o método de multiagulhas e o método com furador de inox 98
- Figura 1S. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium chlamydosporum*, usando sequências do gene *EF-1 α* . Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. Valores de CI = 0.801, RI = 0.774 107
- Figura 2S. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium incarnatum-equiseti*, usando sequências do gene *EF-1 α* . Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ são mostrados nos entrenós. Valores de CI = 0.674, RI = 0.806 108

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1. Origem, substrato e número de acesso de sequência de DNA dos isolados obtidos neste estudo.....41
- Tabela 2. Patogenicidade de espécies do FSSC em plantas de abóbora (*Cucurbita moschata*)..... 62
- Tabela 1S. Sequências de isolados de referência do FSSC utilizados no estudo. 79

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3

- Tabela 1. Isolados dos complexos *Fusarium chlamydosporum* e *Fusarium incarnatum-equiseti* de *Cucurbita moschata* utilizados no estudo..... 88
- Tabela 1S. Sequências de isolados de referência dos complexos *Fusarium chlamydosporum* e *Fusarium incarnatum-equiseti* utilizados no estudo..... 109

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL	17
1 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA.....	17
2 ESTADO DA ARTE	17
2.1 As cucurbitáceas e sua importância econômica.....	17
2.2 Abóboras	17
2.3 Melão	200
2.4 Melancia.....	211
2.5 Podridão do colo, das raízes e do fruto	222
2.6 <i>Fusarium solani species complex</i> – FSSC	244
2.7 <i>Fusarium incarnatum-equiseti species complex</i> – FIESC.....	255
2.8 <i>Fusarium chlamydosporum species complex</i> – FCSC.....	26
3 REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO 2 Seis espécies do complexo <i>Fusarium solani</i> causam podridão do colo e do fruto em cucurbitáceas no Brasil	355
RESUMO.....	36
ABSTRACT	3737
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1 Obtenção dos isolados.....	87
2.2 Extração de DNA e amplificação por PCR	455
2.3 Análise de sequências e análise filogenética	455
2.4 Caracterização morfológica.....	46
2.5 Teste de homotalismo	47
2.6 Determinação de <i>mating type</i> por PCR e indução da fase sexuada	47
2.7 Teste de patogenicidade	47
2.7.1 Patogenicidade em plantas.....	48
2.7.2 Patogenicidade em frutos	50

2.8	Transmissão do fungo de sementes a plantas	50
2.9	Análises estatísticas.....	52
3	RESULTADOS	52
3.1	Análise filogenética	52
3.2	Caracterização morfológica.....	555
3.3	Teste de homotalismo, determinação de <i>mating type</i> por PCR e indução da fase sexuada	59
3.4	Patogenicidade em plantas e frutos	60
3.5	Transmissão do patógeno	64
4	DISCUSSÃO.....	66
	AGRADECIMENTOS.....	71
	REFERÊNCIAS	72
	MATERIAL SUPLEMENTAR	72
	CAPÍTULO 3 Espécies dos complexos <i>Fusarium chlamydosporum</i> e <i>Fusarium incarnatum–equiseti</i> causam podridão em frutos de abóbora.....	82
	RESUMO	83
	ABSTRACT	84
1	INTRODUÇÃO.....	855
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	87
2.1	Obtenção dos isolados.....	87
2.2	Extração de DNA, amplificação por PCR e análise filogenética	89
2.3	Teste de patogenicidade	90
2.3.1	Patogenicidade em plantas.....	90
2.3.2	Patogenicidade em frutos	91
2.4	Caracterização morfológica.....	92
3	RESULTADOS	92
3.1	Análise filogenética	92
3.2	Teste de patogenicidade	95
3.3	Caracterização morfológica.....	98

4 DISCUSSÃO.....	99
AGRADECIMENTOS.....	101
REFERÊNCIAS	1022
MATERIAL SUPLEMENTAR	107

CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL

1 CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo, ficando atrás apenas de China e da Índia (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2018). Dentre as cucurbitáceas consumidas *in natura* o melão e a melancia encontram-se entre as mais produzidas no país, destacando-se como o segundo e oitavo produto em volume de exportação, respectivamente (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTI, 2019). Além do melão e da melancia, as abóboras estão entre as cucurbitáceas mais representativas em quantidade produzida, e nas regiões Nordeste e Norte constitui-se com uma alternativa para a inclusão social de pequenos produtores (RESENDE et al., 2013).

Espécies do gênero *Fusarium* são importantes fitopatógenos de cucurbitáceas no Brasil e no mundo e causam relevantes perdas a espécies dessa família botânica como a abóbora, o melão e a melancia. No mundo, associada às plantas de abóbora, melão e melancia, a espécie mais normamente relatada é *F. solani* f. sp. *cucurbitae*, espécie pertencente ao complexo de espécies *Fusarium solani* (FSSC) e que causa sintomas de podridão do colo e raízes e murcha. Nos frutos, além de *F. solani* f. sp. *cucurbitae* outras espécies de *Fusarium* são igualmente danosas, dentre elas espécies pertencentes aos complexos *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) e *Fusarium chlamydosporum* (FCSC).

O termo *Fusarium solani* species complex (FSSC) foi introduzido por O'Donnell (2000) para acomodar as espécies que apresentavam características morfológicas de *Fusarium solani* que foram diferenciadas a partir de análise de filogenia molecular, baseada nas duas regiões gênicas (ZHANG et al., 2006; O'DONNELL et al., 2008). O mesmo foi realizado para as espécies que apresentavam características morfológicas de *F. chlamydosporum* que foram diferenciadas em cinco linhagens distintas e passaram a ser denominadas de *Fusarium chlamydosporum* species complex (FCSC) (O'DONNELL et al., 2009; O'DONNELL et al., 2018). Para os morfotipos *F. semitectum* e *F. equiseti* as espécies foram agrupadas em dois clados principais, *Incarnatum* e *Equiseti*, e o complexo passou a ser denominado como *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) (O'DONNELL et al., 2009).

Boa parte dos estudos com cucurbitáceas no país, principalmente para o melão e melancia na região Nordeste são focados no desenvolvimento de genótipos resistentes a doenças, que nos últimos anos tem aumentando na região, muito em virtude da intensificação dos plantios realizados por ano em sistema de monocultivo. Mesmo a podridão do colo, raízes e do fruto causarem perdas significativas e serem relatadas em praticamente todas as áreas plantadas com cucurbitáceas do Rio Grande do Norte, por exemplo, a identificação dos isolados coletados nas áreas de plantios para os ensaios de seleção de genótipos ainda é realizada na maioria das vezes, apenas por morfologia, muitas vezes sendo duvidosa devido ao uso apenas do conceito morfológico, que não leva em consideração as espécies crípticas.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi investigar quais espécies do FSSC estão associadas a cucurbitáceas no Brasil e quais delas causam podridão do colo, raízes, e do fruto, e relatar a ocorrência de espécies do FCSC e FIESC, causando podridão em frutos de abóbora.

Esta tese está dividida em três capítulos. O primeiro trata do estado da arte sobre o patossistema cucurbitáceas *versus Fusarium solani* e a importância das cucurbitáceas no Brasil, bem como as abordagens utilizadas para a caracterização e identificação das espécies de *Fusarium*. O segundo capítulo é representado por um manuscrito de artigo científico relatando as espécies do FSSC associadas a cucurbitáceas no Brasil a partir de uma coleção de 67 isolados, obtida de importantes regiões produtoras de cucurbitáceas do país, e elevação de *F. cucurbitae* a nível de espécie. O terceiro capítulo é representado por um manuscrito de artigo científico relatando a ocorrência de membros dos complexos *F. chlamydosporum* e *F. incarnatum-equiseti* causando podridão em frutos de abóbora.

2 ESTADO DA ARTE

2.1 As cucurbitáceas e sua importância econômica

A família Cucurbitaceae é formada por 120 gêneros com cerca de 800 espécies (TEPPNER, 2004). Dentre as espécies de importância econômica destacam-se o melão (*Cucumis melo*), a melancia (*Citrullus lanatus*) e a abóbora (*Cucurbita moschata*), o jerimum (*Cucurbita maxima*), o pepino (*Cucumis sativus*), e a abobrinha ou abobrinha italiana (*Cucurbita pepo*) (FERREIRA et al., 2006).

No Brasil, dentre as frutas frescas o melão e a melancia encontram-se entre as mais importantes, destacando-se como o segundo e oitavo produtos em volume de exportação de frutas frescas, respectivamente, e a melancia representa ainda a quinta fruta em área colhida (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTI, 2019). O Nordeste brasileiro é responsável por aproximadamente 94% da produção nacional de meloeiro, sendo o Rio Grande do Norte responsável por mais de 50% da produção brasileira, seguida dos estados do Ceará, Bahia, Piauí, Pernambuco e Rio Grande do Sul (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTI, 2019). A melancia tem sua maior expressão econômica nos estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Goiás, Bahia, Tocantins e Rio Grande do Norte (ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTI, 2019), enquanto as abóboras têm sua produção concentrada nas regiões sudeste e nordeste, com destaque para os estados de São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Maranhão (FERREIRA et al., 2017).

Além do valor econômico e alimentar, o cultivo dessas cucurbitáceas no Brasil, em especial as abóboras e melancia, tem grande importância sócio-econômica na geração de empregos diretos e indiretos, pois demanda grande quantidade de mão-de-obra, desde o cultivo até a comercialização (RESENDE et al., 2013). Os plantios são realizados tanto em moldes de agricultura familiar quanto empresarial, movimentando diversos setores da economia além de proporcionar um bom retorno econômico a grandes médios e pequenos produtores rurais (Vilela et al. 2006).

2.2 Abóboras

As abóboras são plantas rasteiras da família Cucurbitaceae e têm como centro de origem o continente americano. O gênero *Cucurbita* é composto por 24 espécies diploides, entre as quais cinco são domesticadas e conhecidas como

abóboras: *Cucurbita moschata* (abóbora sergipana), *C. maxima* (moranga) e *C. pepo* (abobrinha), *C. ficifolia* (gilas) e *C. argyrosperma* (abóboras ornamentais) (FERREIRA et al., 2017). Há ainda, o híbrido Tetsukabuto, resultado do cruzamento de *C. maxima* e *C. moschata*, que é bastante consumido no Brasil e é conhecido popularmente como abóbora japonesa. Das variedades locais cultivadas de abóbora, *moschata* e *C. maxima* são as espécies com maior área plantada no território nacional (PRIORI et al., 2013).

As plantas são de ciclo anual com hábito de crescimento indeterminado (PRIORI et al., 2010). Possuem raízes adventícias que auxiliam na fixação da planta, e as folhas são geralmente grandes, palmadas e pubescentes. O caule é herbáceo rastejante, pubescente, de coloração verde-escura, o qual é provido de gavinhas. As espécies têm como expressão do sexo a monoiclia, flores unissexuais em locais distintos da mesma planta (PRIORI et al., 2010).

A espécie *C. moschata* possuem crescimento rasteiro e suas folhas têm ângulos bastante marcados, recobertos por pelos nas folhas e pecíolos. Característica marcante da espécie é a presença de cinco ângulos no pedúnculo, que se alargam na inserção com o fruto. Já plantas de *C. maxima* caracterizam-se pela presença de caules compridos, com folhas grandes e lóbulos arredondados.

Os frutos possuem tamanhos e formatos variados e podem ser colhidos completamente maduros, de vez ou imaturos (BLANK et al., 2013). Além da polpa da abóbora ser amplamente utilizada como fonte de alimentação em diversas regiões da Europa as sementes também são consumidas em quantidades consideráveis na forma torrada e salgada, por constituírem uma boa fonte de proteína e de óleo, o que possibilita o seu uso no enriquecimento de alimentos (MANSOUR et al., 1999).

2.3 Melão

O melão (*Cucumis melo*) pertence ao gênero *Cucumis*, um dos maiores dentro da família Cucurbitaceae, que inclui aproximadamente 34 espécies (ALMEIDA, 2006). Originária da África caracteriza-se por sua grande variabilidade genética e adaptabilidade a diferentes ambientes com altas temperaturas, luminosidade e baixa umidade (SILVA et al., 2000).

As plantas são anuais ou perenes, herbáceas, de caule prostrado, com um número de hastes ou ramificações variável. As folhas são alternadas, simples,

palmas, pentabuladas, angulosas quando jovens e subcordiformes quando completamente desenvolvidas e possui gavinhas. O sistema radicular é ramificado e pouco profundo. O fruto é geralmente um pepônio, podendo ser capsular, bacoide ou apresentar cápsula carnosa e as sementes apresentam forma achatada (NEE, 2007).

Os meloeiros são distribuídos em três grupos principais: *inodorus*, *cantaloupensis* e *reticulatus*. Os melões do tipo *inodorus* apresentam casca lisa, coloração da casca amarela ou esverdeada, polpa branca, destacando-se no Brasil a produção do Amarelo e o Pele de sapo. O tipo *cantaloupensis*, apresenta frutos aromáticos, casca com ou sem rendilhado e gomos, coloração variando do amarelo ao esverdeado e de polpa do laranja ao salmão e destaca-se a produção do Cantaloupe, Charentais, Gália e Orange. E a mais nova, *reticulatus*, com frutos aromáticos, de polpa salmão e com presença de rendilhado (PITRAT et al., 2000).

Os benefícios do consumo de melão do ponto de vista nutricional, vão desde suprir totalmente as exigências em vitaminas A e C, além de ser fonte uma significativa de outros nutrientes como açúcar, fibras, cálcio, iodo, potássio e fitoquímicos (SALVIANO et al., 2017).

2.4 Melancia

A melancia (*Citrullus lanatus*) é originária das regiões secas da África Tropical, possuindo um centro de diversificação secundário no sul da Ásia (NASCIMENTO et al., 2011). É uma espécie monoica, herbácea, rastejante de ciclo anual, apresenta, entrenós longos e as folhas são distribuídas de forma alternada. O sistema radicular é pivotante, extenso, porém superficial, com um predomínio de raízes nos primeiros 60 cm do solo. Possui hastes rastejantes e estriadas, com presença de gavinhas (MAROUELLI et al., 2012). O fruto é uma baga esférica ou ovóide, com casca espessa lisa e lustrosa, que pode variar de verde-escuro a verde-claro podendo haver materiais com listras claras. A polpa normalmente é vermelha, mas pode apresentar coloração que varia do branco róseo ao arroxeadado (GOMES, 2012).

Dentre as cucurbitáceas é a espécie menos tolerante a baixas temperaturas, sendo característica de clima quente, não suportando o frio e à geada (FILGUEIRA, 2007). As fases mais críticas, em relação às baixas temperaturas, são germinação e emergência. Dias e noites quentes e secos originam frutos com maior teor de

açúcares e, conseqüentemente, de melhor sabor. Teores de umidade elevados, tanto do ar quanto do solo podem afetar a qualidade da polpa, sendo os melhores frutos gerados sob clima seco (FILGUEIRA, 2007).

Os frutos são fontes de compostos com propriedades funcionais, em destaque para o licopeno, a vitamina C e os compostos fenólicos, que possuem funções preventivas às doenças degenerativas e cardiovasculares (TARAZONA - DÍAZ et al., 2011).

2.5 Podridão do colo, das raízes e do fruto

Um dos fatores limitantes à produção das cucurbitáceas é a ocorrência de doenças, principalmente em locais de clima quente e úmido (TOUSSON; SNYDER, 1961). A podridão do colo e das raízes causada por *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* é comum em abóbora, melão e melancia (ZITTER, 1998). As plantas podem ser infectadas em qualquer estágio de desenvolvimento. O primeiro sintoma geralmente observado no campo é a murcha das folhas. Nas plântulas, o sintoma inicial da podridão é uma coloração clara com aspecto encharcado, que se torna progressivamente mais escura até a formação de necroses. A infecção inicia-se geralmente no córtex da raiz, fazendo com que o tecido se desprenda facilmente e eventualmente todo o tecido é destruído, exceto os feixes vasculares (ZITTER, 1998). As plantas maiores geralmente perdem o vigor e têm o crescimento paralisado, chegando a murchar e secar. Às vezes, a planta pode emitir novas raízes acima da região necrosada e consegue recuperar-se. A colonização pelo fungo ocorre na área da coroa da planta, enquanto que as raízes não são afetadas, exceto sob condições muito úmidas. Da mesma forma, a haste não é afetada, exceto na região do colo, nos 5 cm acima da linha do solo (ZITTER, 1998). Em áreas afetadas, esporos produzidos nas plantas podem infestar o solo circundante infectando os frutos que estão em contato com o solo (TOUSSON; SNYDER, 1961).

Como agentes causais de podridão de frutos de cucurbitáceas, cerca de dez espécies de *Fusarium* foram registradas, diferenciadas e identificadas por morfologia (BRUTON; DUTHIE, 1996). Os sintomas da doença podem aparecer no campo próximo da fase de maturação dos frutos ou na pós-colheita. Na pós-colheita geralmente as lesões na casca variam de tamanho e são suaves e levemente deprimidas, com ou sem aparência encharcada e com presença de rachaduras (ELMER, 1996). Pode haver ainda formação de micélio abundante na superfície da

casca. Na polpa, as lesões são marrons e geralmente cercadas por um tecido esponjoso branco. A lesão pode se expandir e se estender para dentro da cavidade das sementes acompanhada de crescimento micelial. Na pré-colheita, as lesões são geralmente secas, firmes, circulares a ovais, com até 2 cm de diâmetro e com centro levemente deprimido e seco (ELMER, 1996). Embora as sementes sejam colonizadas, não se observa a invasão do fungo nos cotilédones ou a redução da viabilidade das sementes (TOUSSON; SNYDER, 1961; ZITTER, 1998).

Além da podridão que afeta a casca e a polpa, em áreas de plantio da região Nordeste do Brasil tem-se observado a ocorrência crescente da podridão peduncular em frutos de melão. A infecção ocorre ainda no campo e a penetração do patógeno se dá pela região do corte do pedúnculo. O fungo permanece quiescente após a penetração, se manifestando já na fase de comercialização dos frutos, que geralmente são exportados para a Europa, maior mercado consumidor de melão brasileiro. Os sintomas iniciam-se na zona de abscisão peduncular, por meio do aparecimento de uma pequena lesão encharcada, acompanhada de crescimento micelial cotonoso branco. Em condições favoráveis, com elevada umidade relativa do ar e temperatura por volta dos 30 °C observa-se rápida evolução no tamanho da lesão, com aparecimento de fissuras (GADELHA, 2002).

Essas doenças já foram relatadas em vários países como Estados Unidos, China, Coréia, Tailândia, Espanha, África do Sul, Trinidad e Tobago, Tunísia, México e Brasil (DOIDGE; KRESFELDER, 1932; CORRELL et al., 1991; ELMER, 1996; KIM; KIM, 2004; WYENANDT, 2004; BOUGHALLEB et al., 2005; ELMER et al., 2007; RAMPERSAD, 2009; CHEHRI et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2014; RENTERIA-MARTINEZ et al., 2018; CAO et al., 2019; NUANGMEK et al., 2019). As perdas relatadas chegam a até 75% em áreas com ocorrência, tanto para plantas quanto para frutos (CASTROAGUDIN et al., 2009). No Brasil, há estimativas apenas para as perdas pós-colheita causadas no meloeiro, entretanto os dados são devassados. Mesmo assim, nos últimos anos houve um aumento da ocorrência dessas doenças. A podridão do colo tem sido observada em todas as áreas de plantio de melão do Rio Grande do Norte, principalmente na fase de formação e crescimento dos frutos. Além dos danos diretos a planta, a murcha provocada expõe os frutos ao sol, causando queimaduras e perda do valor comercial. No caso da podridão dos frutos e a peduncular, os frutos chegam a ser comercializados, principalmente para o mercado externo, entretanto, tornam-se inviáveis para o

consumo sendo incinerados, causando grandes prejuízos aos produtores que arcam com transporte e descarte dos frutos perdidos.

2.6 *Fusarium solani species complex* – FSSC

O termo *Fusarium solani species complex* (FSSC) refere-se ao grupo monofilético que acomoda espécies da seção *Martiella* que na maioria das vezes, não podem ser diferenciadas por características morfológicas. O termo foi introduzido por O'Donnell (2000), que analisou uma coleção de 36 isolados utilizando filogenia molecular baseada nas regiões gênicas *EF-1 α* e 28S rDNA e as diferenciou em 26 linhagens filogenéticas distintas agrupadas em três clados principais. Atualmente fazem parte deste complexo cerca de 50 espécies filogenéticas, algumas delas definidas também como espécies biológicas ou *mating populations* (MP) (ZHANG et al., 2006; O'DONNELL, 2000; O'DONNELL et al., 2008; NALIM et al., 2011).

Até o ano de 2011, oito espécies filogenéticas foram formalmente descritas: *Fusarium falciforme* (FSSC 3+4), *Fusarium lichenicola* (FSSC 16), *Fusarium ambrosium* (FSSC 19) e *Fusarium striatum* (FSSC 21) e *Fusarium pseudensiforme* (FSSC 33) (SHERBAKOFF, 1915; GADD; LOOS, 1947; SUMMERBELL; SCHROERS, 2002; NALIM et al., 2011). Nesse mesmo ano, no Congresso Internacional de Botânica, foram propostas mudanças na nomenclatura dos fungos, que deixaria de apresentar nomenclatura dupla e passaria a considerar “um fungo, um nome”, com o uso exclusivo do nome da fase assexuada (NORVELL, 2011). Seguindo a proposta de Geiser et al. (2013), o uso do nome *Fusarium* seria adotado sem a necessidade do uso do nome da fase sexuada. A proposta seria interessante para as espécies do FSSC, diante da confusão taxonômica existente na nomenclatura da fase sexuada para esse complexo, que já foram nomeadas ao longo dos anos, como *Hypomyces*, *Nectria*, *Neocosmospora* e *Haematonectria*. E também que para a maioria das espécies o fungo é encontrado frequentemente na sua forma assexuada.

Atualmente a abolição da nomenclatura dupla tem sido bem aceita, contudo para as espécies de *Fusarium* do FSSC, a proposta de Lombard et al. (2015) e as publicações recentes adotando o nome “*Neocosmospora*” trouxe nova confusão para o complexo (SANDOVAL-DENNIS; CROUS, 2018; SANDOVAL-DENNIS et al., 2018).

O agente etiológico da podridão do colo, das raízes e dos frutos é descrito na literatura como sendo duas raças de *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*: raça 1 e 2. Estudos de filogenia molecular demonstraram que a raça 1 e raça 2 correspondem a duas espécies filogenéticas distintas, denominadas FSSC 10 e FSSC 1, respectivamente (O'DONNELL, 2000; O'DONNELL et al., 2008). A linhagem FSSC 1 já foi formalmente descrita como espécie, *F. petroliphilum*, e é conhecida também como um patógeno oportunista de humanos, que pode causar infecções da pele. Essa espécie é considerada um patógeno fraco de plantas, mas provoca podridão de frutos de cucurbitáceas na presença de ferimentos (TOUSSON; SNYDER, 1961; O'DONNELL, 2000; SHORT et al., 2013). Por outro lado, a linhagem FSSC 10, que corresponde a *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* raça 1, foi descrita na África em 1932 como patógeno de cucurbitáceas, infectando o colo, as raízes e frutos (DOIDGE; KRESFELDER, 1932). Essa espécie filogenética representa também o principal agente etiológico de doenças de *Cucurbita* spp. nos Estados Unidos (TOUSSON; SNYDER, 1961; MEHL; EPSTEIN, 2007).

2.7 *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex – FIESC

O'Donnell e colaboradores (2009), baseados em análises filogenéticas de sequências de quatro genes introduziram o termo *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex (FIESC) para identificar 28 espécies crípticas até então conhecidas como *Fusarium equiseti* e *Fusarium incarnatum* (O'DONNELL et al., 2009). As espécies desse complexo agrupam-se em dois clados principais denominados de *Equiseti* e *Incarnatum*. O clado *Equiseti* é representado por 18 espécies filogenéticas, das quais apenas seis foram nomeadas formalmente: *F. ipomoeae* (FIESC 1), *F. compactum* (FIESC 3), *F. lacertarum* (FIESC 4), *F. arcuatisporum* (FIESC 7), *F. scirpi* (FIESC 9) e *F. equiseti* (FIESC 14). O clado *Incarnatum* é composto por 20 espécies filogenéticas, das quais dez são nomeadas formalmente e também representam espécies biológicas distintas: *F. irregulare* (FIESC 15), *F. pernambucanum* (FIESC 17), *F. sulawense* (FIESC 16+17), *F. luffae* (FIESC 18), *F. caatingaense* (FIESC 20), *F. nanum* (FIESC 25), *F. hainanense* (FIESC 26), *F. coffeatum* (FIESC 28), *F. guilinense* (FIESC 21), *F. citri* (FIESC 29) ((O'DONNELL et al., 2009, 2012, 2018; SHORT et al., 2011; VILLANI et al., 2016, 2019; AVILA et al., 2019; HARTMAN et al., 2019; LOMBARD et al., 2019; MARYANI et al., 2019; SANTOS et al., 2019; WANG et al., 2019)

A espécie morfológica *Fusarium incarnatum* (sin. *Fusarium semitectum* e *F. pallidoroseum*) é um fungo de solo ou endófito cosmopolita que foi descrito em 1875 e reconhecido como espécie em 1935 (BERKELEY, 1875; WOLLENWEBER; REINKING, 1935). Foi relatado como patógeno causando cancro de noqueira, podridão de sementes de feijão, redução da germinação de sementes e crescimento de plântulas de sorgo, apodrecimento de banana e podridão seca em melão (DHINGRA; MUCHOVEJ, 1979; GOPINATH et al., 1985; MCGOVERN, 1994; MARIN et al., 1996; SETA et al., 2004). *Fusarium equiseti* pode ser encontrado em associação com a podridão em cucurbitáceas em contato com o solo, doenças em mudas de melão, podridão do colo e raízes em plantas de melão e pepino no Irã, podridão em frutos de abóbora nos Estados Unidos, podridão radicular em pimentão no Paquistão e descoloração da coroa em raízes do ginseng americano (ADAMS et al., 1987; CORRELL et al., 1991; PUNJA et al., 2007; CHEHRI et al., 2011; ELMER, 1996; NAZ et al., 2018). Desde a adoção do termo FIESC, essas espécies já foram registradas causando podridão da cápsula em algodão no Paquistão, podridão em frutos de meloeiro na China, podridão radicular e do colo em couve-flor na China e podridão de frutos de pimentão (LI et al., 2017; RAMDIAL et al., 2017; AKRAM et al., 2019; CHOHAN; ABID, 2019). No Brasil espécies desse complexo já foram reportadas em associação a arroz, insetos e causando podridão em meloeiro (OLIVEIRA et al., 2014; AVILA et al., 2019; SANTOS et al., 2019).

2.8 *Fusarium chlamyosporum* species complex – FCSC

Fusarium chlamyosporum species complex (FCSC) é um complexo formado atualmente por cinco linhagens filogenéticas distintas evidenciadas a partir de análise filogenética multilocus (O'DONNELL et al., 2009; O'DONNELL et al., 2018). São espécies mais comuns em regiões de clima quentes do mundo (LESLIE; SUMMERELL, 2006). O primeiro relato do morfotipo *F. chlamyosporum* foi em associação a pseudocaule de bananeira em Honduras (WOLLENWEBER; REINKING, 1925). Pode ser encontrado no solo, como saprófita, endófito ou patógeno secundário de plantas ou associado a micoses em humanos (LESLIE; SUMMERELL, 2006; O'DONNELL et al., 2009; SIDDIQUEE et al., 2010). Foi registrado provocando redução da qualidade e germinação de sementes de fumo, cancro do caule de quiabo (FUGRO, 1999), murcha e podridão do colo em mudas de ervilha e girassol (GERLACH; NIRENBERG, 1982; NAHAR; MUSHTAQ, 2006),

murcha e escurecimento dos tecidos vasculares em oliveira (TRABELSI et al., 2018), fusariose em abacaxi (IBRAHIM et al., 2016) e podridão em frutos de *Cucurbita pepo* (WYENANDT, 2004). No Brasil espécies do complexo *F. chlamydosporum* já foram relatadas em associação a grãos de arroz, milho e outras gramíneas (PFENNING et al., 2018). Embora as espécies desse complexo pareçam ser de ocorrência comum, poucas informações encontram-se disponíveis em relação a sua distribuição geográfica e sua capacidade de causar doença em plantas cultivadas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Jr G. C.; GUBLER, W. D.; GROGAN, R. G. Seedling disease of muskmelon and mixed melons in California caused by *Fusarium equiseti*. **Plant Disease**, v. 71, n. 4, p. 370–374, 1987.
- AKRAM, W. et al. First report of stem and root rot of chinese kale caused by *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex in China. **Plant Disease**, v. 103, n. 7, p. 1781, 2019.
- ALMEIDA, D. **Manual de Culturas Hortícolas**. 1. ed. vol. 1, Lisboa: Editorial Presença, 2006, 356 p.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2018. KIST, B. B. et al. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2018, 88 p
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI E FRUTI FRUTICULTURA 2019. KIST, B. B. et al. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019, 96 p
- AVILA, C. F. et al. *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with Brazilian rice: phylogeny, morphology and toxigenic potential. **International Journal of Food Microbiology**, v. 306, doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108267, 2019.
- BERKELEY, M. J. Notices of the North American Fungi. **Grevillea**, v. 3, n. 26, p. 97-112, 1875.
- BLANK, A. F. et al. Parâmetros genotípicos, fenotípicos e ambientais para caracteres morfológicos e agrônômicos em abóbora. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 106-111, 2013.
- BOUGHALLEB, N.; ARMENGOL, L.; EL MAHJOUR, M. Detection of races 1 and 2 of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* and their distribution in watermelon fields in Tunisia. **Journal of Phytopathology**, v. 153, n. 3, p. 162–168, 2005.
- BRUTON, B. D.; DUTHIE, J. A. **Fusarium rot**. In: ZITTER, T. A.; HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. (Ed.). Compendium of cucurbit diseases. Saint Paul: APS Press, 1996. p. 50-51. Disponível em: <<http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/FusariumRot.aspx>>. Acesso em: 04 maio. 2017.
- CAO, P. et al. First report of *Fusarium incarnatum–equiseti* species complex causing fruit rot on muskmelon (*Cucumis melo* L.) in China. **Plant Disease**, v. 103, n. 7, p. 1768, 2019.
- CASTROAGUDIN, V. L.; CORRELL, J. C.; CARTWRIGHT, R. D. First report of fruit rot of pumpkin caused by *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* in Arkansas. **Plant Disease**, v. 93, n. 6, p. 669, 2009.

CHEHRI, K. et al. Molecular characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran. **Saudi Journal Biological Sciences**, v. 18, n. 4, p. 341-351, 2011.

CHOHAN, S.; ABID, M. First report of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with boll rot of cotton in Pakistan. **Plant Disease**, v. 103, n. 1, p. 151, 2019.

CORRELL, J. C.; MITCHELL, J. K.; ANDERSEN, C. R. Fruit rot of pumpkin in Arkansas caused by *Fusarium equiseti*. **Plant Disease**, v. 75, p. 751, 1991.

DHINGRA, O. D.; MUCHOVEJ, J. J. Pod rot, seed rot, and root rot of snap bean and dry bean caused by *Fusarium semitectum*. **Plant Disease Reporter**, v. 63, p. 84-87, 1979.

DOIDGE, E. M.; KRESFELDER, L. J. A wilt disease of Cucurbits. **Farming in South Africa**, v. 7, p. 299-300, 1932.

ELMER, W. H. *Fusarium* fruit rot of pumpkin in Connecticut. **Plant Disease**, v. 80, n. 2, p. 131-135, 1996.

ELMER, W. H.; COVERT, S. F.; O'DONNELL, K. Investigation of an outbreak of *Fusarium* foot and fruit rot of pumpkin within the United States. **Plant Disease**, v. 91, n. 9, p. 1142-1146, 2007.

FERREIRA, M. G. et al. A cultura. In: NICK, C.; BORÉM, A. (Ed.). **Abóboras e morangas: do plantio à colheita**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2017. p. 9-20.

FERREIRA, M. A. J. et al. Mapeamento da distribuição geográfica e conservação dos parentes silvestres e variedades crioulas de *Cucurbita*. In: **Parentes Silvestres das espécies de plantas cultivadas**. 1. ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2006, p. 23-28.

FERREIRA, M. A. J. F. Abóboras e morangas: das Américas para o mundo. In: BARBIERI, R. B.; STUMPF, E. R. T. (Ed.) **Origem e evolução de plantas cultivadas**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, p. 59-88.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2007, 421 p.

FUGRO, P. A. A new disease of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) in India. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v. 29, n. 2, p. 264, 1999.

GADD, C. H.; LOOS, C. A. The ambrosia fungus of *Xyleborus fornicatus* Eich. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 31, n. 1-2, p. 13-18, 1947.

GADELHA, J. C. **Controle preventivo e curativo da podridão pós-colheita de frutos de melão com produto alternativo**. 2002. 37 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

GEISER, D. M. et al. One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that preserves longstanding use. **Phytopathology**, v. 103, n. 5, p. 400-408, 2013.

GERLACH, W.; NIRENBERG, H. **The genus *Fusarium*: a pictorial atlas** Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem. Berlin: Kommissionsverlag P Parey, 1982, 406 p.

GOMES, P. **Fruticultura Brasileira**. 13 ed. São Paulo: Editora Nobel, 2012, 446 p.

GOPINATH, A.; PRAKASH, H. S.; SHETTY, H. S. Grain mold of sorghum: Role of associated fungi on the health and viability of seeds. **International Journal of Tropical Plant Diseases**, v. 3, p. 177-182, 1985.

HARTMAN, G. L.; MCCORMICK, S. P.; O'DONNELL, K. Trichothecene-producing *Fusarium* species isolated from soybean roots in Ethiopia and Ghana and their pathogenicity on soybean. **Plant Disease**, v. 103, n. 8, p. 2070–2075, 2019.

IBRAHIM, N. F. et al. Pathogenicity of *Fusarium semitectum* and *Fusarium chlamydosporum* associated with pineapple fusariosis. **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 12, n. 2, p. 164-170, 2016.

KIM, J. W.; KIM, H. J. *Fusarium* fruit rot of postharvest oriental melon (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* Mak.) caused by *Fusarium* spp. **Research in Plant Disease**, v. 10, n. 4, p. 260–267, 2004.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* laboratory manual**. 1 ed. Ames: Blackwell Publishing Ltd, 2006, 700 p.

LI, P. L. et al. *Fusarium* wilt of cauliflower caused by *Fusarium equiseti* in China. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 39, n. 1, p. 77-82, 2017.

LOMBARD, L. et al. Generic concepts in Nectriaceae. **Studies in Mycology**, v. 80, p. 189-245, 2015.

MANSOUR, E. H. et al. Pumpkin and canola seed proteins and bread quality. **Acta Alimentaria**, v. 28, n. 1, p. 59-70, 1999.

MARIN, D. H. et al. Pathogenicity of fungi associated with crown rot of bananas in Latin America on Grande Naine and disease-resistant hybrid bananas. **Plant Disease**, v. 80, p. 525-528, 1996.

MARQUELLI, W. A.; BRAGA, M. B.; ANDRADE JÚNIOR, A. S. **Irrigação na cultura da melancia**. Brasília: Embrapa Hortaliças, Circular Técnica 108, 2012, 22 p.

MARYANI, N. et al. New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. **Persoonia**, v. 43, p. 48-69, 2019.

McGOVERN, R. J. First report of corky dry rot of cantaloupe caused by *Fusarium semitectum* in Florida. **Plant Disease**, v. 78, n. 9, p. 926, 1994.

MEHL, H. L.; EPSTEIN, L. Identification of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 and race 2 with PCR and production of disease-free pumpkin seeds. **Plant Disease**, v. 91, n. 10, p. 1288-1292, 2007.

NAHAR, S.; MUSTAQ, M. Pathogenicity and transmission studies of seed-borne *Fusarium* species (sec *Liseola* and *Sporotrichiella*) in sunflower. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 2, p. 487-492, 2006.

NASCIMENTO, I. R. et al. Taxonomia e sistemática, centro de origem e morfologia da melancia. In: SANTOS, G. R.; ZAMBOLIM, L. (Ed). **Tecnologias para produção sustentável da melancia no Brasil**. Gurupi: Universidade Federal do Tocantins, 2011, p. 11-14.

NAZ, F. et al. First report of stem and root rot of bell pepper caused by *Fusarium equiseti* in Pakistan. **Journal of Plant Pathology**, v. 100, n. 3, p. 589, 2018.

NALIM, F. A. et al. New species from the *Fusarium solani* species complex derived from perithecia and soil in the Old World tropics. **Mycologia**, v. 103, n. 6, p. 1302-1330, 2011.

NEE, M. Flora da Reserva Ducke, Amazonas Brasil: Cucurbitaceae. **Rodriguésia**, v. 58, n. 3, p. 703-707, 2007.

NORVELL, L. L. Fungal nomenclature-Melbourne approves a new CODE. **Mycotaxon**, v. 116, n. 1, p. 481-490, 2011.

NUANGMEK, W. et al. First report of fruit rot on cantaloupe caused by *Fusarium equiseti* in Thailand. **Journal of General Plant Pathology**, v. 85, n.4, p. 295-300, 2019.

O'DONNELL, K. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca* - *Fusarium solani* species complex. **Mycologia**, v. 92, n. 5, p. 919-938, 2000.

O'DONNELL, K. et al. Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and *Fusarium* MLST. **Mycologia**, v. 104, n. 2, p. 427-445, 2012.

O'DONNELL, K. et al. Novel multilocus sequence typing scheme reveals high genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium incarnatum* - *equiseti* and *F. chlamydosporum* species complexes within the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 12, p. 3851-3861, 2009.

O'DONNELL, K. et al. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. **Journal Clinical Microbiology**, v. 46, n.8, p. 2477-2490, 2008.

O'DONNELL, K. et al. Marasas et al. 1984 "Toxigenic *Fusarium* species: identity and mycotoxicology" revisited. **Mycologia**, v. 110, n. 6, p. 1058-1080, 2018.

OLIVEIRA, M. J. et al. Effects of wounding, humidity, temperature, and inoculum concentrations on the severity of corky dry rot caused by *Fusarium semitectum* in melon fruits. **Acta Scientiarum**, v, 36, n. 3, p. 281-289, 2014.

PFENNING, L. H. et al. *Fusarium chlamydosporum* species complex associated with Brazilian rice: species diversity and toxigenic potential (Poster P-39). In: EUROPEAN FUSARIUM SEMINAR, 2018, Tulln, Austria. **Abstract Book...** 2018, p. 81.

PITRAT, M.; HANELT, P.; HAMMER, K. Some comments on infraspecific classification of cultivars of melon. **Acta Horticulturae**, v. 510, p. 29-36, 2000.

PUNJA, Z. K. et al. Diversity of *Fusarium* species associated with discolored ginseng roots in British Columbia. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 29, n. 4, p. 340-353, 2007.

PRIORI, D. et al. **Acervo do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas da Embrapa Clima Temperado – 2002 a 2010**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, Documentos, 2010, 37 p.

PRIORI, D. et al. Diversidade genética de *Cucurbita pepo*, *C. argyrosperma* e *C. ficifolia* empregando marcadores microssatélites. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 361-368, 2013.

RAMDIAL, H. et al. Phylogeny and haplotype analysis of fungi within the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. **Phytopathology**, 107, n. 1, p. 109-120, 2017.

RAMPERSAD, S. N. First report of *Fusarium solani* fruit rot of pumpkin (*Cucurbita pepo*) in Trinidad. **Plant Disease**, v. 93, n. 5, p. 547, 2009.

RENTERÍA-MARTÍNEZ, M. E. et al. (2018) Multilocus phylogenetic analysis of fungal complex associated with root rot watermelon in Sonora, Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatología**, v. 36, n. 2, p. 233-255, 2018.

RESENDE, G. M.; BORGES, R. M. E.; GONÇALVES, N. P. S. Produtividade da cultura da abóbora em diferentes densidades de plantio no Vale do São Francisco. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 504-508, 2013.

SALVIANO, A. M. et al. **A cultura do melão**. 3. ed. Brasília: Embrapa. Coleção Plantar 76, 2017, 202 p.

SANDOVAL-DENIS, M.; CROUS, P. W. (2018) Removing chaos from confusion: assigning names to common human and animal pathogens in *Neocosmospora*. **Persoonia**, v. 41, p. 109-129, 2018.

SANDOVAL-DENIS, M. et al. Symptomatic Citrus trees reveal a new pathogenic lineage in *Fusarium* and two new *Neocosmospora* species. **Persoonia**, v. 40, p. 1-25, 2018.

SANTOS, A. C. S. et al. Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. **Mycologia**, v. 111, n. 2, p. 244-259, 2019.

SETA, S.; GONZALEZ, M.; LORI, G. First report of walnut canker caused by *Fusarium incarnatum* in Argentina. **Plant Pathology**, v. 53, n. 2, p. 248, 2004.

SHERBAKOFF, C. D. **Fusaria of potatoes**. Ithaca: University Agricultural Experimental Station Memoir, 1915, 68 p.

SHORT, D. P. et al. Phylogenetic relationships among members of the *Fusarium solani* species complex in human infections and the descriptions of *F. keratoplasticum* sp. nov. and *F. petroliphilum* stat. nov. **Fungal Genetics and Biology**, v. 53, p. 59-70, 2013.

SHORT, D. P. et al. Widespread occurrence of diverse human pathogenic types of the fungus *Fusarium* detected in plumbing drains. **Journal Clinical Microbiology**, v. 49, n. 12, p. 4264-4272, 2011.

SIDDIQUEE, S.; YUSUF, U. K.; ZAINUDIN, N. A. I. M. Morphological and molecular detection of *Fusarium chlamydosporum* from root endophytes of *Dendrobium crumenatum*. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 26, p. 4081-4090, 2010.

SILVA, H. R. et al. **Cultivo do meloeiro para o Norte de Minas Gerais**. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular Técnica 20, 2000, 24 p.

SUMMERBELL, R. C.; SCHROERS, H. J. Analysis of phylogenetic relationship of *Cylindrocarpon lichenicola* and *Acremonium falciforme* to the *Fusarium solani* species complex and a review of similarities in the spectrum of opportunistic infections caused by these fungi. **Journal Clinical Microbiology**, v. 40, n. 8, p. 2866-2875, 2002.

TARAZONA-DÍAZ, M. S. et al. Bioactive compounds from flesh and by-product of fresh-cut watermelon cultivars. **Journal Science Food Agricultural**, v. 91, n. 5, p. 805-812, 2011.

TEPPNER, H. (2004) Notes on *Lagenaria* and *Cucurbita* (Cucurbitaceae). **Phyton; annales rei botanicae**, v. 44, n. 2, p. 245-308, 2004.

TOUSSON, T. A.; SNYDER, W. C. The pathogenicity, distribution, and control of two races of *Fusarium* (Hypomyces) *solani* f. *cucurbitae*. **Phytopathology**, v. 51, p. 17-22, 1961.

TRABELSI, R.; GDOURA, R.; TRIKI, M. *Fusarium brachygibbosum* and *Fusarium chlamydosporum* causing wilt and die-back of olive in Tunisia. KALLEL, A. et al. (Ed.). **Recent advances in environmental science from the Euro-Mediterranean and surrounding regions, Advances in Science**. 1. ed. Tunisia: Advances in Science, Technology & Innovation, 2018, p. 581-582.

VILELA, N. J.; AVILA, A. C.; VIEIRA, J. V. (2006) **Dinâmica do agronegócio brasileiro da melancia: produção, consumo e comercialização**. Brasília: Embrapa Hortaliças. Circular Técnica 42, 2006, 12 p.

VILLANI, A. et al. A polyphasic approach for characterization of a collection of cereal isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. **International Journal of Food Microbiology**, v. 234, p. 24-35, 2016.

VILLANI, A. et al. Variation in secondary metabolite production potential in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex revealed by comparative analysis of 13 genomes. **BMC Genomics**, v. 20, n. 1, p. 314, 2019.

WANG, M. M. et al. *Fusarium incarnatum-equiseti* complex from China. **Persoonia**, v. 43, p. 70-89, 2019.

WOLLENWEBER, H. W.; REINKING, O. A. Aliquot *Fusaria tropicália*, nova vel revisa. **Phytopathology**, v. 15, n. 3, p. 155-169, 1925.

WOLLENWEBER, H. W.; REINKING, O. A. **Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung**. Berlin: Verlag Paul Parey, 1935, 355 p.

WYENANDT, C. A. **Fusarium fruit rot (*Fusarium* spp.) of pumpkin (*Cucurbita pepo*) and its control with cover crop mulches**. 2004. 251 p. Dissertation (Doctor of Philosophy) - Ohio State University, Ohio, United State, 2004.

ZHANG, N. et al. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infection in both humans and plants are common in the environment. **Journal Clinical Microbiology**, v. 44, n.6, p. 2186-2190, 2006.

ZITTER T. A. **Vegetable crops: *Fusarium* Diseases of Cucurbits**. Fact Sheet 733.00, 1998. Disponível em: http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/factsheets/Cucurbits_Fusarium.htm. Acesso em 23 abril 2017.

CAPÍTULO 2

Seis espécies do complexo *Fusarium solani* causam podridão do colo e do fruto em cucurbitáceas no Brasil

Acleide M S Cardoso¹, Barbara A A S Silva¹, Manoel B Silva Jr¹, Sarah S Costa¹, Nevenka M Moura¹, Shamyra G A Silva², Marcia M Ambrósio², Ludwig H Pfenning^{1*}

¹Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 37200-000 Lavras, MG, Brazil.

²Departamento de Ciências Agronômicas e Florestais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, 59.625-900 Mossoró, RN, Brazil.

*Autor para correspondência: Ludwig H Pfenning E-mail: ludwigufla@gmail.com

Manuscrito preparado para submissão à revista *Phytopathology* (JCR 2017: 3,036)

RESUMO

O objetivo do trabalho foi investigar quais espécies do complexo *Fusarium solani* (FSSC) estão associadas a cucurbitáceas no Brasil, e quais delas causam podridão de raízes, do colo e dos frutos. Uma coleção de 67 isolados foi obtida das regiões produtoras de cucurbitáceas nos Estados de MG, RN, CE, PI, GO, PE, RR e MA. Isolados monospóricos foram submetidos a análises de filogenia molecular das regiões gênicas *EF-1 α* e *RPB2*, teste de homotalismo e determinação dos *mating types* por PCR, cruzamentos em laboratório para indução da fase sexuada, e avaliação de marcadores morfológicos. Isolados representativos foram utilizados em testes de patogenicidade realizados em plantas e frutos e na avaliação da transmissão de sementes a plantas de abóbora. De acordo com a análise filogenética os isolados foram identificados em seis espécies distintas dentro do clado 3: *F. petroliphilum* (FSSC 1), *F. keratoplasticum* (FSSC 2), *F. falciforme* (FSSC 3+4), *F. solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) e "*Neocosmospora suttoniana*" (FSSC 20), representando espécies heterotálicas, e ainda *F. pseudensiforme* (FSSC 33), uma espécie homotálica. No teste de homotalismo, nenhum dos 67 isolados produziu peritécios espontaneamente. Foi possível induzir a reprodução sexuada de "*N. suttoniana*" que é relatada pela primeira vez. Todas as espécies avaliadas se mostraram patogênicas a plantas de abóbora, sendo *F. cucurbitae* a espécie mais virulenta, provocando a morte das plantas em 5 a 10 dias após a emergência. Nos frutos, lesões maiores foram causadas pelas espécies *F. cucurbitae* e "*N. suttoniana*". A transmissão do fungo de sementes a plantas foi confirmada para as seis espécies, sendo que *F. cucurbitae* foi a espécie que mais afetou as sementes e as plantas, reduzindo em até 82% a germinação e 35% o vigor. *Fusarium petroliphilum*, *F. keratoplasticum*, *F. cucurbitae* e *F. pseudensiforme* são reportados pela primeira vez em associação com cucurbitáceas no Brasil, e *F. keratoplasticum* e *F. pseudensiforme* em cucurbitáceas no mundo. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) é elevado ao nível de espécie, *Fusarium cucurbitae* sp. nov. Os resultados gerados poderão contribuir para a compreensão da diversidade das espécies do FSSC em áreas de produção de cucurbitáceas no Brasil, e para o desenvolvimento de estratégias integradas de controle dessas doenças.

Palavras-chave: *Cucumis melo*. *Cucurbita moschata*. *Cutrillus lanatus*. *Mating population*. Filogenia molecular. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*.

ABSTRACT

In this study we investigate which species of the *Fusarium solani* species complex (FSSC) are associated with cucurbits in Brazil and which of them cause stem rot, root rot, and rot of fruits. A collection of 67 isolates was obtained in the states of MG, RN, CE, PI, GO, PE, RR, and MA. Isolates were grouped into morphotypes, according to their morphological markers. Monospore isolates were identified by molecular phylogeny using partial sequences of the *EF-1 α* + *RPB2* genes. The mating type idiomorphs were identified by a PCR reaction, for the application of the biological species concept using lab crossings. Representative isolates were selected for pathogenicity tests in pumpkin plants and fruits, and to evaluate transmission from seeds to plants. According to the molecular phylogenetic analysis using maximum parsimony, strains of FSSC belong to six different species: *F. petroliphilum* (FSSC 1), *F. keratoplasticum* (FSSC 2), *F. falciforme* (FSSC 3+4), *F. solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) and "*Neocosmospora suttoniana*" (FSSC 20), representing heterothallic species, and *F. pseudensiforme* (FSSC 33), an homothallic species. "*Neocosmospora suttoniana*" formed fertile perithecia when strains of opposite mating types were crossed in the lab. The sexual stage of this species had not been reported before in the literature. All evaluated species caused disease when inoculated in pumpkin plantlets. *Fusarium cucurbitae* was the most virulent, causing death of plants 5 to 10 days after emergence. On fruits, major lesions were caused by *F. cucurbitae* and "*N. suttoniana*". Transmission from seeds to plants was confirmed for all species. *Fusarium cucurbitae* is the most virulent species, reducing germination rate in 82% and 35% of seed vigor. *Fusarium keratoplasticum*, and *F. pseudensiforme* are reported here for the first time in association with cucurbits. *Fusarium petroliphilum*, *F. keratoplasticum*, *F. cucurbitae*, and *F. pseudensiforme* had not been reported before in association with cucurbits in Brazil. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) is now known as *Fusarium cucurbitae*. This study contributes to the knowledge about species diversity associated with cucurbits in production areas in Brazil. It will also support the development of plant disease management strategies and the search for genetic resistance in cucurbit germplasm.

Key words: *Cucumis melo*. *Cucurbita moschata*. *Cutrillus lanatus*. Mating population. Molecular phylogeny. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*.

1 INTRODUÇÃO

Membros do complexo de espécies *Fusarium solani* (FSSC) são conhecidos por causar podridão do colo, das raízes e do fruto em cucurbitáceas. Os patógenos são relatados na literatura como sendo duas raças de *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*: raça 1 e 2. Essas duas raças representam, de fato, duas espécies filogenéticas e biológicas distintas do FSSC denominadas *F. solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10) *F. petroliphilum* (FSSC 1), respectivamente (O'Donnell 2000; O'Donnell et al. 2008; Short et al 2013). *Fusarium petroliphilum*, *mating population* V (MP-V) é considerado um patógeno fraco de plantas, mas provoca podridão de frutos de cucurbitáceas (Tousson e Snyder 1961; Matuo e Snyder 1973; Short et al. 2013). Por outro lado, *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*, *mating population* I (MP-I) é o patógeno mais frequente de cucurbitáceas nas áreas de cultivo em diferentes países e infecta a haste, raízes e frutos (Elmer et al. 2007).

Os patógenos afetam as plantas em qualquer estágio de desenvolvimento. As plântulas ficam murchas, podendo ou não tombar, secam e as raízes e a região do colo apresentam-se necrosadas. As plantas maiores podem perder o vigor, ter o crescimento paralisado, murchar e secar. As plantas com sintomas avançados apresentam o tecido vegetal destruído, restando apenas os feixes vasculares fibrosos (Zitter 1998). A presença do fungo geralmente é limitada à área da coroa da planta, afetando o caule nos 2 a 4 cm imediatamente acima da linha do solo (Zitter 1998). Em plantas de abóbora infectadas os macroconídios e esporódoquio podem infestar o solo que as circunda infectando os frutos que estão em contato com o solo (Tousson e Snyder 1961). O fungo penetra na casca do fruto e em seguida coloniza a polpa. Uma vez na polpa o fungo se multiplica dentro da cavidade das sementes formando micélio abundante, contudo não invade os cotilédones ou reduz a viabilidade das sementes (Tousson e Snyder 1961).

No Brasil, na região Nordeste principal produtora de meloeiro, a podridão do colo, raízes e do fruto vem aumentando sua ocorrência e severidade, tornando-se cada vez mais preocupante. Isso se deve em parte à intensificação dos monocultivos realizados até três vezes ao ano, e à falta de rotação com outras culturas. As pesquisas com as espécies de *Fusarium* associadas a cucurbitáceas no país no geral, se restringem apenas à documentação e determinação da incidência, sendo a identificação em muitos casos duvidosa, por basear apenas na morfologia.

Em campos de melão amostrados no Rio Grande do Norte e Ceará, por exemplo, o morfotipo *Fusarium solani* foi detectado em 100% das áreas com solos mais argilosos (Andrade et al. 2005). Todavia, não se levou em consideração a variabilidade, nem tampouco quais espécies do complexo FSSC ocorrem no país. Esse viés prejudica o desenvolvimento de genótipos resistentes para essas cucurbitáceas.

Esta doença foi relatada em diversas regiões do mundo como Estados Unidos, Tunísia, Espanha, Irã, dentre outros e a identificação do patógeno muitas vezes baseia-se na patogenicidade à planta hospedeira (Boughalleb et al. 2005; Elmer et al. 2007; Mehl e Epstein 2007; Chehri et al. 2011; Gómez et al. 2014). Grande parte da literatura disponível para o patossistema embasa-se em amostragem, patogenicidade dos isolados, utilização de primers específicos que detectam *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* e *F. petroliphilum* e em análise de similaridade com sequências de *Fusarium solani* utilizando bancos de dados de sequências como o Genbank BLASTn. Essas ferramentas não levam em consideração as espécies crípticas do FSSC que ocorrem em associação.

Em virtude da escassez de literatura científica primária sobre a identidade e características biológicas dos agentes etiológicos da podridão do colo, da raiz e do fruto em cucurbitáceas no Brasil, este estudo se propôs a (i) investigar quais espécies do FSSC ocorrem em cucurbitáceas e quais espécies são patogênicas e determinar se os agentes patogênicos representam espécies biológicas distintas do FSSC. Dessa forma, o conhecimento gerado permitirá uma identificação do patógeno com segurança e confiabilidade, e auxiliará na busca e desenvolvimento de genótipos resistentes, como também de técnicas de manejo que possibilitem o estabelecimento de medidas preventivas e fitossanitárias para as cucurbitáceas em geral.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos isolados

Foram utilizados neste estudo 67 isolados com características morfológicas típicas de *F. solani*. Os isolados foram obtidos de plantas de *Cucurbita moschata*, *Citrullus lunatus* e *Cucumis melo* com sintomas de podridão do colo e dos frutos de regiões produtoras do Brasil dos estados de Minas Gerais, Rio Grande do Norte,

Ceará, Piauí, Goiás, Pernambuco, Roraima e Maranhão. Destes, 21 foram isolados de frutos de abóbora com podridão e dois de plantas que apresentavam sintomas de murcha. Vinte e quatro de plantas de melancia com murcha, e nove de melão com podridão do colo (Tabela 1). Fragmentos do fruto e da haste das plantas foram lavados em água, em seguida desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%. Os fragmentos de aproximadamente 2 mm foram plaqueados em meio extrato de malte (MA2%) (Himedia Laboratories, Mumbai, India). Os isolados foram submetidos ao cultivo monospórico e depositados na Coleção Micologica de Lavras (CML), Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil (<http://www.dfp.ufla.br/cml/>), pelo método de ultra-congelamento a -80 °C e de Castellani a 10 °C.

Tabela 1. Origem, substrato e número de acesso de sequência de DNA dos isolados obtidos neste estudo

Espécie	¹ FSSC	² Código	Substrato	³ Origem	Mating Type	No. de acesso do Genbank	
						RPB2	EF-1 α
<i>F. falciforme</i>	3+4	CML 3549	<i>Cucumis melo</i> , haste	Icapuí CE	MAT1-1	MH709248	MK158923
	3+4	CML 3550	<i>Cucumis melo</i> , haste	Icapuí CE	MAT1-2	MH709249	MK158924
	3+4	CML 3551	<i>Cucumis melo</i> , haste	Icapuí CE	MAT1-2		MK988384
	3+4	CML 3897	<i>Cucumis melo</i> , haste	Inajá PE	MAT1-2	MK988324	
	3+4	CML 3898	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Petrolina PE	MAT1-2	MK988325	MK988389
	3+4	CML 3899	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Nepomuceno MG	MAT1-1	MK988326	
	3+4	CML 3900	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Contagem MG	MAT1-1	MK988327	
	3+4	CML 3901	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Contagem MG	MAT1-1	MK988328	
	3+4	CML 3902	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Contagem MG	MAT1-2	MK988329	
	3+4	CML 3903	<i>Cucumis melo</i> , haste	Petrolina PE	MAT1-1	MK988330	
	3+4	CML 3907	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Maranhão MA	MAT1-2	MK988333	
	3+4	CML 3908	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Nepomuceno MG	MAT1-2	MK988334	MK988391
	3+4	CML 3912	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Porteirinha MG	MAT1-1	MK988338	
	3+4	CML 3913	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Nova Porteirinha MG	MAT1-2	MK988339	
	3+4	CML 3915	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Petrolina PE	MAT1-1	MK988341	MK988396
	3+4	CML 3922	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-2	MK988343	
	3+4	CML 3924	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-2	MK988344	
	3+4	CML 3925	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-2	MK988345	
	3+4	CML 3930	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-1	MK988346	
	3+4	CML 3931	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-1	MK988347	
	3+4	CML 3932	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-2	MK988348	

Tabela 1. continua

Espécie	¹ FSSC	² Código	Substrato	³ Origem	Mating Type	No. de acesso do Genbank	
						RPB2	EF-1 α
<i>F. falciforme</i>	3+4	CML 3933	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-2	MK988349	
	3+4	CML 3934	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-1	MK988350	MK988397
	3+4	CML 3935	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-2	MK988351	MK988398
	3+4	CML 3948	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Jaíba MG	MAT1-2	MK988354	
	3+4	CML 3949	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Jaíba MG	MAT1-2	MK988355	
	3+4	CML 3960	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Mossoró RN	MAT1-2	MK988357	
	3+4	CML 3961	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Mossoró RN	MAT1-2	MK988358	
	3+4	CML 3962	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Mossoró RN	MAT1-2	MK988359	
	3+4	CML 3967	<i>Cucumis melo</i> , haste	Baraúna RN	MAT1-2	MH709263	MK158928
	3+4	CML 3968	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Pirapora MG	MAT1-2	MK988361	
	3+4	CML 3973	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-2	MK988366	
	3+4	CML 3974	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-2	MK988367	
	3+4	CML 3976	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-1	MK988368	
	3+4	CML 3977	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-2	MK988369	
	3+4	CML 3979	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-2	MK988370	
	3+4	CML 3980	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-1	MK988371	
	3+4	CML 3981	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-2	MK988372	
	3+4	CML 3982	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-1	MK988373	
	3+4	CML 3984	<i>Cucurbita moschata</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-1	MK988375	
	3+4	CML 3985	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-2	MK988376	
3+4	CML 3986	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-1	MK988377		

Tabela 1. continua

Espécie	¹ FSSC	² Código	Substrato	³ Origem	Mating Type	No. de acesso do Genbank	
						RPB2	EF-1 α
<i>F. falciforme</i>	3+4	CML 3987	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-1	MK988378	
	3+4	CML 3988	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Jaíba MG	MAT1-1	MK988379	
<i>F. keratoplasticum</i>	2	CML 3921	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Afonso Bezerra RN	MAT1-2	MK988342	MK988399
	2	CML 3937	<i>Cucumis melo</i> , haste	Mossoró RN	MAT1-1	MK988352	MK988382
	2	CML 3939	<i>Cucumis melo</i> , haste	Mossoró RN	MAT1-1	MK988353	MK988383
	2	CML 3963	<i>Cucumis melo</i> , haste	Ipanguaçu RN	MAT1-1	MK988360	MK988381
<i>F. petroliphilum</i> MP V	1	CML 3318	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Timon MA	MAT1-1	MK988319	MK988404
	1	CML 3319	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Timon MA	MAT1-1	MK988320	MK988407
	1	CML 3321	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Tianguá CE	MAT1-2	MK988321	MK988386
	1	CML 3322	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Tianguá CE	MAT1-2	MK988322	MK988387
	1	CML 3323	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Tianguá CE	MAT1-2	MK988323	MK988405
	1	CML 3910	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Nepomuceno MG	MAT1-1	MK988336	MK988393
	1	CML 3911	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Contagem MG	MAT1-1	MK988337	MK988394
	1	CML 3914	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Porteirinha MG	MAT1-2	MK988340	MK988395
<i>F. pseudensiforme</i>	33	CML 3904	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Tianguá CE	MAT1-1	MK988331	MK988385
<i>F. cucurbitae</i> MP I	10	CML 3906	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Nepomuceno MG	MAT1-1	MK988332	MK988390
	10	CML 3909	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Nepomuceno MG	MAT1-1	MK988335	MK988392
	10	CML 3983	<i>Cucurbita moschata</i> , fruto	Contagem MG	MAT1-1	MK988374	MK988388
<i>N. suttoniana</i>	20	CML 3942	<i>Cucumis melo</i> , haste	Mossoró RN	MAT1-2	MH709236	MK158921
	20	CML 3958	<i>Cucumis melo</i> , haste	Mossoró RN	MAT1-2	MH709239	MK158922

Tabela 1. continua

Espécie	¹ FSSC	² Código	Substrato	³ Origem	Mating Type	No. de acesso do Genbank	
						RPB2	EF-1 α
<i>N. suttoniana</i>	20	CML 3959	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Mossoró RN	MAT1-1	MK988356	MK988380
	20	CML 3969	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Campo Alegre de Goiás GO	MAT1-2	MK988362	MK988400
	20	CML 3970	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Campo Alegre de Goiás GO	MAT1-2	MK988363	MK988401
	20	CML 3971	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Cantá RR	MAT1-1	MK988364	MK988402
	20	CML 3972	<i>Citrullus lanatus</i> , haste	Cantá RR	MAT1-1	MK988365	MK988403

¹FSSC: linhagens filogenéticas do complexo de espécies *Fusarium solani*. ²Abreviações das coleções de culturas; CML: Coleção Micológica de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. ³Estados brasileiros = CE: Ceará, GO: Goiás, MA: Maranhão, MG: Minas Gerais, PE: Pernambuco, PI: Piauí, RN: Rio Grande do Norte, RR: Roraima.

2.2 Extração de DNA e amplificação por PCR

Os isolados foram cultivados em MA2% (Himedia Laboratories, Mumbai, Índia) e incubados em agitador a 100 rpm, por três dias, a temperatura ambiente entre 25 e 28 °C. O micélio foi filtrado, macerado em nitrogênio líquido e a extração de DNA foi realizada utilizando o kit Wizard[®] Genomic DNA purification (Promega, Brasil). A concentração e qualidade do DNA foram estimadas em aparelho NanoDrop 2000, e visualmente em gel de agarose 1,2%. Foram geradas sequências de DNA da segunda maior subunidade da RNA polimerase (*RPB2*) para todos os isolados. Após a análise filogenética preliminar, 30 isolados foram selecionados para o sequenciamento da região gênica fator de alongação 1 alpha (*EF-1 α*).

Para as amplificações foram utilizados os *primers* 5F2 (Reeb et al. 2004) e 7cR para *RPB2* gerando um fragmento de ~860 pb (Liu et al. 1999) e Ef-1 / Ef-2 com produto de ~650 pb para *EF-1 α* (O'Donnell et al. 1998). As PCRs foram realizadas com volume final de 25 μ L contendo 12,5 μ L GoTaq[®] Colorless Master Mix kit (1X) (Promega São Paulo, Brasil), 0,7 μ L de cada primer (0,25 μ M), 9,1 μ L água Milli-Q e 2 μ L DNA genômico na concentração de 20 ng. As reações foram realizadas em termociclador My Cycler[™] (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). A amplificação do gene *RPB2* consistiram de uma etapa inicial a 95 °C por 5 minutos, seguida de 30 ciclos de 95 °C por 1 minuto, 58 °C por 2 minutos e 68 °C por 2 minutos e uma etapa de extensão final a 72 °C por 10 minutos. As condições de reação para a amplificação de *EF-1 α* consistiu de 1 minuto a 94 °C, seguida de 5 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 55 °C e 1 minuto a 72 °C, e mais 29 ciclos a 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 62 °C, 1 minuto a 72 °C e a extensão final de 5 minutos a 72 °C.

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,2% corado com GelRed (Biotium[®]). A visualização das bandas foi realizada em fotodocumentador MiniBis Pro (Uniscience). Os fragmentos amplificados foram purificados utilizando-se PCR Products Purification Kit (Ludwig Biotec, Porto Alegre, Brasil) para posterior sequenciamento.

2.3 Análise de sequências e análise filogenética

As sequências consenso foram montadas e editadas no programa SeqAssem (Hepperle 2004). Alinhamentos múltiplos foram gerados utilizando a ferramenta CLUSTALW implementada no programa MEGA 6 (Tamura et al. 2013). As análises

filogenéticas foram realizadas pelos métodos de máxima Parcimônia (MP) e de inferência bayesiana (BI) para cada gene individual e para a análise combinada. Sequências de referência das espécies do FSSC correspondente aos genes *EF-1 α* e *RPB2* foram incluídas nas análises (Tabela 1, Material suplementar). Sequências de *Fusarium staphyleae* (NRRL 22316) e *Fusarium cicatricum* (CBS 125552) foram utilizadas como *outgroup* (Schroers et al. 2016) (Tabela 1S, Material suplementar).

A análise de máxima parcimônia foi realizada no programa MEGA 6 e o suporte dos cladogramas foi inferido a partir de 1.000 repetições. O modelo de substituição nucleotídica foi estimado no programa MrModeltest version 2.3 (Nylander 2004). Foram selecionados pelos critérios de informação Akaike (AIC) os modelos: GTR+I+G para *EF-1 α* e GTR+I+G para *RPB2*. A inferência bayesiana foi realizada no programa Mr. Bayes 3.2.1 (Ronquist et al. 2012). O algoritmo Markov Chain Monte Carlo de quatro cadeias foi executado para 2×10^6 gerações amostradas a cada 100 gerações, para cada gene individual e para a análise combinada. Vinte e cinco por cento das árvores iniciais geradas foram descartadas para obtenção da árvore consenso. As árvores filogenéticas foram visualizadas no programa FigTree 1.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) e editadas no Corel Draw X7. As seqüências geradas no estudo foram depositadas no banco de dados do GenBank (Tabela 1).

2.4 Caracterização morfológica

Os isolados foram repicados em placas de Petri contendo meio de Batata – dextrose – ágar (BDA) e incubados no escuro a 25 °C por 4 dias, para avaliação da taxa de crescimento e, aos 14 dias, para avaliação da coloração da colônia. Os isolados foram repicados em placas de Petri com *Synthetic Nutrient-poor Agar* (SNA) contendo pedaços de folhas de cravo estéreis e incubados a 20 °C sob fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente combinada com luz negra e 12 horas no escuro, por um período de 10 a 14 dias para a avaliação das características micromorfológicas como tamanho, formato e origem de microconídios e macroconídios; tipos de fiálides; presença de clamidósporos e produção de microconídios em cadeias ou falsas cabeças (Leslie e Summerell 2006). Foram mensurados 20 isolados, representantes das espécies encontradas. Foram

realizadas 30 medições de cada estrutura para comparação com as outras já descritas na literatura.

2.5 Teste de homotalismo

Para evitar resultados falsos positivos nos cruzamentos, os isolados foram submetidos ao teste de homotalismo. Os isolados foram cultivados em placas de Petri de poliestireno (60 x 15 mm), contendo o meio de cultura Cenoura ágar (CA) e incubados a 25 °C no escuro por sete dias. Após o período de incubação, 2 mL de solução de Tween 60 a 2,5% (v/v) foram adicionados à colônia e espalhados com uma alça de Drigalsky, para promover estresse nos isolados e homogeneizar o micélio. As culturas foram incubadas a 20 °C com fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente combinada com luz negra e 12 horas no escuro, a 23 °C sob luz constante e a 25 °C sob luz constante por 30 dias (Covert et al. 2007). Os testes foram repetidos duas vezes, para a confirmação dos resultados (Leslie e Summerell 2006). Os isolados que não homotáticos foram submetidos à determinação de mating type e ao cruzamento para indução da fase sexual.

2.6 Determinação de *mating type* por PCR e indução da fase sexuada

A amplificação do idiomorfo *MAT1-1* foi realizada utilizando os *primers* FsolMat1F (CGCCCTCTKAAYGSC TTCATG) e FsolMat1R (GGAGTAGAC CTTAGCAATYAGGGC) (Costa et al. 2016) e o *MAT1-2* utilizando os *primers* FsolMat22F (5'-GTCTATGCACCCTGGCATC-3') e FsolMat2R (5'-TGGGCGGTCAAGGTAGTCGGG-3'), com amplificação de 200 pb e 212 pb, respectivamente. O volume final da reação foi de 20 µL contendo tampão 1 × (Invitrogen, Invitrogen Life Technologies, USA); 1,5 mM MgCl₂; 0,2 mM de cada dATP, dCTP, dGTP, e dTTP; 0,25 µM de cada *primer*, 1 U de Taq DNA polimerase e 4 µL de DNA do fungo na concentração de 20 ng. As condições para a amplificação de *MAT1-1* e *MAT1-2* foram: 94 °C por 30 segundos, seguida por 30 ciclos de 94 °C por 30 segundos, temperatura de anelamento de 55 °C por 30 segundos, 72 °C por 90 segundos e extensão final de 72 °C por 60 segundos. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,2% para visualização dos resultados. O comprimento dos fragmentos amplificados foi comparado com um marcador de DNA de 100 pb (New England BioLabs, EUA).

Os isolados de *mating types* opostos das espécies identificadas utilizando a filogenia foram cruzados entre si e com representantes das *mating populations* descritas por Matuo e Snyder (1973) (Tabela 1S, Material suplementar). Isolados de *mating types* opostos foram testados tanto como parental feminino quanto parental masculino. O isolado testado como parental feminino foi transferido para placa de Petri de 60 mm de diâmetro contendo meio CA, incubado por sete dias no escuro a 25 °C. O isolado testado como parental masculino foi transferido para tubos com meio completo, incubado por uma semana com fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente combinada com luz negra e 12 horas no escuro, a uma temperatura de 20 °C. Após esse período, 2 mL de solução Tween 80 a 2,5% (v/v) foram adicionados aos tubos, o micélio aéreo foi friccionado com uma pipeta de Pasteur, formando uma suspensão de esporos concentrada. A suspensão de esporos foi transferida para a placa contendo o isolado de *mating type* oposto, e espalhada com uma alça de Drigalski de modo a homogeneizar os micélios presentes na superfície da placa.

Os cruzamentos foram incubados a 23 °C com fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente combinada com luz negra e 12 horas no escuro por cinco semanas (Leslie e Summerell 2006). As avaliações foram realizadas semanalmente e os cruzamentos foram considerados férteis quando os peritécios produzidos exsudaram ascósporos. Os cruzamentos foram repetidos três vezes, para confirmar os resultados. A viabilidade dos ascósporos foi avaliada por meio da germinação em Ágar - água (AA). Com estilete de ponta fina, cirros de ascósporos foram coletados e espalhados sobre a superfície do ágar com uma alça de Drigalski e algumas gotas de água estéril. Posteriormente, a placa de Petri contendo os ascósporos foi incubada no escuro a 25 °C por 24 horas. Após este período de incubação, foi realizada a avaliação da germinação dos ascósporos em microscópio de luz sob aumento de 40x.

2.7 Teste de Patogenicidade

2.7.1 Patogenicidade em plantas

Com base nas análises filogenéticas foram selecionados 15 isolados para testar sua capacidade de causar doenças em plantas de abóbora da variedade

Jerimum de leite. Os isolados foram cultivados em placas de Petri de 6 cm contendo meio MA2% mantidos por sete dias sob temperatura de 25 °C no escuro. Foi utilizada a metodologia de inoculação em grãos de sorgo colonizado adaptado de Hartman et al. (1997). Seis discos de micélio de 6 mm foram retirados de colônias desenvolvidas e transferidos para tubos de ensaio contendo 4 g de grãos de sorgo previamente autoclavados por dois dias por 60 minutos a 121°C. Os tubos foram mantidos a temperatura de 25°C, no escuro, por 15 dias. Para a inoculação, adotou-se o seguinte procedimento: foram preparados vasos de 500 mL com substrato composto de solo, areia e substrato comercial previamente autoclavado na proporção de 1:2:1. Foram adicionados os grãos de sorgo colonizados em covas de semeadura feitas a 4 cm de profundidade. Os grãos de sorgo foram cobertos com uma camada de 2 cm de substrato. As sementes de abóbora foram semeadas e outra camada do substrato com aproximadamente 2 cm cobriu as sementes. A testemunha foi preparada com sementes de sorgo autoclavadas e a testemunha absoluta sem o uso do sorgo. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, à temperatura de 28 ±3°C. As avaliações foram realizadas diariamente por 45 dias, para observar murcha, amarelecimento ou morte das plantas. Ao final do experimento as hastes das plantas foram seccionadas para avaliação de colonização vascular, presença de pontuações e medição do tamanho de lesão. O postulado de Koch foi completado por meio do reisolamento dos isolados inoculados.

Os estádios da doença foram avaliados e caracterizados de acordo com uma escala proposta por Ambrósio et al. (2015) com notas que variaram de 0 a 5, sendo: 0 = ausência de sintomas, 1 = menos de 3% de tecidos infectados, 2 = 3-10% de tecido infectado, 3 = 11-25% de tecido infectado, 4= 26-50% de tecido infectado e 5= mais de 50% de tecido infectado. Os tratamentos (isolados) foram arrançados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições. O teste de patogenicidade foi realizado duas vezes, para confirmação dos resultados. Posteriormente, as notas da escala foram convertidas para obtenção de dados em porcentagem, utilizando a fórmula de McKinney (1923) $ID (\%) = [\sum(g \times f) / n \times X] \times 100$ em que: ID = índice de doença; g = número de plantas com determinada nota; f = nota observada; n = número total de plantas avaliadas; e X = nota máxima da escala.

2.7.2 Patogenicidade em frutos

No teste de patogenicidade em frutos os isolados foram cultivados em MA2% e inoculados em abóboras da variedade Mini paulista por dois métodos de inoculação, com furador de inox de 2 mm e o método multiagulhas. Antes da inoculação os frutos foram lavados e desinfetados com álcool 70% e hipoclorito de sódio 0,5%. No primeiro método foi realizada a injeção de 20 µL de suspensão de esporos na concentração de 1×10^4 conídios por mL. A suspensão foi injetada em um orifício de 2 mm de diâmetro feito na casca. Esse orifício foi tampado com a casca que foi retirada e recoberta com fita adesiva (Elmer 1996). Na testemunha foi injetada água destilada autoclavada. Os frutos foram mantidos no laboratório a temperatura de $25 \pm 3^\circ\text{C}$. Os frutos foram avaliados diariamente e o experimento foi concluído 14 dias após a inoculação. Foi realizado o reisolamento nos frutos inoculados para completar o postulado de Koch. O experimento foi realizado em DIC com 3 repetições e foi repetido para confirmação dos resultados.

A segunda metodologia empregada consistiu em ferimentos realizados com multiagulhas (cinco alfinetes entomológicos n.7) e a deposição sobre os ferimentos de uma gota de 20 µL de suspensão de esporos na concentração de 1×10^4 conídios por mL. Sobre a suspensão foi adicionado um algodão esterilizado recoberto com fita adesiva para manter a umidade. Após 24 horas foi retirado o algodão e mantido a fita adesiva sobre o local. Os frutos foram avaliados diariamente e o experimento foi concluído 14 dias após a inoculação. Foi realizado o reisolamento para completar o postulado de Koch. O experimento foi realizado em DIC com 3 repetições e foi repetido para confirmar os resultados.

2.8 Transmissão do fungo de sementes a plantas

No teste de transmissão foi utilizado o método de inoculação via condicionamento osmótico, para obtenção das sementes com os isolados analisados em diferentes potenciais de inóculo. As sementes foram previamente desinfestadas em álcool 70 % por 30 segundos, depois em hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% por 30 segundos e, lavadas em água destilada esterilizada. Para a inibição da germinação das sementes foi utilizado o restritor hídrico manitol a um potencial osmótico de -1,0 MPa (Costa et al. 2003). O meio BDA foi preparado

com a adição de manitol, e o cálculo da concentração do soluto foi realizado com base no software SPPM (Michel e Radcliffe 1995).

Onze isolados selecionados pela filogenia preliminar foram cultivados em meio BDA com manitol e incubados por sete dias a 25 °C no escuro. Na sequência as sementes foram colocadas sobre as colônias fúngicas e permaneceram em contato pelos períodos de tempo de 36 horas e 72 horas. Após a exposição aos dois períodos de tempos as sementes foram misturadas em sacos de papel. Nas testemunhas as sementes ficaram em contato com o meio contendo manitol sem a presença do patógeno pelos períodos de tempo de 36 e 72 horas. Foram realizados testes de germinação, índice de velocidade de emergência e sanidade de acordo com recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil 2009).

O teste de germinação foi montado em DIC com oito repetições de 50 sementes cada, sendo cada repetição correspondente a um rolo de papel. Ao final do teste foi avaliado o número de plântulas normais, anormais, mortas e infectadas. Com base na relação entre o número de plântulas normais e o total de sementes de cada repetição multiplicado por 100 foi determinada a germinação. O teste de sanidade (*blotter test*) foi realizado em DIC com dez repetições, sendo cada repetição composta por uma placa de acrílico com 40 sementes. As placas foram analisadas em microscópio estereoscópio para a determinação da presença ou ausência do fungo nas sementes, por meio da observação da formação de falsas cabeças típicas de *F. solani*. A incidência do fungo foi determinada mediante o número de sementes infectadas em relação ao total.

Para o teste de transmissão do fungo de semente para as plantas, foi realizado o teste de velocidade de emergência (IVE). Foram semeadas 200 sementes inoculadas com cada isolado divididas em quatro repetições de 50 sementes. A semeadura foi realizada em bandejas contendo areia esterilizada. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura aproximada de $30 \pm 2^\circ\text{C}$ e irrigação diária manual. As avaliações da emergência das plântulas foram realizadas diariamente até os 14 dias. Depois desse período até os 30 dias foi observada a morte de plantas e aparecimento de sintomas. Após esse período 10% das plantas sintomáticas e assintomáticas de cada isolado testado foram coletadas e plaqueadas para verificar a presença do fungo. As plantas foram seccionadas em três partes: sistema radicular (SR), região do colo (RC) e início da inserção das

folhas (IF). A transmissão foi positiva quando, no mínimo, uma parte da planta sintomática ou assintomática apresentou o crescimento micelial do morfotipo *F. solani* (Siqueira et al. 2016).

2.9 Análises estatísticas

Para avaliação dos pressupostos da análise de variância os resíduos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk e, em caso de significância, os dados foram transformados para $\sqrt{(x+1)}$. Para aceitar ou rejeitar H_0 os dados foram submetidos ao teste F e, em caso de significância, foi realizado teste de médias, para diferenciar os tratamentos. Os dados de patogenicidade em plantas e frutos e os testes de germinação em rolo de papel, sanidade e de velocidade de emergência foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, por meio do software R 3.1.3 (R Core Team 2015).

3 RESULTADOS

3.1 Análise filogenética

As filogenias dos genes individuais e combinada mostraram-se congruentes entre si, contudo apresentaram diferentes graus de resolução para os clados das espécies identificadas no estudo (Figura 1, Figura 1S, Figura 2S, Material suplementar). Foram geradas quatro árvores mais parcimoniosas para a análise combinada com índice de consistência (CI) de 0,63 e índice de retenção (RI) de 0,79, duas árvores para a análise de *RPB2* com CI de 0,57 e RI de 0,80 e uma árvore para a análise de *EF-1 α* com CI de 0,71 e RI de 0,85. Os isolados agrupam-se no clado 3 e pertencem a seis espécies filogenéticas distintas a saber: *F. petroliphilum* (FSSC 1, n=8), *F. keratoplasticum* (FSSC 2, n=4), *F. falciforme* (FSSC 3+4, n=8), *F. solani* f. sp. *cucurbitae* (FSSC 10, n=3), "*Neocosmospora suttoniana*" (FSSC 20, n=7) e *F. pseudensiforme* (FSSC 33, n=1) (Figura 1). A análise final continha 1513 caracteres dos dois loci (*EF-1 α* = 650, *RPB2* = 863). Dos caracteres, 488 foram variáveis (*EF-1 α* = 244, *RPB2* = 244), 364 informativos para parcimônia (*EF-1 α* = 170, *RPB2* = 194) e 1013 conservados (*EF-1 α* = 395, *RPB2* = 618).

Fusarium petroliphilum é representado somente por isolados obtidos de frutos de abóbora, assim como *F. solani* f. sp. *cucurbitae* (Figura 1, Figura 1S, Figura 2S,

Material suplementar). "*Neocosmospora suttoniana*" formou 2 subclados na análise combinada e de *RPB2* e acomoda isolados de plantas de melancia e melão de três estados brasileiros (Figura 1S, Figura 2S, Material suplementar). A maioria dos isolados de *F. falciforme* (*RPB2* = 43, *EF-1 α* = 9, *EF-1 α* + *RPB2* = 8) são provenientes tanto de frutos de abóbora quanto de plantas de abóbora, melancia e melão (Figura 1, Figura 1S, Figura 2S, Material suplementar).

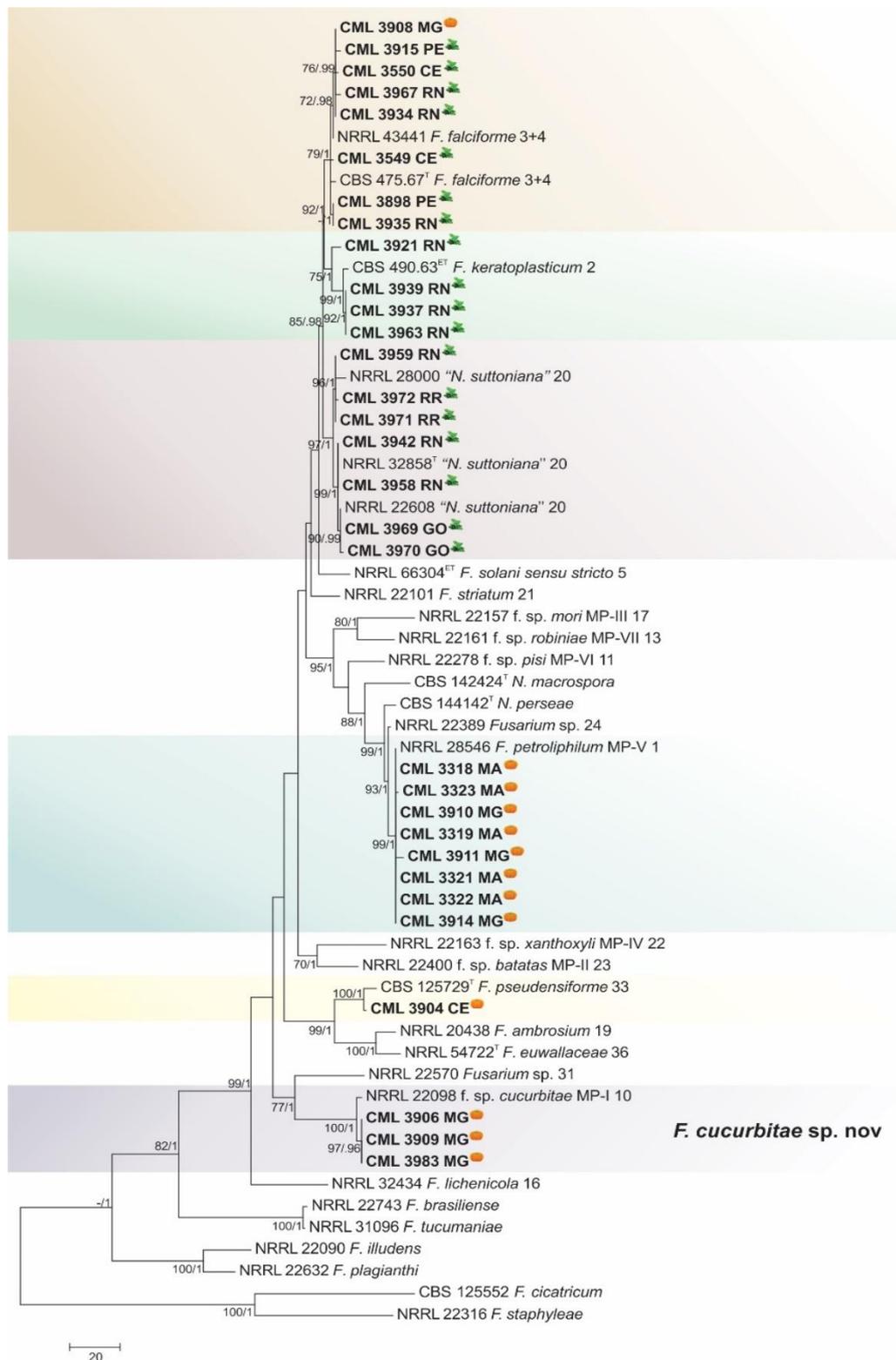


Figura 1. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium solani*, usando sequências combinadas de *EF-1α* e *RPB2*. Valores de bootstrap $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. *Fusarium staphyleae* (NRRL 22316) e *Fusarium cicatricum* (CBS 125552) foram utilizadas como *outgroup*. Os isolados do estudo são indicados em negrito. Os isolados Ex-type e ex-epitype são indicados com T e ET. 🍊 Indica os isolados obtidos de frutos de *C. moschata*. 🌿 Indica os isolados obtidos da haste de plantas de *C. moschata*, *C. lanatus* e *C. melo*.

3.2 Caracterização morfológica

Todos os isolados avaliados das seis espécies apresentaram características morfológicas típicas de *Fusarium solani*, como monofiáides longas e ocasionalmente ramificadas. Foi observada a presença de clamidósporos lisos e rugosos, solitários, aos pares ou agregados, intercalares ou apicais (Figura 2).

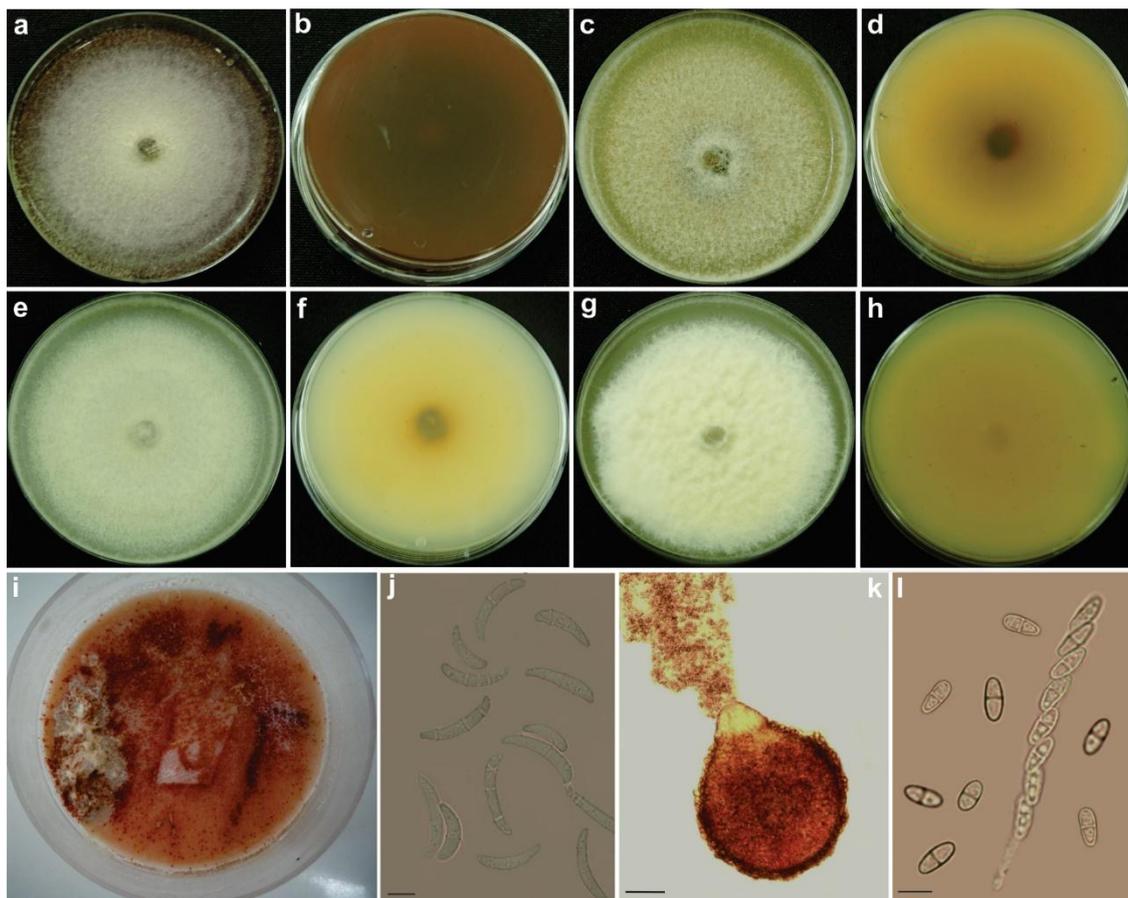


Figura 2. Caracteres morfológicos do estágio sexuado e assexuado de espécies do FSSC. a – h: cultura de isolados do FSSC em meio BDA a – b: isolado CML 3959 de “*N. suttoniana*”. c – d: isolado CML 3939 de *F. keratoplasticum*. e – f: isolado CML 3911 de *F. petroliphilum*. g – h: isolado CML 3904 de *F. pseudensiforme*. i: peritécios dos isolados CML 3942 x CML 3989 de “*N. suttoniana*” em meio de cultura CA. j: macroconídios do isolado CML 3939 de *F. keratoplasticum*, barra = 10 μ m. k: peritécio de “*N. suttoniana*”, barra = 100 μ m. l: asco e ascósporos de “*N. suttoniana*”, barra = 10 μ m.

Os representantes de *F. keratoplasticum* apresentaram as características descritas para a espécie. Contudo, observou-se formação de macroconídios do esporodóquio com 1 a 3 septos em formato de vírgula com a base fina, e com célula apical e pé indefinidas (Figura 2j). Os macroconídios de 1 septo mediam de 20 – 25 μ m com a parte superior de 5 μ m e a parte inferior de 2,5 μ m. Com 2 septos

variando de 22,5 – 25 μm e as extremidades com 5 μm na parte superior e 2,5 μm na parte inferior. Com 3 septos variando de 25,0 – 27,5 μm e as extremidades com 5 μm na parte superior e 2,5 μm na parte inferior. A coloração das colônias em BDA variou de creme a avermelhado no verso e reverso. E aos 4 dias mediam de 39 – 52 mm.

Os isolados de *F. falciforme* apresentaram coloração que variou no verso de branco, creme, creme claro, marrom claro e avermelhado e no reverso de creme, marrom claro, e avermelhado. A taxa de crescimento das colônias em BDA variaram de 26 – 50 mm. O esporodóquio variou da cor creme, marrom claro e azul. Todos os isolados formaram macroconídios no micélio aéreo e no esporodóquio. Os macroconídios do micélio aéreo e do esporodóquio eram cilíndricos a fusiformes, possuindo laterais retas, sem distinção de célula pé e célula apical, com 3 a 6 septos, prevalecendo os de 3 septos. Foi observada também a presença de clamidósporos solitários ou aos pares, lisos e rugosos, sendo que para os representantes de "*N. suttoniana*" os produziu com abundância.

As colônias de "*N. suttoniana*" apresentaram coloração creme, marrom claro e avermelhado no verso e reverso e mediam de 36 – 51 mm. O esporodóquio era de coloração creme. As características micromorfológicas eram semelhantes às descritas na literatura. Contudo observou-se que além de clamidósporos rugosos, os isolados apresentavam clamidósporos lisos solitários e aos pares formados em abundância em SNA aos 10 dias. A fase sexuada apresentou peritécios vermelhos a vermelho escuro, solitários raramente agregados em grupos, superficiais, não-estromático em meio CA, globoso a piriforme com verrugas medindo 380 – 570 \times 290 – 480 μm , não papilado, com pescoço para cima a 80 – 100 mm de altura e 100 – 150 mm de largura na base (Figura 2k). Parede peritecial 20 – 60 μm de largura, formada por duas camadas. Asco unitunicato, clavado e cilíndrico, 80 – 105 \times 5 – 7,5 μm , com um simples ápice ou às vezes com um anel óbvio, de paredes finas, contendo oito ascósporos, muitas vezes dispostos em diagonal. Os ascósporos eram exsudados em cirros marrom claro, hialinos, elipsoidais a fusiformes, lisos, com 1 septo levemente constrito 5 – 14 \times 2 – 6 μm (Figura 2l).

Baseado nas diferenças morfológicas, filogenética e biológica de *F. solani* f. sp. *cucurbitae* em relação às demais espécies do FSSC propomos nomeá-la como uma nova espécie dentro do complexo.

Fusarium cucurbitae Cardoso & Pfenning, sp. nov. Fig. 3

MycoBank -----

Type. Brazil, Minas Gerais, Contagem, cultura seca em SNA de um isolado de fruto de *Cucurbita moschata*, Jun 2016, A.M.S Cardoso (**holotype** CML 3983). GenBank:

EF1- α = MK988388; *RPB2* = MK988374

BDA: Colônias medindo de 35 a 44 mm aos 4 dias a 25 °C no escuro. Colônia inicialmente de cor branca e creme claro tornando-se creme ou marrom claro no centro. Reverso marrom claro ou marrom no centro e bordas creme ou marrom claro com presença de setores marrons. Esporodóquio abundante de coloração creme, marrom e azul formando círculos no meio de cultivo. Micélio aéreo pouco cotonoso e odor ausente.

SNA: Clamidósporos subglobosos a globosos, hialinos a subhialino, lisos e em menor quantidade verrugosos, terminais e intercalares, muitas vezes em pares ou em cadeias, produzido em sua maioria em macroconídios e em menor frequência nas hifas. Células conidiogênicas são monofiálides longas, finas, de paredes lisas, septadas e muitas vezes ramificadas. Macroconídios do micélio aéreo produzidos em estrutura ramificada similar ao esporodóquio. Macroconídios maiores que do esporodóquio, com célula pé bem desenvolvida e marcada com 5 a 14 septos, hialinos, de paredes espessas e lisas, predominando os de 7 e 8 septos. Os macroconídios de 5 septos: 50 – 67,5 × 3,75 – 5 μ m; conídios de 6 septos: 52,5 – 72,5 × 3,75 – 5 μ m; conídios de 7 septos: 72,5 – 87,5 × 3,75 – 5 μ m; conídios de 8 septos: 72,5 – 90 × 5 μ m; conídios de 9 septos 77,5 – 105 × 5 μ m; conídios de 10 septos μ m 90 - 106,25 μ m; conídios de 11 septos 90 – 117,5 × 5 μ m; conídios de 12: 107,5 – 117,5 × 5 μ m; conídios de 13 septos: 115 – 117,5 × 5 μ m; conídios de 14 septos: 115 – 122,5 × 5 μ m. Nas colônias com 10 dias foi observada a formação de CATs (tubos de anastomose conidial) nos macroconídios do micélio aéreo que ligavam um macroconídios a outro e deixavam uma cicatriz ao se desprender. Em colônias com 20 dias a formação dos CATs era observada em maior quantidade. O esporodóquio era creme, marrom ou azul. Os macroconídios do esporodóquio apresentavam de 5 a 9 septos, com predominância de 6 e 7 septos. Macroconídios de 5 septos 52,5 - 67,5 × 5,0 μ m; 6 septos 68,75– 72,5 × 3,75 – 6,25 μ m; 7 septos 72,5 – 87,5 × 3,75 – 6,25 μ m; 8 septos 72,5 – 82,5 × 5,0 – 6,25 μ m; 9 septos 80 –

85,0 × 5,0 – 6,25 µm. Produção de microconídios em falsas cabeças. Microconídios ovais, obovoides e reniformes, com 0 a 2 septos, geralmente de 0 septos: 4 – 18 × 2 – 5 µm, 1 septo: 10 – 18 × 3 – 5 µm e 2 septos: 15 – 27 × 3 – 5 µm (Figura 3).

Notas: Foi realizada a caracterização do isolado de referência NRRL 22098 = CML 1889 que pertencem a FSSC 10. As características micromorfológicas do isolado são diferentes das observadas nos isolados do Brasil. Os macroconídios são menores possuindo de 3 a 5 septos e a célula pé e apical não são tão evidentes. A colônia em BDA apresenta micélio denso cotonoso branco. Esse isolado provavelmente está degenerado em decorrência do longo período de armazenamento. A taxa de crescimento e coloração dos isolados de *F. cucurbitae* é semelhante a das outras espécies pertencentes ao clado 3 do FSSC não servindo como marcador consistente para separar essa espécie das demais do clado 3. Por outro lado, a morfologia conidial da nova espécie é diferente das demais espécies pela presença de macroconídios maiores no micélio aéreo em relação aos do esporodóquio. Os macroconídios do esporodóquio possuem de 3 a 9 septos, enquanto que os formados na estrutura esporodóquial formada no micélio aéreo são mais finos e longos e variam de 5 a 14 septos com célula pé bem definida. Outras espécies do FSSC produzem macroconídios do esporodóquio longos, como "*N. macrospora*", *F. pseudensiforme* e *F. eumartii*. "*Neocosmopora macrospora*" produz macroconídios com 3 a 9 septos, enquanto que *F. pseudensiforme* de 7 a 8 septos e *F. eumartii* de 5 a 7 septos, podendo raramente apresentar 8 a 9 septos (Gerlach e Nirenberg 1982; Nalim et al. 2011; Sandoval-Dennis et al. 2018). Entretanto, os macroconídios de *F. cucurbitae* são mais finos e maiores.

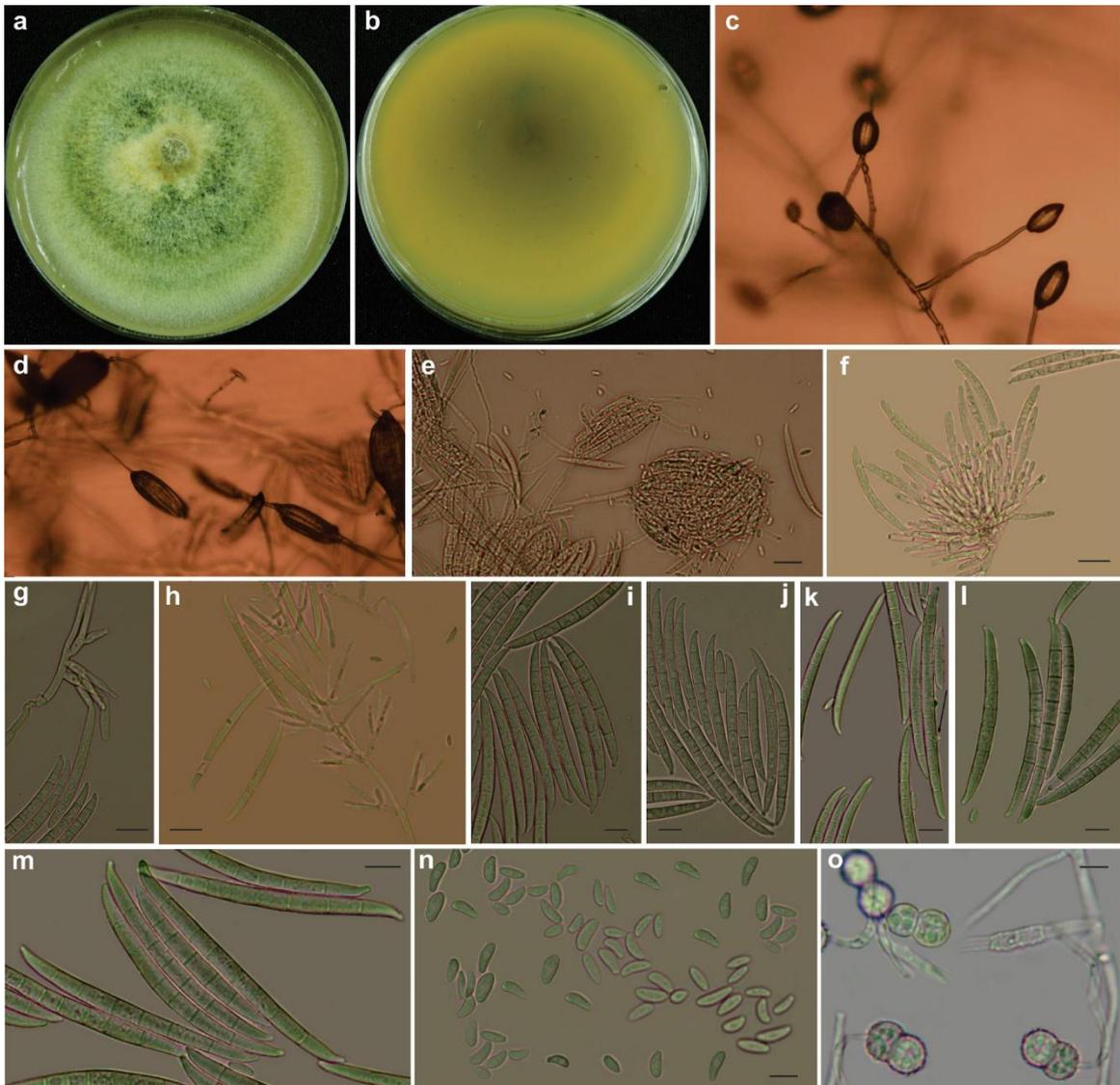


Figura 3. Caracteres morfológicos do estágio assexuado de *F. cucurbitae*. a – b: cultura do isolado CML 3983 em meio BDA. c – e: falsas cabeças, barra = 10 μ m. f - g: esporóquio e macroconídios do isolado CML 3983 em meio SNA, barra = 10 μ m. h: fiálide ramificada. i - j: macroconídios do esporóquio, barra = 10 μ m. k: macroconídios do micélio aéreo, e presença de CATs (tubos de anastomose conidial) indicados com seta na figura, barra = 10 μ m. k - m: macroconídios do micélio aéreo, barra = 10 μ m. n: microconídios, barra = 10 μ m. o: clamidósporos lisos e rugosos, barra = 10 μ m.

3.3 Teste de homotalismo, determinação de *mating type* por PCR e indução da fase sexuada

Dos 67 isolados analisados, nenhum produziu peritécios espontaneamente em meio de cultivo nas três temperaturas testadas, nem mesmo o isolado representante da espécie homotática, *F. pseudensiforme*. Este isolado apresentou o idiomorfo *MAT1-1*. Destes 67 isolados, 34 isolados apresentaram o idiomorfo

MAT1-1 e 33 isolados o *MAT1-2* (Tabela 1). Dentre os 44 isolados de *F. falciforme* 17 apresentaram o *MAT1-1* e 27 o *MAT1-2* com proporção 39:61. Já a proporção dos *mating types* *MAT1-1* e *MAT1-2* para *F. petroliphilum*, *F. keratoplasticum*, *F. cucurbitae* e "*N. suttoniana*" e foi de 67:33, 100:00, 100:00 e 67:33, respectivamente.

Em relação à indução da fase sexuada, os isolados de *F. petroliphilum* CML 3319 x CML 3322 foram capazes de cruzar e formar peritécios que exsudaram ascos com ascósporos férteis. Também foi induzida a fase sexuada de "*N. suttoniana*" pela primeira vez. O isolado de "*N. suttoniana*" CML 3942 de idiomorfo *MAT1-2*, proveniente de melão, cruzou e formou peritécios férteis com os isolados de *Passiflora edulis*. CML 3273 e CML 3989 e de melancia CML 3970. O cruzamento entre os isolados CML 3942 e CML 3989 produziram uma grande quantidade de peritécios que exsudaram após duas semanas. O isolado CML 3942 apresentou elevada fertilidade podendo ser utilizado como testador para rotina em laboratório.

3.4 Patogenicidade em plantas e frutos

Todas as espécies foram patogênicas a *C. moschata* todas as espécies foram patogênicas (Tabela 2). Os sintomas típicos da doença que ocorrem na fase de plântula foram observados apenas para *F. cucurbitae*. As plantas inoculadas com representantes dessa espécie apresentaram sintomas visíveis logo após a emergência. As plantas apresentaram umedecimento na região do colo e lesões de coloração avermelhada, acompanhada de murcha da parte aérea que culminou na sua morte de plantas de 5 a 10 dias após a emergência (Figura 4). Os representantes das demais espécies causaram pequenas pontuações e rachaduras na região do colo das plantas. Estas plantas apresentavam-se amareladas e com redução do porte e do sistema radicular. A redução no sistema radicular e da parte aérea variou de 55-68%, 27-32%, 12-20%, 10-12%, 9-11%, 3-5% para os representantes de *F. falciforme* e "*N. suttoniana*", *F. keratoplasticum*, *F. pseudensiforme* e *F. petroliphilum*, respectivamente.

Todas as seis espécies causaram podridão em frutos de abóbora de *Cucurbita moschata* variedade Mini Paulista. Não houve diferença significativa entre os métodos de inoculação pelo teste F ($P \leq 0,05$). No método multiagulhas as lesões apresentavam-se suaves, com aspecto umedecido em volta e em todos os frutos havia a presença de micélio. Ao seccionar o fruto era possível observar o

umedecimento na polpa e na cavidade onde estavam as sementes havia formação de micélio abundante que aderiu às sementes e à polpa ao redor. O aspecto umedecido em volta da lesão na casca foi observado para todos os representantes de todas as espécies com exceção do isolado de *F. keratoplasticum* (CML 3939) em que a lesão na casca expandiu lentamente medindo 1,7 cm aos 14 dias no método multiagulhas. Contudo, ao seccionar o fruto a polpa apresentava umedecida e havia micélio na cavidade das sementes. Já no teste com furador de inox o mesmo isolado provocou a formação de micélio branco abundante sobre a lesão na casca. As maiores lesões externas foram observadas para as espécies *F. cucurbitae* e "*N. suttoniana*" (Figura 5). Apesar de apresentar lesões pouco desenvolvidas externamente, os isolados de *F. petroliphilum* e um isolado de *F. keratoplasticum* colonizaram toda a polpa com abundante formação de micélio na cavidade nas sementes.

Tabela 2. Patogenicidade de espécies do FSSC em plantas de abóbora (*Cucurbita moschata*)

		1º Ensaio						Índice de Doença (%)
Espécies	Isolados	Notas / no. plantas						
		0	1	2	3	4	5	
<i>F. cucurbitae</i>	CML 3909	0	0	0	0	0	5	100.00c
	CML 3983	0	0	0	0	0	5	100.00c
	CML 3906	0	0	0	0	2	3	92.00c
<i>F. falciforme</i>	CML 3549	1	3	1	0	0	0	20.00b
	CML 3931	1	3	0	0	0	0	12.00b
	CML 3935	1	3	0	0	0	0	12.00b
<i>F. keratoplasticum</i>	CML 3963	1	4	0	0	0	0	16.00b
	CML 3939	2	3	0	0	0	0	12.00b
	CML 3921	4	1	0	0	0	0	4.00a
<i>F. petroliphilum</i>	CML 3318	2	2	1	0	0	0	16.00b
	CML 3911	2	2	1	0	0	0	16.00b
<i>F. pseudensiforme</i>	CML 3904	2	2	1	0	0	0	16.00b
<i>N. suttoniana</i>	CML 3959	1	4	0	0	0	0	16.00b
	CML 3942	1	3	0	0	0	0	12.00b
	CML 3970	1	3	0	0	0	0	12.00b
-	Test Abs	0	0	0	0	0	0	0.00a
-	Test	0	0	0	0	0	0	0.00a

		2º Ensaio						Índice de Doença (%)
Espécies	Isolados	Notas / no. plantas						
		0	1	2	3	4	5	
<i>F. cucurbitae</i>	CML 3909	0	0	0	0	0	5	100.00b
	CML 3983	0	0	0	0	0	5	100.00b
	CML 3906	0	0	0	0	1	4	100.00b
<i>F. falciforme</i>	CML 3549	3	0	2	0	0	0	16.00a
	CML 3931	2	2	1	0	0	0	16.00a
	CML 3935	3	2	0	0	0	0	8.00a
<i>F. keratoplasticum</i>	CML 3963	3	2	0	0	0	0	8.00a
	CML 3939	2	2	1	0	0	0	16.00a
	CML 3921	3	2	0	0	0	0	8.00a
<i>F. petroliphilum</i>	CML 3318	2	3	0	0	0	0	12.00a
	CML 3911	2	2	1	0	0	0	16.00a
<i>F. pseudensiforme</i>	CML 3904	1	2	2	0	0	0	24.00a
<i>N. suttoniana</i>	CML 3959	1	2	2	0	0	0	24.00a
	CML 3942	2	2	1	0	0	0	16.00a
	CML 3970	3	1	1	0	0	0	12.00a
-	Test Abs	0	0	0	0	0	0	0.00a
-	Test	0	0	0	0	0	0	0.00a

Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si, de acordo com o teste de Scott-Knott (5%).



Figura 4. Sintomas de podridão do colo e dos frutos em *C. moschata* causada por espécies do FSSC. a: plântula com caulículo avermelhado observado no teste de germinação em rolo de papel, causado por *F. cucurbitae* (CML 3983). b: podridão no caulículo e morte de plântula, com 10 dias após a emergência causada por *F. cucurbitae* (CML 3983). c - g: podridão do colo causada por *F. cucurbitae*. f: sistema radicular todo destruído causado por *F. cucurbitae* (CML 3983). h - i: redução do porte e do sistema radicular causada por *F. petroliphilum* (CML 3911). j: redução do porte e do sistema radicular causada por *F. Keratoplasticum* (CML 3939). m - a3: sintomas de podridão em frutos de abóbora. k - l: testemunha. m - n: podridão na casca e lesão marrom esponjosa com crescimento micelial causada por *F. cucurbitae* (CML 3909). o - p: fruto inoculado com o método multiagulhas, formação de micélio na superfície da casca, amolecimento da casca e lesões marrons causadas por *F. cucurbitae* (CML 3983). q - r: variações nas lesões porvocadas na casca de abóbora causada por *F. cucurbitae* (CML 3909 e CML 3983). s - t: "*N. suttoniana*" (CML 3970). u - v: *F. petroliphilum* (CML 3911). w - x: *F. falciforme* (CML 3931). y - z: *F. petroliphilum* (CML 3318). a1 - a3: sintoma na casca e crescimento intenso de micélio cavidade das sementes e nas sementes causada por *F. pseudensiforme* (CML 3904).

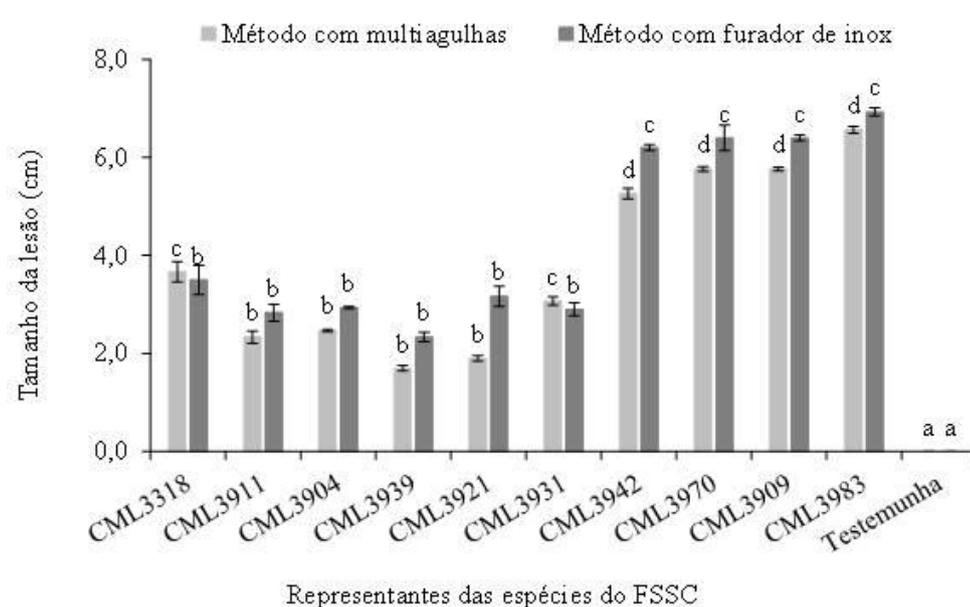


Figura 5. Patogenicidade de espécies do FSSC em frutos de abóbora (*Cucurbita moschata*) utilizando o método de multiagulhas e o método com furador de inox. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Scott-Knott 5%. *F. petroliophilum*: CML 3318 e CML 3911. *F. pseudensiforme*: CML 3904. *F. keratoplasticum*: CML 3939 e CML 3921. *F. falciforme*: CML 3931. "*N. suttoniana*": CML 3942 e CML 3970. *F. cucurbitae*: CML 3909 e CML 3983.

3.5 Transmissão do patógeno

As espécies testadas causaram efeito sobre a germinação das sementes diferindo da testemunha, com exceção de *F. petroliophilum*, *F. pseudensiforme* e um dos isolados de *F. keratoplasticum* e *F. falciforme* (Figura 6). As maiores reduções na germinação foram observadas para os representantes de *F. cucurbitae* de 65-82%. As sementes afetadas por essa espécie apresentavam lesões avermelhadas no caulículo e nas raízes primárias que evoluíram para a necrose. Contrariamente, no teste de sanidade *F. cucurbitae* foi uma das espécies com menor incidência nas sementes e a quantidade de micélio sobre a semente também foi baixa. A maior incidência foi verificada nas sementes inoculadas com os isolados de *F. falciforme* e um representante de *F. petroliophilum*, *F. keratoplasticum* e "*N. suttoniana*" (Figura 6). Para o índice de velocidade de emergência – IVE todas as espécies analisadas tiveram emergência semelhante à testemunha, com exceção dos isolados de *F. cucurbitae* CML 3983 e *F. keratoplasticum* CML 3939 que causaram redução de 35% e 24% na velocidade de emergência de plântulas até os 14 dias, respectivamente (Figura 6).

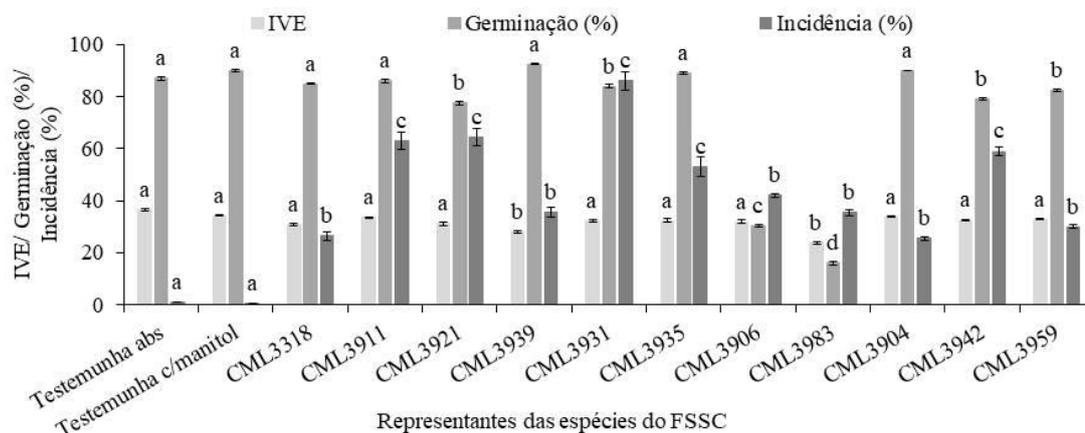


Figura 6. Emergência em areia (IVE), germinação em rolo de papel, e sanidade de sementes de abóbora (*Cucurbita moschata*) inoculadas com espécies do FSSC. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Scott-Knott 5%. *F. petroliophilum*: CML 3318 e CML 3911; *F. keratoplasticum*: CML 3921 e CML 3939; *F. falciforme*: CML 3931 e CML 3935; *F. cucurbitae*: CML 3906 e CML 3983; *F. pseudensiforme*: CML 3904; "*N. suttoniana*": CML 3942 e CML 3959. *Testemunha abs = testemunha absoluta sem manitol.

Todas as espécies aos 30 dias causaram redução no estande final em relação ao estande inicial, sendo o descréscimo maior para o isolado CML 3983 de *F. cucurbitae* (Figura 7). Este isolado provocou murcha nas plântulas a partir de 5 dias após a emergência, e redução no número de plântulas de 43%. Pudemos observar os sintomas a partir da infecção na base do cotilédone durante a germinação e em plântulas que se apresentavam murcha com o hipocótilo umedecido e avermelhado que evoluiu para a necrose. Estas plântulas apresentavam o sistema radicular todo destruído.

A transmissão das seis espécies analisadas a partir de sementes às plantas emergidas com sintomas e sem sintomas foi confirmada pela presença do fungo nos tecidos seccionados por meio de isolamentos. Todas as espécies afetaram o desenvolvimento das plantas e foram detectadas no sistema radicular e na região do colo, com exceção de *F. falciforme* que foi encontrada apenas no sistema radicular. A maior incidência das espécies foi observada no sistema radicular. Nenhuma das espécies foi detectada na parte aérea da planta aos 30 dias.

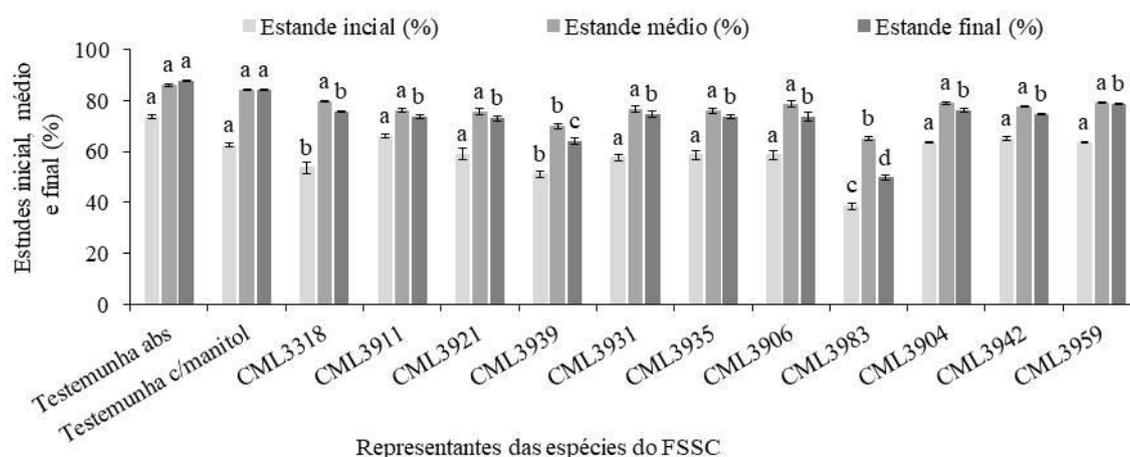


Figura 7. Emergência em areia (IVE), estande médio e estande final de plântulas a partir de sementes de abóbora (*Cucurbita moschata*) inoculadas com espécies do FSSC. Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Scott-Knott 5%. *F. petroliophilum*: CML 3318 e CML 3911; *F. keratoplasticum*: CML 3921 e CML 3939; *F. falciforme*: CML 3931 e CML 3935; *F. cucurbitae*: CML 3906 e CML 3983; *F. pseudensiforme*: CML 3904; "*N. suttoniana*": CML 3942 e CML 3959.*Testemunha abs = testemunha absoluta sem manitol.

4 DISCUSSÃO

Seis espécies do complexo *Fusarium solani* causam doença em plantas e frutos de abóbora no Brasil. As espécies relatadas com frequência no mundo em associação a cucurbitáceas são *F. petroliophilum* e *F. cucurbitae* (Elmer et al. 2007; Gómez et al. 2014; Hussein e Juber 2014; Chehri et al. 2015; González et al. 2018) e mais recentemente "*N. suttoniana*" (dados não publicados) e *F. falciforme* (Renteria-Martinez et al. 2018). Portanto, esse é o primeiro relato de *F. petroliophilum*, *F. keratoplasticum* e *F. pseudensiforme* e *F. cucurbitae* baseado análise filogenética multigênica no Brasil e o relato de *F. keratoplasticum* e *F. pseudensiforme* em cucurbitáceas no mundo. *Fusarium keratoplasticum* é uma espécie cosmopolita, sendo relatada em humanos, animais, formando biofilmes em sistema de canalização, solo e plantas (O'Donnell et al. 2008; Short et al. 2013; Chehri et al. 2015). A espécie *F. petroliophilum*, originalmente descrita a partir de um isolado obtido de petróleo degradado, representa uma espécie filogenética e biológica distinta no FSSC (Short et al. 2013). É uma das espécies comuns em ambiente clínico e está associada à ceratite micótica, além de ser frequentemente isolada de substratos oleosos e encanamentos onde forma biofilmes (Short et al. 2013). Em plantas esta espécie ficou conhecida como *F. solani* f. sp. *cucurbitae* raça 2 e *mating*

population V, e foi relatada pela primeira vez em frutos de abóbora para produção de sementes nos Estados Unidos (Tousson e Snyder 1961). É considerado um patógeno de plantas fraco, sendo encontrado mais frequentemente em frutos de abóbora e abobrinha onde causa podridão (Tousson e Snyder 1961, Mehl e Epstein 2007b, Elmer et al. 2007; González et al. 2018).

Fusarium falciforme foi a espécie encontrada em maior frequência em associação a plantas de abóbora, melancia, melão e em frutos de abóbora nas regiões produtoras no Brasil. No México também foi a espécie detectada em maior frequência nas áreas de produção de melancia causando murcha e podridão (Renteria-Martinez et al. 2018). Já foi relatada como patógeno de plantas como grão de bico, feijão-lima e soja (Azevedo et al. 2017; Chitrampalam e Nelson Jr 2017; Sousa et al. 2017). Esta espécie, anteriormente descrita como *Acremonium falciforme* comporta isolados das linhagens FSSC 3 e FSSC 4 que foram provisoriamente agrupadas por O'Donnell et al. (2008) em decorrência do baixo suporte dos cladogramas. *Fusarium falciforme* é um ruído ambiental encontrado frequentemente associados a infecções oculares, micoses e ambiente agrícola (Zhang et al. 2006).

Registros históricos mencionam *Fusarium solani* em plantas de *Cucurbita pepo* pela primeira vez na África do Sul (Doidge e Kresfelder 1932). Mas tarde, Snyder e Hansen (1941) sinonimizaram várias espécies dentro da seção *Martiella*, atribuindo a elas o termo *formae speciales*, e passaram a se referir ao patógeno como *F. solani* f. sp. *cucurbitae*. No ano de 1961, Tousson e Snyder (1961) atribuíram a f. sp. *cucurbitae* a denominação e raça 1, ao verificar que a mesma era patogênica a plântulas de *C. sativus*, *C. melo* v. *cantalupensis*, *C. vulgaris* e *C. pepo*, enquanto outros isolados obtidos por eles de frutos de abóbora não foram patogênicos, e receberam a denominação de raça 2. Foi relatada causando podridão em frutos, colo e raízes de cucurbitáceas nos EUA, Israel, Iraque, e Espanha (Tousson e Snyder 1961; Elmer et al. 2007; Mehl e Epstein 2007a; Gómez et al. 2014; Hussein e Juber 2014;). A espécie não foi registrada em outras plantas e parece ter afinidade com cucurbitáceas, especialmente as do gênero *Cucurbita*. "*Neocosmospora suttoniana*", espécie agora evidenciada como patógeno de abóbora, foi encontrada em associação a plantas de melão e melancia de diferentes regiões do Brasil. É patógeno também de melão e melancia (dados não publicados).

A espécie foi descrita recentemente a partir de isolados obtidos de sangue e olhos de humanos nos EUA e de solo do Sri Lanka (Sandoval-Dennis e Crous 2018). A descrição da espécie seguiu a nomenclatura adotada por Lombard et al. (2015) que utiliza o nome da fase sexuada para nomear as espécies do FSSC. Porém, manteremos o uso do nome *Fusarium* ao nos referirmos as espécies desse complexo, em consonância a proposta de Geiser et al. (2013), a facilidade para o entendimento dos usuários e a frequência de ocorrência da fase assexuada. No Brasil, já foi registrada em ambiente agrícola em associação com pimenta do reino e maracujazeiro (Cardoso et al. 2015). *Fusarium pseudensiforme* é uma das espécies homotáticas do FSSC e foi descrita a partir de isolados de casca de árvore morta proveniente do Sri Lanka (Nalim et al. 2011).

Em relação ao teste de homotalismo, nenhuma das linhagens foi capaz de produzir peritécios espontaneamente. O isolado de *F. pseudensiforme* apresentou apenas o idiomorfo *MAT1-1*. Das seis linhagens em associação a cucurbitáceas todas com exceção da *F. pseudensiforme* são heterotáticas. Em espécies heterotáticas ou autoestéreis, a reprodução sexual é possível somente entre dois isolados de *mating types* oposto *MAT1-1* e *MAT1-2*. Apesar de *F. pseudensiforme* ser uma espécie homotática o isolado não foi capaz de formar peritécios espontaneamente. Fatores como degeneração dos isolados ou alterações de mecanismos genéticos como mutações, deleção ou rearranjos cromossômicos maiores podem contribuir para perda de fertilidade do isolado. Saleh et al. (2012) demonstraram que em *Magnaporthe oryzae* a reprodução assexuada induz a perda rápida de fertilidade dos isolados em decorrência de mecanismos genéticos.

A proporção dos *mating types*, para as espécies foi desigual, sendo que para *F. keratoplasticum* e *F. cucurbitae* todos os isolados possuem o idiomorfo *MAT1-1*. Entretanto para essas duas espécies o número de amostras foi reduzida, impossibilitando inferências concretas da frequência dos *mating types*. Todavia, há um forte indício que para *F. cucurbitae* a reprodução em campo seja estritamente clonal. A formação de CATs que podemos observar nos isolados pode ser uma das estratégias utilizadas pela espécie para gerar variabilidade. Em campos amostrados nos Estados Unidos, por exemplo, observou-se a predominância do idiomorfo *MAT1-2* para esta espécie (Elmer et al. 2007). Este comportamento já foi observado para outras espécies do FSSC. Em campos de produção de soja e ervilha há

predominância de apenas um *mating type* para as espécies *F. virguliforme* e *F. solani* f. sp. *pisi* (Funnell et al. 2001; Covert et al. 2007). Essa proporção desigual dos *mating types* indica que a fase sexual pode ser um evento raro na natureza e sugere que o modo reprodutivo desses patógenos possa ser estritamente clonal, levantando a hipótese de que surtos patogênicos provenientes de reprodução clonal podem ser comuns para as espécies FSSC.

A avaliação da frequência de recombinação sexual é um parâmetro importante para o controle de patógenos de plantas, uma vez que a variabilidade pode influenciar a resposta do fungo a novas práticas agrícolas, a introdução de novas cultivares com diferentes níveis de resistência, a aplicação de fungicidas ou a utilização de agentes de biocontrole (Palacios et al. 2015). Para patógenos clonais sugere-se a utilização de cultivares com resistência vertical, enquanto que para patógenos que compreendem populações geneticamente diversas como resultado do cruzamento e recombinação meiótica a resistência horizontal pode ser mais eficaz (Kerényi et al. 2004). Vale salientar que essas estratégias devem ser levadas em consideração pelos programas de melhoramento. Na região Nordeste do Brasil, que responde por 98% do melão produzido no país a severidade dessa doença vem crescendo em virtude principalmente da intensificação dos plantios realizados três vezes ao ano sem que haja rotação ou sucessão com outras culturas. A severidade da doença ainda é maior nos plantios que são realizados no período chuvoso. Os produtores arriscam plantar nessa época do ano em função do elevado preço dos frutos. Contudo, as perdas atingem até a 50% e tem provocado o abandono de áreas na região.

Foi possível induzir a reprodução sexuada de “*N. suttoniana*”. “*Neocosmospora suttoniana*” representa uma nova *mating population* do FSSC. Na literatura temos sete *mating populations*, MPI a MPVII no complexo *F. solani* nomeadas por Matuo e Synder (1973). Novas *mating populations* foram relatadas após esta data, no entanto a numerologia adotada em 1973 para ordená-las foi abandonada ao logo dos anos (Vaz et al. 2012; Short et al. 2013; Costa et al 2016; Sandoval-Dennis e Crous 2018). Para o complexo de espécies *F. fujikuroi* este sistema de numeração das *mating populations* é bem estabelecido.

Fusarium cucurbitae foi a espécie mais virulenta. As plantas de abóbora apresentaram os sintomas típicos e morte entre cinco e 10 dias após a emergência.

Plantas de melão e melancia também apresentaram o mesmo comportamento morrendo até os 10 dias após a emergência. Todas as cucurbitáceas são afetadas por este patógeno (Tousson e Snyder 1961). Doidge e Kresfelder (1932) observaram que plantas de abóbora, abobrinha, melão e melancia murcham e entram em colapso de 4 a 14 dias quando inoculadas com isolados dessa espécie. O processo de patogênese das outras espécies associadas parece ser mais lento e os sintomas no geral surgem por volta dos 30 dias. As plantas apresentam pontuações na região do coleto e como sintomas reflexos, amarelecimento e redução do sistema radicular e porte da planta. É justamente neste período entre 30 e 45 dias que a severidade da doença é maior nos plantios comerciais dessas cucurbitáceas, época em que a planta desloca a maior parte das suas reservas para a produção dos frutos. Vale salientar que nas áreas de cultivo de meloeiro a um efeito sinérgico e a podridão do colo raramente é causada por uma única espécie fúngica. Levantamentos em áreas de plantio mostraram que o morfotipo *F. solani* quase sempre está associado a *Macrophomina phaseolina* ou a *Monosporascus cannonballus* (García-Jiménez et al. 2000; Andrade et al. 2015). Em nossas coletadas no Rio Grande do Norte verificamos a presença nas áreas de cultivo de *Didymella* sp. e *M. phaseolina*, contudo em menor frequência.

Nos frutos todas as espécies foram patogênicas e causaram lesões suaves e amolecimento da casca e da polpa com formação de micélio abundante dentro da cavidade das sementes. As espécies *F. petroliphium* e *F. cucurbitae* já são conhecidos patógenos de frutos de cucurbitáceas. As demais espécies ainda não haviam sido relatadas causando podridão em frutos de cucurbitáceas.

Em relação à transmissão os dados de índice de velocidade de emergência, sanidade e germinação mostram que as seis espécies associadas a cucurbitáceas são transmitidas por sementes e que elas afetam o desenvolvimento das plantas, ficando aderida externamente na casca da semente ou mesmo internamente sem afetar o embrião. No caso de *F. cucurbitae* pudemos observar no teste de sanidade e germinação que é a espécie que mais afeta as sementes e que diferente das demais, ela não fica aderida à casca. Provavelmente o fungo penetre rapidamente nas sementes. Essa característica de não afetar a viabilidade da semente favorece a disseminação a longa distância dos patógenos para áreas de plantio. *F. cucurbitae* e *F. petroliphium* já são reportados como patógenos transmitidos por sementes em

cucurbitáceas (Boughalleb e Mahjoub 2007; Elmer et al. 2007; Mehl e Epstein 2007a).

Este levantamento e identificação das espécies do complexo *Fusarium solani* em associação as cucurbitáceas no país, contribuirá no direcionamento dos programas de melhoramento ao conduzirem testes para seleção de genótipos resistentes a podridão do colo, raízes e do fruto em cucurbitáceas. Contribuirá também, no desenvolvimento de estratégias integradas de controle dessas doenças.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio do CNPq, CAPES e FAPEMIG no desenvolvimento deste trabalho, e pela concessão de bolsa de pesquisa. A Edson Luis Rezende pela assistência técnica hábil. Agradecemos também a Maruzanete P. Melo, Universidade Federal do Oeste do Pará, Juruti, Pará, Vanderlei Souza, Emater MG, Jaíba, Minas Gerais, Daniel A. Schurt, Embrapa Roraima, Roraima, Decio Shigihara, Satis, Uberlândia, Minas Gerais por fornecerem isolados de campo e material para isolamento.

REFERÊNCIAS

- Agarwal PC, Mortensen CN, Mathur SB (1998). Seed-borne Diseases and Seed Health Testing of Rice. CAB International Mycological Institute, Copenhagen, Denmark; Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries; and Kew, UK.
- Ambrósio, M. M.Q., Dantas, A. C. A., Martinez-Perez, E., Medeiros, A. C., Nunes, G. H. S., and Picó, M. B. 2015 Screening a variable germoplasm collection of *Cucumis melo* L. for seedling resistance to *Macrophomina phaseolina*. Euphytica 206: 287-300.
- Andrade, D. E. G. T., Michereff, S. J., Biondi, C. M., Nascimento, C. W. A., and Sales Junior, R. 2005. Frequência de fungos associados ao colapso do meloeiro e relação com características físicas, químicas e microbiológicas dos solos. Summa Phytopathologica 31: 327-333.
- Azevedo, D. M. Q., Rocha, F. S., Costa, C. A., Pfenning, L. H., Costa, S. S., Melo, M. P., Silva, J. G., and Fernandes, M. F. G. 2017. Etiology of root rot and wilt disease of chickpea in Brazil. Tropical Plant Pathology 42: 273-283.
- Boughalleb, N., and El Mahjoub, M. 2007. Frequency of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* from Watermelon Seeds and Their Effect on Disease Incidence. Research Journal Parasitology 2: 32-38.
- Brasil - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. 2009. Regras para análise de sementes. Mapa/ACS, Brasília, Brasil.
- Cardoso, A. M. S., Costa, S. S., Xavier, A. A., Pfenning, L. H. 2015. Five phylogenetic lineages in the *Fusarium solani* species complex cause collar rot on passion fruit. In: 13th European Fusarium Seminar, Martina Franca, Italy. Book of Abstracts Book: 122.
- Chehri, K., Salleh, B., and Zakaria, L. 2015. Morphological and phylogenetic analysis of *Fusarium solani* species complex in Malaysia. Microbial Ecology 69: 457-471.
- Chitrapalam, P., and Nelson Jr, B. 2017. Multilocus phylogeny reveals an association of agriculturally important *Fusarium solani* species complex (FSSC) 11, and clinically important FSSC 5 and FSSC 3 + 4 with soybean roots in the north central United States. Antonie van Leeuwenhoek 109: 335-347.
- Costa, S. S., Matos, K. S., Tessmann, D. J., Seixas, C. D. S., and Pfenning, L. H. 2016. *Fusarium paranaense* sp. nov., a member of the *Fusarium solani* species complex causes root rot on soybean in Brazil. Fungal Biology 20: 51-60.
- Costa, M. L. N., Machado, J. C., Guimarães, R. M., Pozza, E. A., and Dênis Oride, D. 2003. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. Ciências e Agrotecnologia 27: 1023-1030.

Covert, S. F., Aoki, T., O'Donnell, K., Starkey, D., Holliday, A., Geiser, D. M., Cheung, F., Town, C., Strom, A., Juba, J., Scandiani, M. M., and Yang, X. B. 2007. Sexual reproduction in the soybean sudden death syndrome pathogen *Fusarium tucumaniae*. *Fungal Genetics and Biology* 44: 799-807.

Doidge, E. M., and Kresfelder, L. J. 1932. A wilt disease of Cucurbits. *Farming in South Africa* 7: 299-300.

Elmer, W. H., Covert, S. F., and O'Donnell, K. 2007. Investigation of an outbreak of *Fusarium* foot and fruit rot of pumpkin within the United States. *Plant Disease* 91: 1142-1146.

Funnell, D. L., Matthews, P. S., and VanEtten, H. D. 2001. Breeding for highly fertile isolates of *Nectria haematococca* MPVI that are highly virulent on pea in planta selection for virulent recombinants. *Phytopathology* 91: 92-101.

García-Jiménez, J., Armengol, J., Sales Jr., R., Jordá, C., Bruton, B. D. 200. Fungal pathogens associated with melon plants collapse in Spain. *EPPO Bulletin* 30: 169-173.

Gómez, J., Serrano, Y., Perez, A., Porcel, E., Gomez, R. M. I., and Aguilar, M. I. 2014. *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*, affecting melon in Almería Province, Spain. *Australasian Plant Dis. Notes* 9: 136.

Hartman, G. L., Huang, Y. H., Nelson, R. L., and Noel, G. R. 1997. Germplasm evaluation of *Glycine max* for resistance to *Fusarium solani*, the causal organism of sudden death syndrome. *Plant Disease* 81: 515-518.

Hepperle, D. 2004. SeqAssem©: A sequence analysis tool contig assembler and trace data visualization tool for molecular sequences. Win32-Version. Distributed by the author via < <http://www.sequentix.de> >.

Hussein, S. N., and Juber, K. S. 2014. First report of identification *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 and 2 the causal agent of crown and root rot disease of watermelon in Iraq. *International J of Agriculture Innovations and Research* 3: 2319-1473.

Kerényi, Z., Moretti, A., Waalwijk, C., Oláh, B., and Hornok, L. 2004. Mating type sequences in asexually reproducing *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 4419-4423.

Leslie, J. F., and Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishers, Malden, USA.

Liu, Y. J., Whelen, S., Hall, B. D. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16: 1799–1808.

Matuo, T., and Snyder, W. C. 1973. Use of morphology and mating populations in the identification of formae speciales in *Fusarium solani*. *Phytopathology* 63: 562– 565.

Mehl, H. L., and Epstein, L. 2007a. Identification of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 and race 2 with PCR and production of disease-free pumpkin seeds. *Plant Disease* 91: 1288-1292

Mehl, H. L., and Epstein, L. 2007b. *Fusarium solani* species complex isolates conspecific with *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 2 from naturally infected human and plant tissue and environmental sources are equally virulent on plants, grow at 37°C and are interfertile. *Environmental Microbiology* 9: 2189-2199.

Michel, B. E., and Radcliffe, D. A. 1995. A computer program relating solute potential to solution composition for five solutes. *Agronomy Journal* 87: 131-136.

Nalim, F. A., Samuels, G. J., Wijesundera, R. L., and Geiser, D. M. 2011. New species from the *Fusarium solani* species complex derived from perithecia and soil in the Old World tropics. *Mycologia* 103: 1302-1330.

Nylander, J. A. A. 2004. MrModeltest 2.3. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University

O'Donnell, K. 2000. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca* - *Fusarium solani* species complex. *Mycologia* 92: 919-938.

O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., and Ploetz, R. C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 2044-2049.

O'Donnell, K., Sutton, D. A., Fothergill, A., McCarthy, D., Rinaldi, M. G., Brandt, M. E., Zhang, N., and Geiser, D. M. 2008. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. *J. Clinical Microbiology* 46: 2477-2490.

Palacios, S. A., Susca, A., Haidukowski, M., Stea, G., Cendoya, E., Ramírez, M. L., Chulze, S. N., Farnochi, M. C., Moretti, A., and Torres, A. M. 2015. Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum* isolated from durum wheat grains in Argentina. *International Journal of Food Microbiology* 201: 35-41.

R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Reeb, V., Lutzoni, F., Roux, C. 2004. Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32: 1036–1060.

Renteria-Martinez, M. E., Guerra-Camacho, M. A., OchoaMeza, A., Moreno-Salazar, S. F., Varela-Romero, A., Gutierrez-Millan, L. E., and Meza-Moller, A. C. 2018.

Multilocus phylogenetic analysis of fungal complex associated with root rot watermelon in Sonora, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36: 1-23.

Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., and Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol* 61: 539–542.

Saleh, D., Milazzo, J., Adreit, H., Tharreau, D., and Fournier, E. 2012 Asexual reproduction induces a rapid and permanent loss of sexual reproduction capacity in the rice fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*: results of in vitro experimental evolution assays. *BMC Evolutionary Biology* 12: 42-58.

Sandoval-Denis, M., and Crous, P. W. 2018. Removing chaos from confusion: assigning names to common human and animal pathogens in *Neocosmospora*. *Persoonia* 41: 109-129.

Schroers, H. J., Samuels, G. J., Zhang, N., Short, D. P. G., and Geiser, D. M. 2016. Epitypification of *Fusisporium (Fusarium) solani* and its assignment to a common phylogenetic species in the *Fusarium solani* species complex. *Mycologia* 108: 806-819.

Short, D. P. G., O'Donnell, K., Thrane, U., Nielsen, K. F., Zhang, N., Juba, J. H., and Geiser, D. M. 2013. Phylogenetic relationships among members of the *Fusarium solani* species complex in human infections and the descriptions of *F. keratoplasticum* sp. nov. and *F. petroliphilum* stat. nov. *Fungal Genetics and Biology* 53: 59-70.

Siqueira, C. S., Ellen Noly Barrocas, EN., Machado, JC., Corrêa, CL. 2016. Transmission of *Stenocarpella maydis* by maize seeds. *Revista Ciência Agronômica* 47: 393-400.

Snyder, W. C., and Hansen, H. N. 1941. The species concept in *Fusarium* with reference to Section Martiella. *American Journal Botany* 28: 738-742.

Sousa, E. S., Melo, M. P., Mota, J. M., Sousa, E. M. J., Matos, K. S., and Beserra, J. E. A. 2017. First Report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3 + 4) Causing Root Rot in Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Brazil. *Plant Disease* 101: 1954.

Summerbell, R. C., and Schroers, H-J. 2002. Analysis of phylogenetic relationship of *Cylindrocarpon lichenicola* and *Acremonium falciforme* to the *Fusarium solani* species complex and a review of similarities in the spectrum of opportunistic infections caused by these fungi. *Journal Clinical Microbiology* 40: 2866-2875.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.

Tousson, T. A., and Snyder, W. C. 1961. The pathogenicity, distribution, and control of two races of *Fusarium* (Hypomyces) *solani* f. *cucurbitae*. *Phytopathology* 51: 17-22.

Vaz, A. B., Elizei, V. G., Costa, S. S., Pfenning, L. H., and Ventura, J. A. 2012. First Report of Sexual Reproduction of *Fusarium solani* f. sp. *piperis* in Bahia, Brazil. *Plant Disease* 96: 581.

Zhang, N., O'Donnell, K., Sutton, D. A., Nalim, F. A., Summerbell, R. C., Padhye, A. A., and Geiser D. M. 2006. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infection in both humans and plants are common in the environment. *Journal Clinical Microbiology* 44: 2186-2190.

Zitter, T. A. 1998. Vegetable crops: *Fusarium* Diseases of Cucurbits. Fact Sheet 733.00. Online publication.
http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/factsheets/Cucurbits_Fusarium.htm.

MATERIAL SUPLEMENTAR

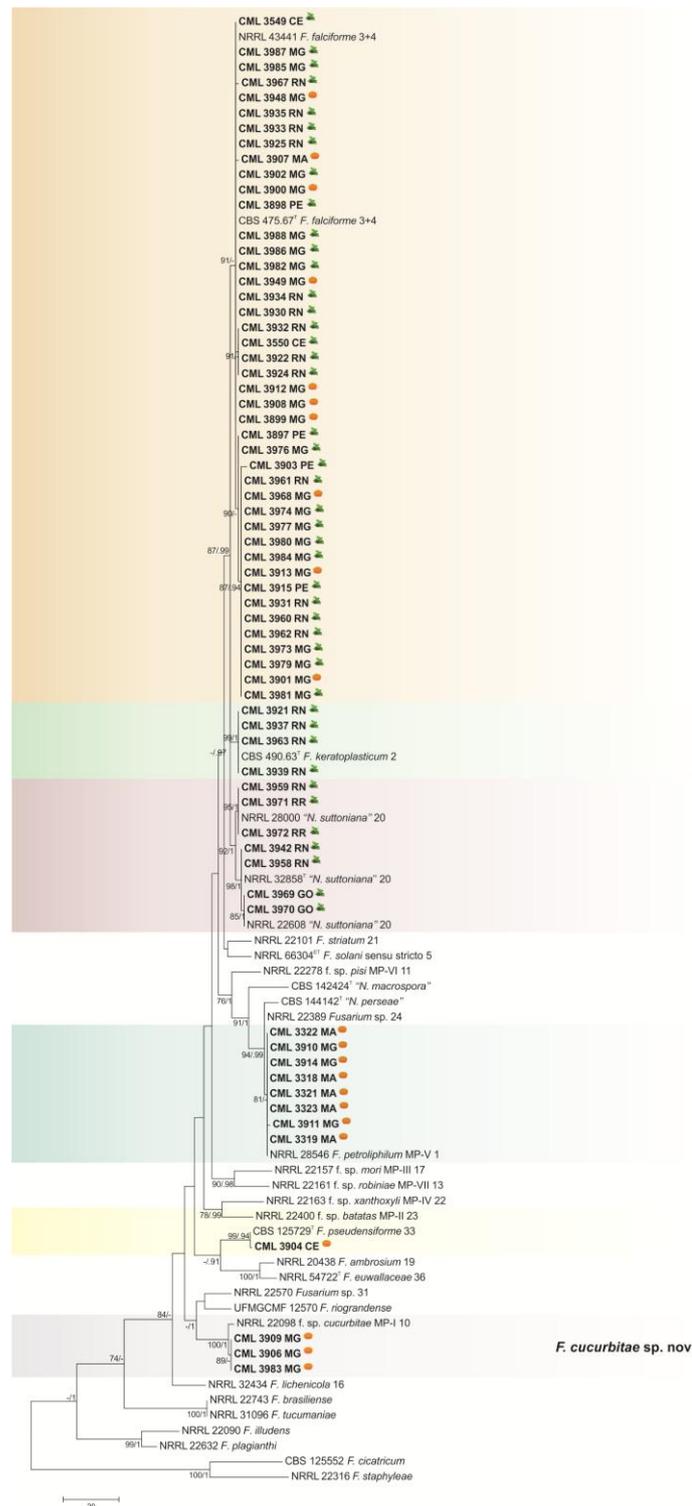


Figura 1S. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium solani*, usando sequências de *RPB2*. Valores de bootstrap $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. *Fusarium staphyleae* (NRRL 22316) e *Fusarium cicatricum* (CBS 125552) foram utilizadas como *outgroup*. Os isolados do estudo são indicados em negrito. Os isolados Ex-type e ex-epitype são indicados com T e ET. 🍊 Indica os isolados obtidos de frutos de *C. moschata*. 🌿 Indica os isolados obtidos da haste de plantas de *C. moschata*, *C. lanatus* e *C. melo*.

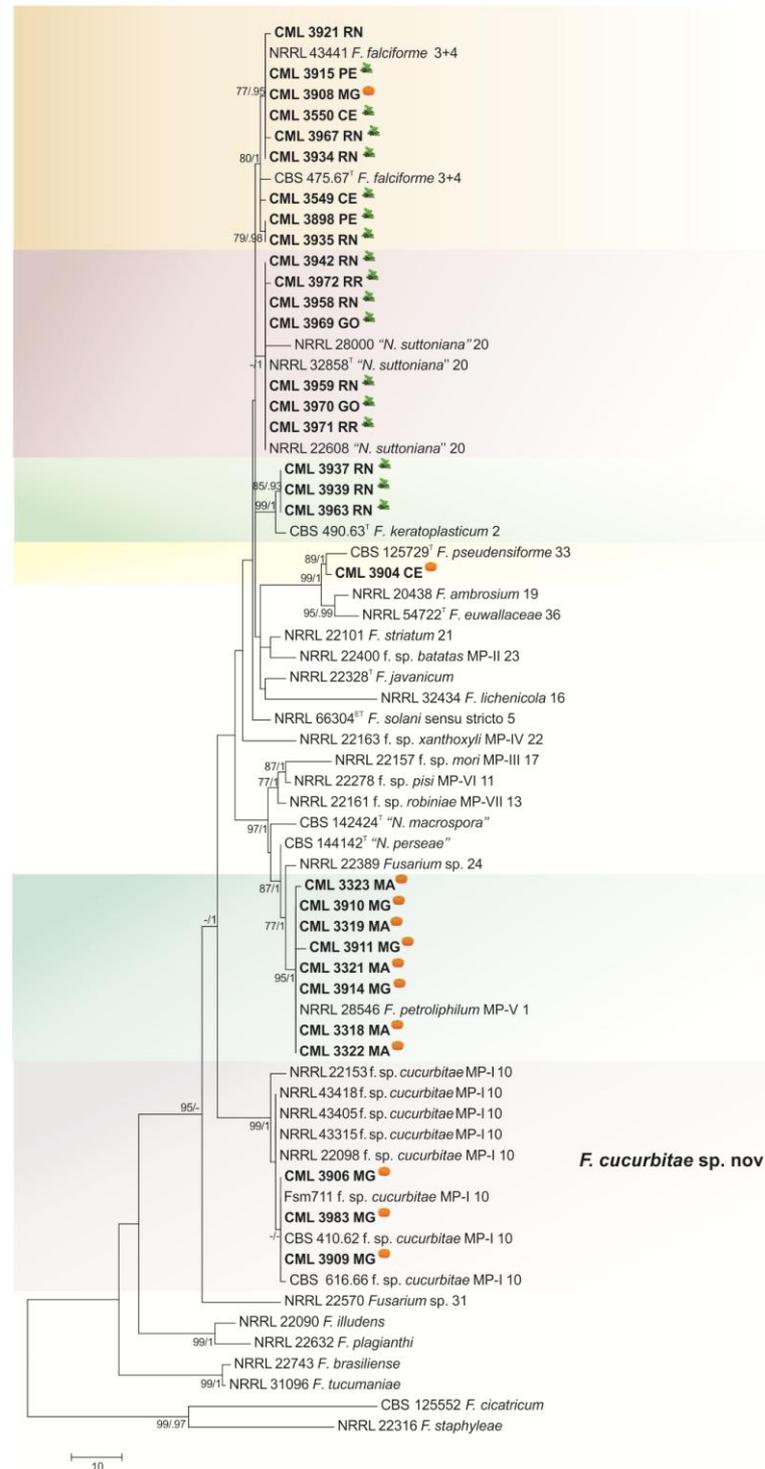


Figura 2S. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium solani*, usando sequências de *EF-1α*. Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. *Fusarium staphyleae* (NRRL 22316) e *Fusarium cicatricum* (CBS 125552) foram utilizadas como *outgroup*. Os isolados do estudo são indicados em negrito. Os isolados Ex-type e ex-epitype são indicados com T e ET. 🍊 Indica os isolados obtidos de frutos de *C. moschata*. 🌿 Indica os isolados obtidos da haste de plantas de *C. moschata*, *C. lanatus* e *C. melo*.

Tabela 1S. Sequências de isolados de referência do FSSC utilizados no estudo.

Espécie	¹ FSSC	² Código	Substrato	Origem	No. de acesso do Genbank	
					RPB2	EF-1 α
<i>F. ambrosium</i>	19	NRRL 20438	<i>Camellia sinensis</i>	Índia	JX171584	AF178332
<i>F. atrofusca</i>		NRRL 22316	<i>Staphylea trifolia</i>	EUA	JX171609	AF178361
<i>F. brasiliense</i>	Clado 2	NRRL 22743	<i>Glycine max</i>	Brasil	EU329525	AY320145
<i>F. cicatricum</i>		CBS 125552	<i>Buxus sempervirens</i>	Eslovênia	JX171609	HM626644
<i>F. falciforme</i>	3+4	CBS 475.67 ^T	Humano	Porto Rico	LT960558	LT906669
	3+4	NRRL 43441	Olho humano	Pensilvânia EUA	DQ790566	DQ790478
<i>F. illudens</i>	Clado 1	NRRL 22090	<i>Beilschmiedia tawa</i>	Nova Zelândia	JX171601	AF178326
<i>F. javanicum</i>		NRRL 22328 ¹ , BBA 65012	<i>Polyscias</i>	Sri Lanka		DQ247567
<i>F. keratoplasticum</i>	2	CBS 490.63 ¹	Humano	Japão	LT960562	LT906670
<i>F. lichenicola</i>	16	NRRL 32434	Humano	Alemanha	EF470161	DQ246977
<i>F. petroliphilum</i> MP V	1	NRRL 28546	Olho humano	Massachusetts EUA	EU329544	DQ246887
<i>F. plagianthi</i>	Clado 1	NRRL 22632	<i>Hoheria glabrata</i>	Nova Zelândia	EU329519	AF178354
<i>F. pseudensiforme</i>	33	CBS 125729 ^T	Árvore morta	Sri Lanka	KC691645	DQ247512
<i>F. riograndense</i>		UFMGCM F 12570, URM 7361	Amostra clínica	Porto Alegre Brazil		KX534002
<i>F. solani</i> f. sp. <i>batatas</i> MP II	23	NRRL 22400, CML 1894	<i>Ipomoea batatas</i>	Carolina do Norte EUA	EU329509	AF178343
<i>F. solani</i> f. sp. <i>cucurbitae</i> MP-I	10	NRRL 22153	<i>Cucurbita</i> sp.	Panamá	EU329492	AF178346
	10	CBS 410.62, NRRL 22658	<i>Cucurbita viciifolia</i>	Países Baixos		DQ247640
	10	Fsm711	Planta de <i>Cucumis melo</i>	Almería, Espanha		KC711040

Tabela 1S. continua

Espécie	¹ FSSC	² Código	Substrato	Origem	No. de acesso do Genbank	
					RPB2	EF-1 α
<i>F. solani</i> f. sp. <i>cucurbitae</i> MP-I	10	NRRL 43315	Fruto de abóbora	Connecticut EUA		DQ986151
	10	CBS 616.66, NRRL 22399, BBA 64411	<i>Cucurbita viciifolia</i>			DQ247592
	10	NRRL 43418	Planta de abóbora	Connecticut EUA		DQ986192
	10	NRRL 43405	Fruto de abóbora	Connecticut EUA		DQ986179
<i>F. solani</i> f. sp. <i>mori</i> MP III	17	NRRL 22157, CML 2167	<i>Morus alba</i>	Japão	EU329493	AF178359
<i>F. solani</i> f. sp. <i>pisii</i> MP VI	11	NRRL 22278, CML 2169	<i>Pisum sativum</i>	EUA	EU329501	AF178337
<i>F. solani</i> f. sp. <i>robiniae</i> MP VII	13	NRRL 22161	<i>Robinia pseudoacacia</i>	Japão	EU329494	AF178330
<i>F. solani</i> f. sp. <i>xanthoxyli</i> MP IV	22	NRRL 22163, CML 1884	<i>Xanthoxylum piperitum</i>	Japão	EU329496	AF178328
<i>F. solani sensu stricto</i>	5	NRRL 66304 ^{ET}	<i>Solanum tuberosum</i>	Eslovênia	KT313623	KT313611
<i>Fusarium</i> sp.	24	NRRL 22389, BBA 67587	<i>Liriodendron tulipifera</i>	Maryland EUA	EU329506	AF178340
<i>Fusarium</i> sp.	31	NRRL 22570	<i>Piper nigrum</i>	Brasil	EU329513	AF178360
<i>F. striatum</i>	21	NRRL 20101	Roupa de algodão	Panamá	EU329490	AF178333
<i>F. tucumaniae</i>	Clade 2	NRRL 31096	<i>Glycine max</i>	Argentina	EU329557	GU170636
<i>N. macrospora</i>		CBS 142424 ^I	<i>Citrus sinensis</i>	Itália	LT746331	LT746218
<i>N. perseae</i>		CBS 144142 ^T	<i>Persea americana</i>	Itália	LT991909	LT991902

Tabela 1S. continua

Espécie	¹ FSSC	² Código	Substrato	Origem	No. de acesso do Genbank	
					<i>RPB2</i>	<i>EF-1α</i>
<i>N. suttoniana</i>	20	NRRL 32858 ¹	Ferida humana	Luisiana EUA	EU329630	DQ247163
	20	NRRL 22608	Humano	Massachusetts EUA	EU329517	DQ246838
	20	NRRL 22800	Sangue humano	Geórgia EUA	EF470128	DQ246865

¹**FSSC**: linhagens filogenéticas do complexo de espécies *Fusarium solani*. ²Abreviações das coleções de culturas = **CML**: Coleção Micológica de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. **NRRL**: Northern Regional Research Laboratory, Peoria, Illinois, EUA. **CBS**: Culture collection of the Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands. **BBA**: Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Mikrobiologie, Berlin, Germany. **UFMGCM**: Coleção de Microorganismos, DNA e Células, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais. **URM**: Coleção de Micologia da Universidade de Recife, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil. Os isolados Ex-type e ex-epitype são indicados com T e ET.

CAPÍTULO 3

Espécies dos complexos *Fusarium chlamydosporum* e *Fusarium incarnatum–equiseti* causam podridão em frutos de abóbora

Acleide M S Cardoso, Barbara A A S Silva, Manoel B Silva Jr, Nevenka M Moura, Sarah S Costa, Gláucia M Moreira, Larissa Bitencourt Gomes, Ludwig H Pfenning*

Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 37200-000 Lavras, MG, Brasil.

*Corresponding Author: Ludwig H Pfenning E-mail: ludwigufla@gmail.com

Manuscrito preparado para submissão à revista Tropical Plant Pathology (JCR 2018: 1,254)

RESUMO

A podridão de frutos em cucurbitáceas é a principal doença póscolheita do melão no Brasil, e vem crescendo também na cultura da abóbora causando perdas de até 30%. O objetivo desse estudo foi relatar a ocorrência de espécies dos complexos *Fusarium chlamydosporum* (FCSC) e *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC) causando podridão dos frutos em abóbora no Brasil. Cinco isolados obtidos de duas regiões foram avaliados por análise filogenética multigênica, características morfológicas e sua capacidade de causar doença em plantas e frutos de abóbora. De acordo com a análise filogenética de máxima parcimônia das regiões *EF-1 α* e *RPB2* os isolados do FCSC agruparam em duas linhagens distintas, FCSC 1 (n=2) e FCSC 2 (n=1). Na análise combinada das regiões *EF-1 α* , *RPB2*, *CAM* e *LSU* para o FIESC um isolado foi identificado como *F. lacertarum*, enquanto o outro não agrupou com nenhuma das 38 linhagens conhecidas do complexo, sendo provavelmente uma nova linhagem, preliminarmente denominada de FIESC 39. Os três isolados testados (FCSC =1, FIESC = 2), causaram sintomas de amarelecimento e redução do porte e sistema radicular nas mudas de abóbora. Nos frutos esses isolados causaram podridão marrom seca na polpa e formação de micélio na cavidade das sementes. Os isolados do FIESC causaram sintomas na casca com sinais de esporulação marrom na superfície da mesma. *Fusarium lacertarum*, a linhagem FIESC 39 e FCSC 2 são registrados pela primeira vez causando podridão em frutos de abóbora. Os resultados gerados permitem a correta identificação dos patógenos que causam podridão em frutos de abóbora no país, e remetem para a necessidade de um estudo mais amplo sobre os agentes etiológicos da doença, visando subsidiar o manejo eficaz da doença e garantir a viabilidade econômica da cultura.

Palavras-chave: *Cucurbita moschata* *Fusarium lacertarum* *Filogenia molecular* *Cucurbitáceas*

ABSTRACT

Fruit rots represent the main post harvest diseases of melon, but also increases in pumpkin fruits, causing losses up to 30%. The objective of this study was to report the occurrence of species of the *Fusarium chlamydosporum* species complex (FCSC) and *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex (FIESC), causing fruit rot on pumpkins. Five isolates were analyzed using molecular phylogeny, morphological markers and pathogenicity tests in pumpkin plants and fruits. Monospore isolates of FCSC were identified by molecular phylogeny using partial sequences of the *EF-1 α* + *RPB2* genes, while for isolates of the FIESC, *EF-1 α* + *LSU* + *RPB2* + *CAM* sequences were used. Strains of FCSC represent two phylogenetic species, FCSC 1 (n=2) and FCSC 2 (n=1). Strains of FIESC were identified as *F. lacertarum* and FIESC 39, a so far unknown phylogenetic species within this complex. The three strains (FCSC=1, FIESC=2), which were used to evaluate pathogenicity, caused yellowing symptoms, and reduction of plant growth and root system in pumpkin plantlets. In fruits, these strains caused brown dry rot of the mesocarp. Inside the fruits, mycelium grew in the cavity, covering the seeds. Strains of FIESC also caused superficial symptoms with signs of mycelium and sporulation. *Fusarium lacertarum*, and lineages FIESC 39 and FCSC 2 are reported for the first time causing fruit rot of pumpkins. This study contributes to the correct identification of the causal agents of fruit rots in pumpkins. Further studies are needed to correctly assess real diversity of species, which can cause fruit rot under different conditions of climate and production management of pumpkins in Brazil, and to develop efficient control strategies.

Key words: *Cucurbita moschata* *Fusarium lacertarum* Molecular phylogeny *Cucurbitaceae*

1 INTRODUÇÃO

As abóboras são hortaliças frutos de fácil colocação no mercado, muito apreciadas em todo o mundo por serem ricas em fibras, caroteno, cálcio e vitaminas (Ferreira et al. 2017). Ocupam o 7º lugar em volume entre as hortaliças e são produzidas em todo território brasileiro, tendo como principais produtores os Estados de São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Paraná, Rio Grande do Sul, e Maranhão (IBGE 2015). Além do valor econômico, tem grande importância social na geração de empregos diretos e indiretos, pois demanda de grande quantidade de mão-de-obra, desde o cultivo até a comercialização, e constitui um dos alimentos básicos de populações das regiões Norte e Nordeste (Resende et al. 2013). Além das abóboras, nos últimos anos o Brasil vem experimentando um aumento crescente no volume de produção e exportação de melão, outra cucurbitácea com maior volume de exportação e a segunda em geração de divisas no país (Anuário Brasileiro de Horti e Fruti 2019). Embora não haja estimativas sobre as perdas causadas pela produção em frutos em abóbora no Brasil, em meloeiro ela chega a causar 30% de perdas na pós-colheita (Terao et al. 2008; Oliveira et al. 2014). As estimativas nos Estados Unidos relatam perdas de até 30% de frutos em campos de produção (Correll et al. 1991).

A podridão de frutos de cucurbitáceas é uma doença pós-colheita, cuja infecção ocorre ainda no campo, na pré-colheita, com a penetração na região do corte do pedúnculo. Mesmo após a transferência para as câmaras frias, as espécies de *Fusarium* continuam o processo de patogênese causando lesões que afetam a sua comercialização (Terao et al. 2008). O tratamento pós-colheita é feito utilizando o Imidazol, único produto registrado no Ministério da Agricultura para o tratamento de *Colletotrichum* na cultura do melão (Agrofit 2019). A doença é causada por várias espécies de *Fusarium*, que são identificadas por morfologia, de acordo com a literatura, como *F. equiseti*, *F. solani*, *F. acuminatum*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. scirpi*, *F. semitectum* e *F. chlamydosporum* (Bruton e Duthie 1996; Elmer 1996; Wyenandt 2004).

Externamente *F. equiseti* causa lesões suaves e afundadas, com ou sem o aspecto encharcado, podendo apresentar micélio aéreo e os frutos podem apresentar ainda fissuras no tecido epidérmico (Elmer 1996). *Fusarium equiseti* e *F.*

semitectum são fungos habitantes de solo que podem ser isolados de raízes, sementes, frutos e tecidos vegetais e estão distribuídos nas mais diversas regiões do mundo (Leslie e Summerell 2006). Embora existam semelhanças na sintomatologia entre *F. equiseti*, *F. semitectum*, *F. solani* e *F. scirpi*, essas espécies causam lesões internas marrons secas, esponjosas com um halo branco (Bruton e Duthie 1996).

Essas espécies duas espécies são parte de um grupo bastante diversificado conhecido como *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex – FIESC (Leslie e Summerell 2006; O'Donnell et al. 2009). Através de análise de sequência multilocus, O'Donnell et al. (2009) e O'Donnell et al. (2012) evidenciaram que este complexo engloba cerca de 30 linhagens filogenéticas distintas divididas em dois clados principais denominados de *Incarnatum* e *Equiseti*. Atualmente existem 39 linhagens filogenéticas neste complexo, sendo quinze nomeadas formalmente (O'Donnell et al. 2009, 2012, 2018; Short et al. 2011; Villani et al. 2016, 2019; Avila et al. 2019; Hartman et al. 2019; Lombard et al. 2019; Maryani et al. 2019; Santos et al. 2019; Wang et al. 2019).

Fusarium chlamydosporum causa podridão marrom seca, contudo com expansão lenta abaixo da superfície da casca que geralmente se limita a polpa ou pode se estender para cavidade das sementes (Wyenandt 2004). *Fusarium chlamydosporum* foi relatado pela primeira vez em associação a pseudocaule de bananeira em Honduras (Wollenweber e Reinking 1925). O termo *Fusarium chlamydosporum* species complex - FCSC foi introduzido por O'Donnell et al. (2009) a partir de filogenia multigênica de uma coleção de 26 isolados obtidos de humanos, animais e solo, separou os isolados em quatro linhagens filogenéticas distintas.

Embora seja uma das mais importantes doenças pós-colheita da abóbora, a doença não foi relatada nessa cultura no Brasil. Ainda, é a principal doença pós-colheita do melão. A identificação das espécies realizada por morfologia, sem levar em consideração as espécies crípticas, a ausência de literatura consistente sobre o desenvolvimento da doença, controle, distribuição e frequência das espécies de *Fusarium*, que ocorrem nas cucurbitáceas cultivadas no país, dificultam a busca por formas alternativas de controle. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi relatar a ocorrência de espécies filogenéticas do complexo *Fusarium chlamydosporum* e *Fusarium incarnatum-equiseti* em abóbora no Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos isolados

Foram realizados isolamentos de frutos de abóbora com sintoma de podridão e de plantas que apresentavam-se murchas. Fragmentos dos frutos e das hastes dessas plantas foram lavados em água, em seguida desinfestados com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%. Os fragmentos de aproximadamente 2 mm foram plaqueados em meio extrato de malte (MA2%) (Himedia Laboratories, Mumbai, India). Os isolados que apresentaram características morfológicas de FCSC e FIESC foram submetidos ao cultivo monospórico e preservados em Castellani a 10 °C no escuro e em glicerol 15% a -80 °C (Tabela 1). Esses isolados foram depositados na Coleção Micológica de Lavras (CML), Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil (<http://www.dfp.ufla.br/cml/>).

Tabela 1. Isolados dos complexos *Fusarium chlamydosporum* e *Fusarium incarnatum-equiseti* de *Cucurbita moschata* utilizados no estudo

Espécie	¹ Código	Linhagem	² Origem	No. do acesso do GenBank			
				<i>EF-1α</i>	<i>RPB2</i>	<i>CAM</i>	<i>LSU</i>
<i>F. chlamydosporum</i>	CML 4008	FCSC 1	Jaíba MG	MK988408	MK988413		
	CML 4065	FCSC 1	Jaíba MG	MK988409	MK988412		
<i>Fusarium</i> sp.	CML 3731	FCSC 2	Nepomuceno MG	MK988410	MK988411		
<i>F. lacertarum</i>	CML 3990	FCSC 4	Mossoró RN				
<i>Fusarium</i> sp.	CML 3905	FIESC 39	Nepomuceno MG				

¹Abreviação da coleção de cultura: **CML**: Coleção Micológica de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. ²**Estados Brasileiros** = MG: Minas Gerais, RN: Rio Grande do Norte.

2.2 Extração de DNA, amplificação por PCR e análise filogenética

Os isolados foram cultivados em meio MA2% e incubados em agitador a 100 rpm por três dias, à temperatura ambiente (22 °C a 25 °C). A extração de DNA foi realizada utilizando o kit Wizard[®] Genomic DNA purification (Promega, São Paulo, Brazil). A concentração e qualidade do DNA foram estimadas em aparelho NanoDrop 2000, e visualmente em gel de agarose 1,2%. Foram geradas sequências de DNA para fator de alongação 1 alpha - *EF-1α* (Ef-3/Ef-22) e segunda maior subunidade da RNA polimerase - *RPB2* (5F2/7cR) para FCSC e sequências de *EF-1α* (Ef-3/Ef-22), subunidade maior do RNA ribossômico - *LSU* (IST5/NL4) e calmodulina - *CAM* (CL1/ CL2A) para FIESC.

As PCRs foram realizadas com volume final de 25 µL contendo 12,5 µL (1x) GoTaq[®] Colorless Master Mix kit (Promega, São Paulo, Brazil), 0,7 µL de cada primer (0,25 µM), 9,1 µL água Milli-Q e 2 µL DNA genômico na concentração de 20 ng. µL⁻¹. As reações foram realizadas no termociclador My Cycler[™] (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). As condições para amplificação dos isolados foram de acordo: *EF-1α* (Carbone e Kohn 1999) e *RPB2* (Liu et al. 1999) para o FCSC e FIESC. E de *CAM* (O'Donnell et al. 2009) e *LSU* (White et al. 1990) para o FIESC. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,2% corado com GelRed (Biotium[®]). A visualização das bandas foi realizada em fotodocumentador MiniBis Pro (Uniscience). Os fragmentos amplificados foram purificados utilizando-se PCR Products Purification Kit (Ludwig Biotec, Porto Alegre, Brasil). Os fragmentos gerados foram sequenciados nas direções senso e antisenso da empresa Macrogen - EUA.

As sequências consenso foram obtidas por meio do programa SeqAssem (Hepperle 2004). Alinhamentos múltiplos foram gerados utilizando-se a ferramenta CLUSTALW implementada no programa MEGA 6 (Tamura et al. 2013). As análises filogenéticas foram realizadas pelo método de Máxima Parcimônia e inferência bayesiana para cada gene individual e para a análise combinada. Sequência de referência de *F. concolor* (NRRL 13459) foi utilizada como *outgroup* para o FIESC (O'Donnell et al. 2009). Sequências de *F. brachygibbosum* (NRRL 34033), *F. armeniacum* (NRRL 43641), *F. aywerte* (RBG 5743), *F. tjaynera* (NRRL 66246), *F. flocciferum* (NRRL 45999) e *F. concolor* como *outgroup* para o FCSC (Tabela 1S, Material Suplementar) (O'Donnell et al. 2009).

A análise de Máxima parcimônia foi realizada no programa MEGA 6 e o suporte dos cladogramas foi avaliado por *bootstrap* com 1.000 repetições. O modelo foi estimado no programa MrModeltest 2.3 (Nylander 2004). Foram selecionados baseado no critério de informação Akaike – AIC para o FCSC os modelos: GTR+G para *EF-1 α* e SYM+G para *RPB2*. Para o FIESC os modelos selecionados foram: GTR+G para *EF-1 α* , SYM+I+G para *LSU*, GTR+I+G para *RPB2* e SYM+G para *CAM*. A análise bayesiana foi realizada no programa MrBayes 3.2 (Ronquist et al. 2012). E os algoritmos Markov Chain Monte Carlo de quatro cadeias foram executados para 2×10^6 gerações amostradas a cada 100 gerações, para todas as análises do FCSC e do FIESC. Vinte e cinco por cento das árvores iniciais geradas foram descartadas para obtenção da árvore consenso. As árvores filogenéticas foram visualizadas no programa FigTree 1.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) e editadas no Corel Draw X7. As seqüências geradas foram depositadas no banco de dados do GenBank nos (Tabela 1).

2.3 Teste de patogenicidade

2.3.1 Patogenicidade em plantas

O inóculo foi cultivado em placas de Petri de 9 cm contendo meio MA2% por sete dias sob temperatura de 25 °C no escuro. Foi utilizada a metodologia de inoculação em grãos de sorgo colonizado adaptado de Hartman et al. (1997). Seis discos de micélio de cada isolado foram transferidos para tubos de ensaio contendo 4 g de grãos de sorgo previamente autoclavados. Os tubos foram incubados à temperatura de 25 °C, no escuro, por 15 dias. Em vasos contendo 500 mL de solo, areia e substrato Tropstrato[®] (1:2:1) previamente autoclavado foram adicionados os grãos de sorgo colonizados em covas feitas a 4 cm de profundidade. Os grãos de sorgo foram cobertos com uma camada fina de solo e foram semeadas duas sementes de abóbora da variedade Jerimum de leite. Outra camada fina de substrato foi adicionada para cobrir as sementes. A testemunha não inoculada foi preparada com sementes de sorgo não inoculadas e a testemunha absoluta sem o uso do sorgo. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, a temperatura de 28 ± 3 °C. Foi inoculado um isolado do FCSC (CML 3731), e dois isolados do FIESC (CML 3905 e CML 3990).

As avaliações foram realizadas diariamente por 30 dias, para observar murcha, amarelecimento ou morte das plantas. Ao final do experimento as plantas foram analisadas para observação dos sintomas. O postulado de Koch foi completado por meio do reisolamento dos isolados inoculados que foram identificados com base nas características morfológicas. Os tratamentos (isolados) foram arranjados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições e o teste de patogenicidade foi repetido para confirmação dos resultados.

2.3.2 Patogenicidade em frutos

Os isolados foram repicados em meio MA2% e inoculados em abóboras da variedade Mini paulista por dois métodos de inoculação. Antes da inoculação os frutos foram lavados e desinfetados com álcool 70%. No primeiro método foi realizada a injeção de 0,2 mL de suspensão de esporos na concentração de 1×10^4 conídios por mL. A suspensão foi injetada em um orifício superficial de 2 mm de diâmetro feito na casca. O orifício foi tampado com a casca que havia sido retirada e recoberta com fita adesiva (Elmer 1996). Na testemunha foi injetada água destilada autoclavada. Os frutos foram mantidos no laboratório a temperatura de 25 ± 3 °C, e avaliados diariamente por 14 dias. Após esse período foram seccionados para avaliação dos sintomas. Foi realizado o reisolamento nos frutos inoculados para completar o postulado de Koch. O experimento foi realizado em DIC com 3 repetições e repetido para confirmação dos resultados.

A segunda metodologia empregada consistiu em ferimentos realizados com multiagulhas e a deposição sobre o ferimento de uma gota de 0,2 mL de suspensão de esporos na concentração de 1×10^4 conídios por mL. Sobre a suspensão foi adicionado um algodão úmido esterilizado recoberto com fita adesiva. Após 24 horas foi retirado o algodão e mantido a fita adesiva sobre o ferimento. Os frutos foram avaliados diariamente por 14 dias. Os frutos foram então seccionados para avaliação dos sintomas. Foi realizado o reisolamento para completar o postulado de Koch. E o experimento foi realizado em DIC com 3 repetições e montando duas vezes para confirmação dos resultados.

Para avaliação dos pressupostos da análise de variância os resíduos foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram submetidos ao teste F e, em

caso de significância, foram comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, por meio do programa R 3.1.3 (R Core Team 2015).

2.4 Caracterização morfológica

Os isolados do FCSC e FIESC foram repicados em placas de Petri contendo meio de Batata – dextrose – ágar (BDA), incubados no escuro a 25 °C por 4 dias para avaliação da taxa de crescimento e aos 14 dias para avaliação da coloração da colônia. Em Synthetic nutrient-poor Agar (SNA) contendo pedaços de folhas de cravo estéreis, os isolados foram incubados a 20 °C sob fotoperíodo de 12 horas de luz branca fluorescente combinada com luz negra e 12 horas no escuro, por um período de 10 a 14 dias para a avaliação das características micromorfológicas como tamanho, formato e origem de microconídios e macroconídios; tipos de fiáides; presença de clamidósporos e produção de microconídios em cadeias ou falsas cabeças (Leslie e Summerell 2006). Foram realizadas 30 medições de cada estrutura para comparação com as outras já descritas na literatura.

3 RESULTADOS

3.1 Análise filogenética

O alinhamento final da análise combinada do FCSC continha, 1262 caracteres, com 440 sítios variáveis, 257 sítios informativos para parcimônia, 819 conservados. Dois isolados de abóbora obtidos de plantas com murcha, agruparam com a sequência do isolado tipo da linhagem FCSC 1 com 98% de *bootstrap* e 1 de probabilidade posterior na análise combinada, e 97% de suporte e 1 de probabilidade posterior na análise individual do gene *EF-1 α* . Já o isolado obtido de fruto com podridão agrupou com sequências de isolados de referência da linhagem FCSC 2 (Fig. 1, Fig. 1S).

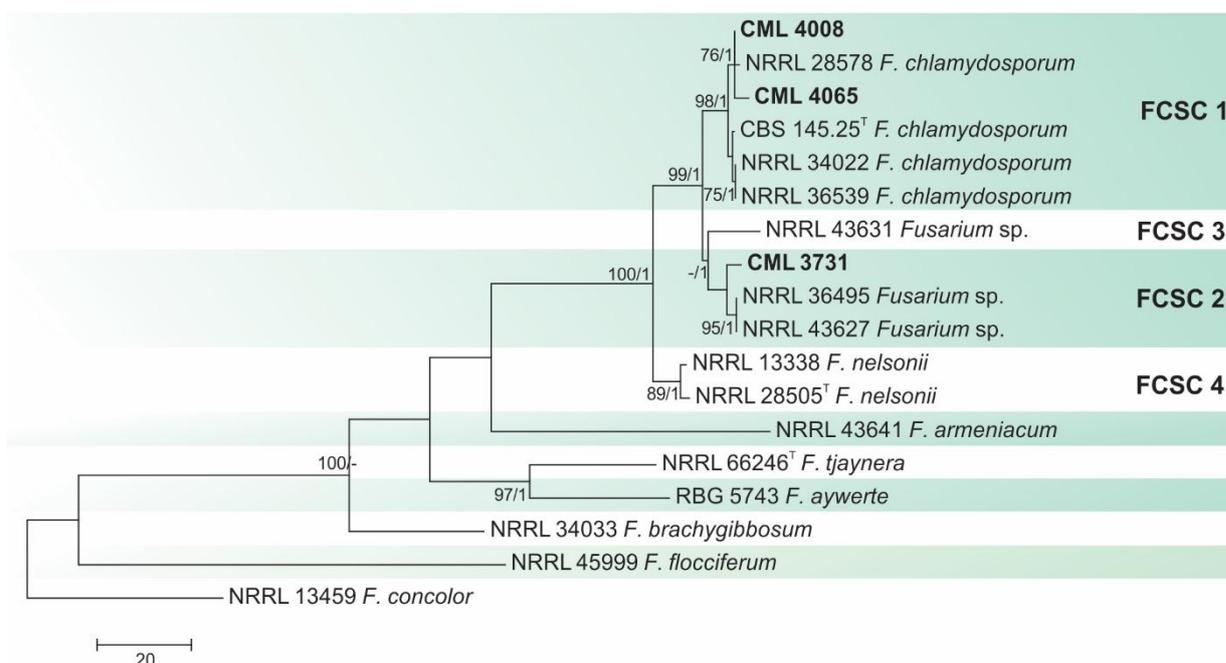


Figura 1. Árvore filogenética de Máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium chlamydosporum*, usando sequências combinadas dos genes *EF-1 α* e *RPB2*. Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. Valores de CI = 0.752, RI = 0.719. Os isolados do estudo são indicados em negrito. Os isolados Ex-type são indicados com T.

Inicialmente, foi realizada uma análise filogenética com todas as espécies do FIESC disponíveis, para determinar com quais linhagens do complexo os isolados agrupariam (árvore não mostrada). O conjunto de dados do alinhamento combinado final das regiões gênicas *EF-1 α* (522 pb), *LSU* (1116 pb), *RPB2* (892 pb) e *CAM* (701 pb) do FIESC das totalizaram 3231 pb, com 2541 caracteres conservados, 673 variáveis, 286 parcimônia informativos, sendo o gene *CAM* o mais informativo entre todos nesta análise. Um isolado do FIESC agrupou no clado *Equiseti* do complexo com o isolado tipo de *F. lacertarum* com 94% de suporte e 1 de probabilidade posterior na análise de *EF-1 α* e 90% *bootstrap* e 1 de probabilidade posterior na análise combinada. O outro isolado pertence ao clado *Incarnatum*, contudo não agrupou com nenhuma das linhagens conhecidas, representando uma nova linhagem do FIESC, preliminarmente denominada FIESC 39 (Fig. 2, Fig.2S).

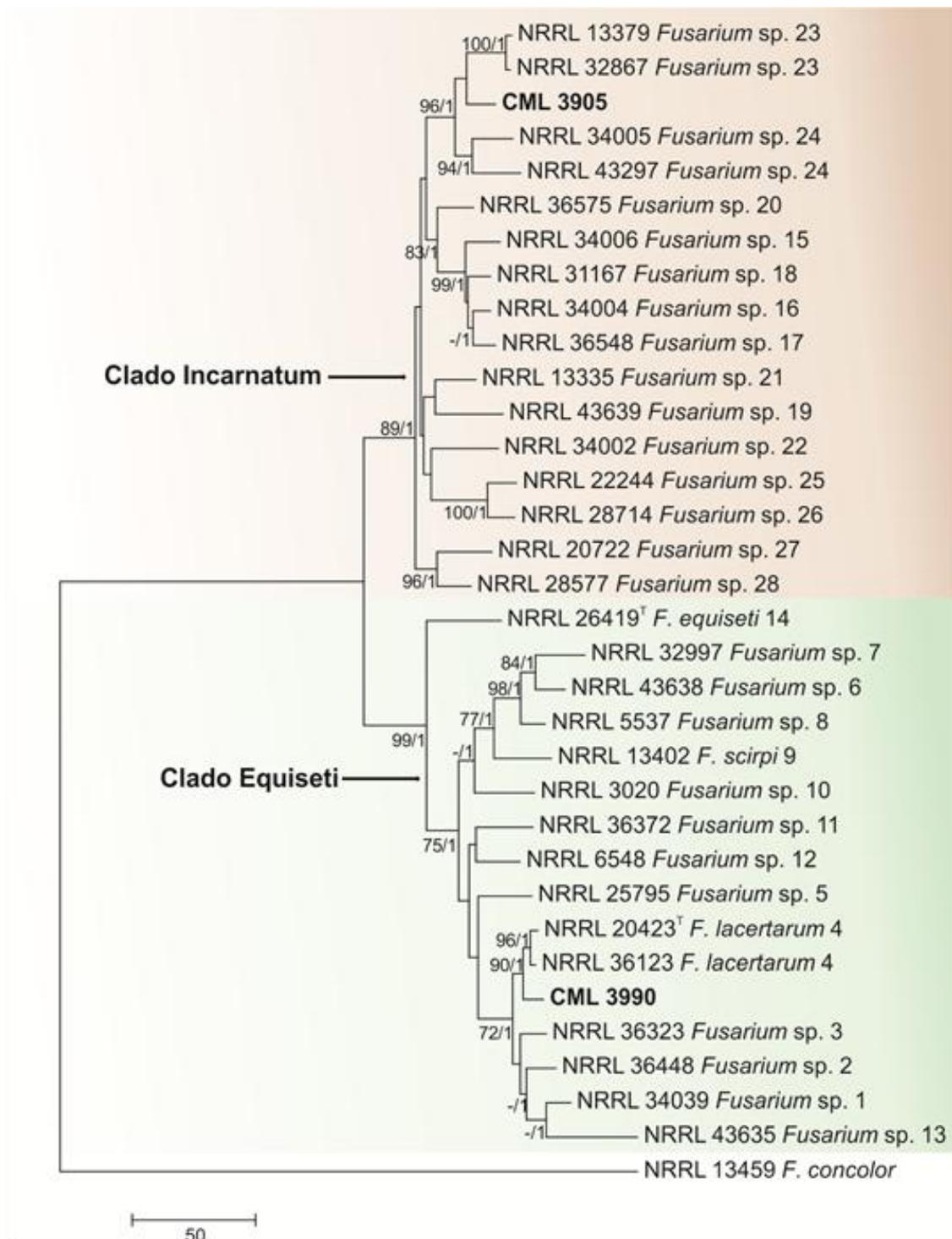


Figura 2. Árvore filogenética de Máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium incarnatum - equiseti*, usando sequências combinadas dos genes *EF-1 α* , *LSU*, *RPB2* e *CAM*. Valores de bootstrap $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. Valores de CI = 0.689, RI = 0.752. Os isolados do estudo são indicados em negrito. Os isolados Ex-type são indicados com T.

3.2 Teste de patogenicidade

No teste de patogenicidade o representante da FCSC 2 (CML 3731) causou amarelecimento e redução do porte e do sistema radicular que variou de 30,0 a 67,0% e 25,0 a 50,0%, respectivamente. Em alguns vasos foi possível observar a formação de micélio de coloração púrpura do fungo sobre a superfície (Fig. 3). Os isolados do FIESC também causaram amarelecimento e redução do porte e do sistema radicular das plantas (Fig. 4). A redução provocada pelo isolado CML 3990 de *F. lacertarum* variou de 50,0 a 60,0% e 47,0 a 79,0%, respectivamente. Já o isolado CML 3905 da FIESC 40 provocou redução de 30,0 a 47,0% e 40,0 a 55,0% no porte e sistema radicular. Além disso, algumas plantas apresentaram pontuações e rachaduras na região do colo, e outras secaram 15 dias após a emergência.

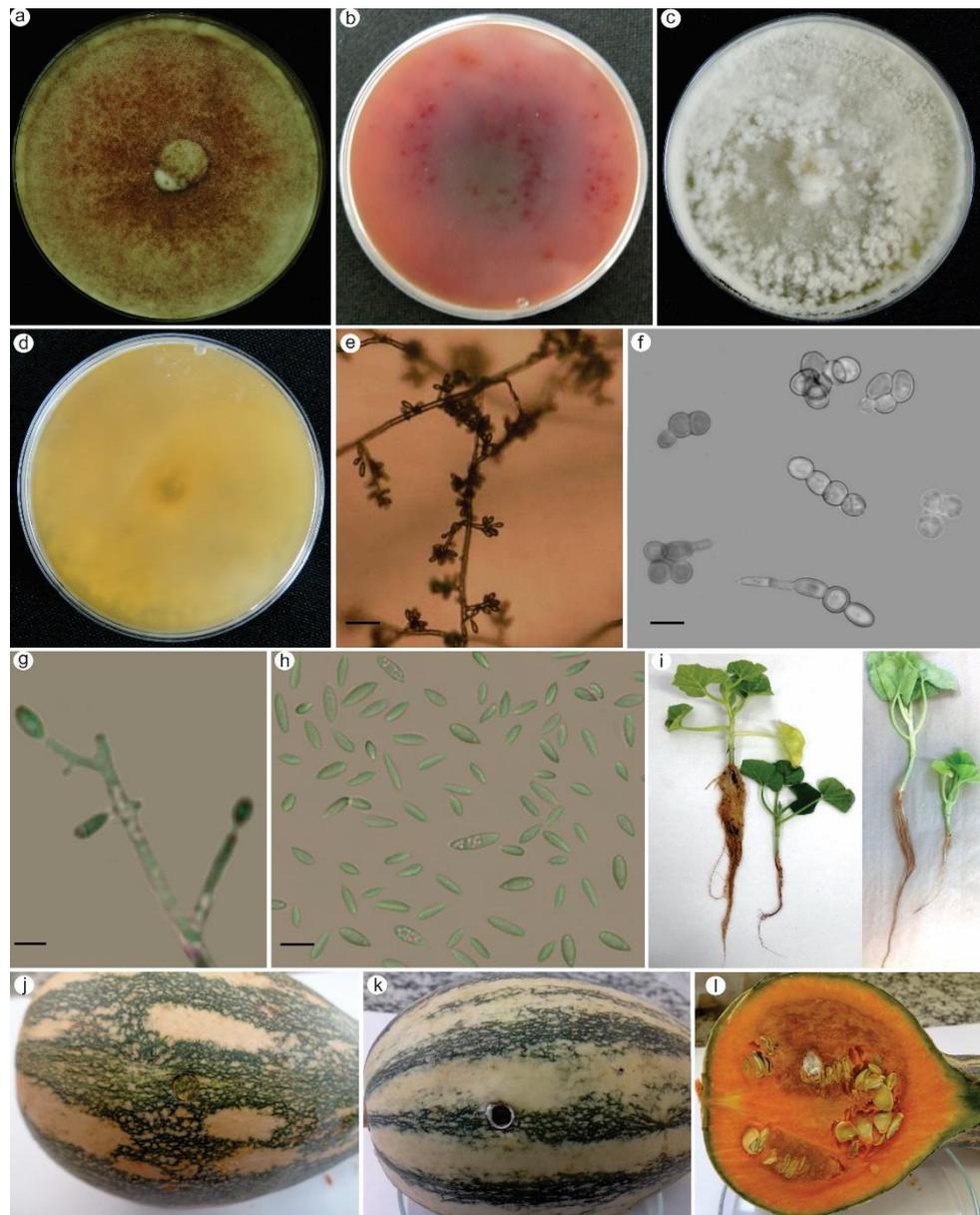


Figura 3. Caracteres morfológicos do estágio assexuado da linhagem FCSC2 do complexo *Fusarium chlamydosporum* e sintomas da doença em plantas e frutos de abóbora. a - d: cultura dos isolados em meio BDA; a-b: CML 3731, c-d: CML 4065. e: microconídios no micélio aéreo, barra = 50 μm . f: clamidósporos agrupados e solitários, barra = 20 μm . g: Polifialides, barra = 20 μm . h: microconídios, barra = 10 μm . i: sintomas causados em plantas de abóbora. j: testemunha. k - l: sintomas em frutos de abóbora.

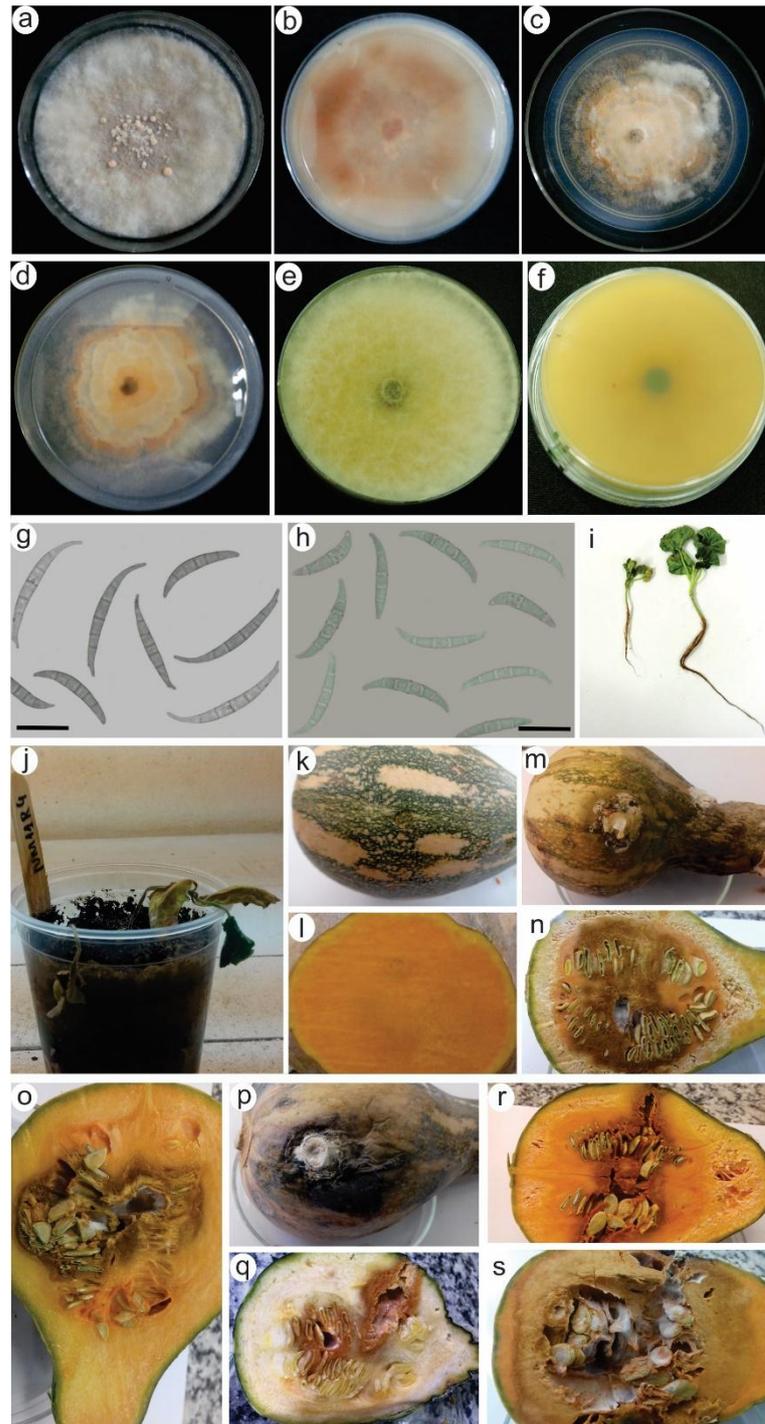


Figura 4. Caracteres morfológicos do estágio assexuado de espécies do complexo *Fusarium incarnatum - equiseti* e sintomas da doença em plantas e frutos de abóbora. a – d: cultura do isolado CML 3990 de *Fusarium lacertarum* em meio BDA e SNA. e – f: cultura do isolado CML 3905 (FIESC 39) em meio BDA. g: macroconídios de *F. lacertarum*, barra = 20 μ m. h: macroconídios de FIESC 39, barra = 20 μ m. i: sintomas causados em plantas de abóbora por *F. lacertarum*. j: causados em plantas de abóbora pela FIESC 39. k - l: testemunha. m – o: sintomas em frutos de abóbora. p - s: sintomas em frutos de abóbora (CML 3905).

Em relação a patogenicidade nos frutos, não houve diferença significativa entre os dois métodos de inoculação utilizados pelo teste F ($P \leq 0,05$). Todos os isolados diferiram da testemunha para os dois métodos utilizados de inoculação (Fig. 5). O isolado do FCSC não causou lesão ou podridão aparente na casca do fruto. Entretanto, a polpa apresentava podridão marrom seca que media de 1,5 a 3,0 cm e crescia de extensão quando mais se aproximava da cavidade das sementes. Na cavidade das sementes observa-se a presença de micélio tanto na cavidade quanto nas sementes (Fig. 4). O isolado de *F. lacertarum* provocou podridão na casca e amolecimento dos frutos com esporulação marrom claro sobre a lesão. Na polpa, a lesão era seca e de coloração marrom e a medida que se aproximava da cavidade das sementes, aumentava de tamanho. Era possível observar a formação de micélio na cavidade e nas próprias sementes. Os sintomas causados FIESC 39 eram semelhantes ao de *F. lacertarum*, contudo a podridão na polpa era úmida (Fig. 4).

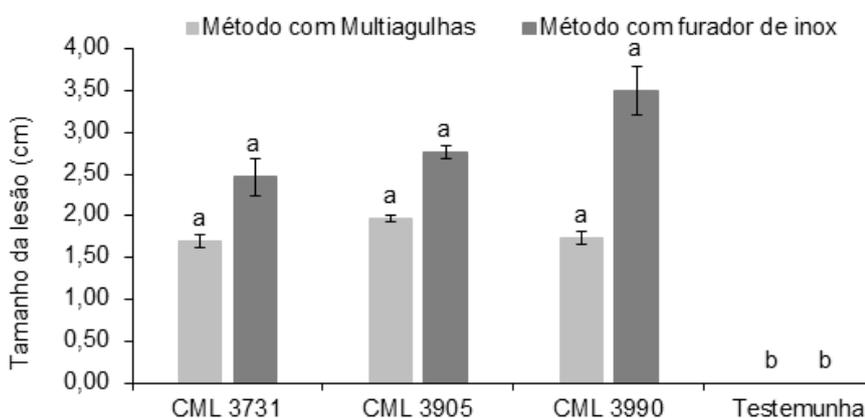


Figura 5. Patogenicidade de espécies do FCSC e FIESC em frutos de abóbora (*Cucurbita moschata*) utilizando o método de multiagulhas e o método com furador de inox. CML 3731: FCSC 2. CML 3905: FIESC 39. CML 3990: *F. lacertarum*.

3.3 Caracterização morfológica

Os isolados do FCSC apresentaram as características descritas na literatura como coloração borgonha para os isolados FSCS (CML 3731) e FCSC (CML 4008) e branca com centro marrom claro para o isolado CML 4065 em BDA (Fig. 3). A taxa de crescimento aos quatro dias variou de 5,0 a 6,0 cm. Não foi observada a formação de esporodóquio em SNA com folhas de cravo para nenhum dos isolados. Não foi possível diferenciar os representantes da FCSC 1 dos FCSC 2. Para o

isolado de *F. lacertarum* a taxa de crescimento variou de 4,5 - 6,0 cm e apresentou em BDA coloração salmão no centro e bordas bege pálido com esporodóquio laranja. Os macroconídios de *F. lacertarum* eram falcados apresentando de 4 a 6 septos com predominância de 5 septos que variou de 21,0 – 45,0 × 4,0 µm com célula apical e célula pé afiladas (Fig. 4). Já o representante da nova linhagem FIESC 39 apresentou taxa de crescimento variando de 6,0 - 6,2 cm e coloração em BDA marrom escuro no centro com bordas marrom claro. O esporodóquio em SNA com papel de filtro era de coloração laranja. Os mesoconídios com 3 mediam de 35,0 – 38,5 × 2,5 – 4,0 µm. Os macroconídios apresentavam de 4 a 5 septos com predominância de 5 septos medindo de 40,0 – 47,5 × 2,5 – 5,0 µm (Fig. 4).

4 DISCUSSÃO

A linhagem FCSC 2 do complexo *F. chlamydosporum*, *F. lacertarum* e a nova linhagem do complexo *incarnatum-equiseti* causam podridão em frutos e murcha e amarelecimento em plantas de abóbora no Brasil. Este é o primeiro relato dessas espécies em abóbora no Brasil e no mundo.

A linhagem FCSC 1 abriga o isolado tipo de *F. chlamydosporum* e ainda outros isolados de ambiente clínico, solo, folhas de *Colocasia esculenta*, *Panicum maximum*, pimenta, tomate e grãos de arroz (O'Donnell et al. 2009; Pfenning et al. 2018). A linhagem FCSC 2 também agrupa isolados de ambiente clínico, solo, ambiente veterinário e também foi registrado em associação com grãos de arroz (O'Donnell et al. 2009; Pfenning et al. 2018). *Fusarium chlamydosporum* já foi relatado em abóbora nos Estados Unidos, entretanto a identificação foi realizada por morfologia (Wyenandt 2004).

O teste de patogenicidade em plantas evidenciou que o isolado da linhagem FCSC 2 é patogênico a plantas de abóbora. Os sintomas mais evidentes foram amarelecimento das mudas e redução do porte e do sistema radicular. Embora o morfotipo *F. chlamydosporum* não seja considerado um patógeno de plantas importante, sendo encontrado frequentemente como sapróbio e endófito, espécies deste complexo já foram apontadas como patogênicas a plantas, causando murcha e escurecimento dos tecidos vasculares em plantas de oliveira e fusariose em abacaxi (Ibrahim et al. 2016; Trabelsi et al. 2018). Membros do FCSC apresentaram

virulência moderada em testes de patogenicidade, causando murcha e podridão do colo em mudas de girassol (Nahar e Mushtaq 2006). Em frutos de abóbora, o representante da FCSC 2 foi capaz de causar doença.. A podridão na polpa era de coloração marrom e de crescimento lento com formação de micélio dentro da cavidade das sementes e nas próprias sementes. O FCSC já foi apontado como causador de podridão em frutos de abóbora, entretanto as lesões provocadas ficaram restritas a polpa, não afetando a casca e as sementes (Wyenandt 2004).

O complexo FIESC é atualmente composto por 38 linhagens filogenéticas provenientes dos mais diversos substratos, como cevada, trigo, milho, arroz, sorgo e inseto (O'Donnell et al. 2009; 2012; 2018; Short et al. 2011; Villani et al. 2016; 2019; Avila et al. 2019; Hartman et al. 2019; Maryani et al. 2019; Santos et al. 2019; Wang et al. 2019). *Fusarium lacertarum* é uma das espécies nomeadas deste complexo é já foi relatada em associação a palha e grãos de arroz, cladódios de *Nopalea cochenellifera* e plântulas de *Casuarina equisetifolia* (Favaretto et al. 2018; O'Donnell et al. 2018; Santiago et al. 2018; Avila et al. 2019). A nova linhagem preliminarmente denominada de FIESC 39 tem como espécies irmãs FIESC 23 e FIESC 24. As linhagens irmãs FIESC 23 e 24 foram isoladas de arroz, rizoma de *Spartina*, insetos e humanos (O'Donnell et al. 2009; 2012).

Em relação ao teste de patogenicidade em plantas foi confirmado que *F. lacertarum* e a FIESC 39 são patogênicas a plantas de abóbora. Os sintomas mais evidentes assim como do FCSC, foram amarelecimento das mudas e redução do porte e do sistema radicular. Entretanto, o representante da FIESC 39 causou morte de plântulas. Espécies do FIESC foram registradas causando podridão do colo em plantas de melão, pepino e *Cucurbita pepo*, podridão da haste e raízes em pimentão, descoloração da coroa nas raízes do ginseng americano, murcha, podridão radicular e podridão marrom no caule de couve-flor (Punja et al. 2007; Chehri et al. 2011; Li et al. 2017; Naz et al. 2018). No Brasil, *F. lacertarum* foi registrado causando podridão e morte de cladódios de *Nopalea cochenellifera* e damping-off em *Casuarina equisetifolia* (Favaretto et al. 2018; Santiago et al. 2018). A redução no porte das plantas e no comprimento das raízes causado por FIESC já foram observadas em plântulas de trigo e cevada (Fedel-Moen e Harris 1987; Strausbaugh et al. 2005). Strausbaugh et al. (2005) também observaram que FIESC foi quem causou o maior impacto no comprimento total da raiz em cevada e trigo.

A podridão na polpa causada por FIESC também era de coloração marrom com formação de micélio dentro da cavidade das sementes e nas próprias sementes. Correll et al (1991) observaram que no campo em frutos de abóbora lesões causadas por FIESC que ocorriam sempre na parte do fruto em contato com o solo, com aspecto encharcado na casca e presença de micélio. E que os sintomas não se desenvolveram em algumas frutas até depois da colheita. Conforme verificado por Elmer (1996), os sintomas causados por FIESC identificado por morfologia em abóbora podem variar de uma podridão seca pré-colheita com lesões firmes circulares a ovais com até 2 cm de diâmetro e com centro deprimido e seco categorizada com tipo 1, ou do tipo 2. A do tipo 2 é caracterizada como uma podridão pós-colheita com lesões moles e levemente deprimidas com ou sem aparência encharcada, com ou sem a presença de micélio. Os sintomas observados em abóboras tanto pelo isolados do FIESC quanto do FCSC foram do tipo 2. Espécies do FIESC também foram registradas causando podridão em frutos de melão na Coreia, Tailândia (FIESC 5), China (FIESC 17) (*F. pernambuticum*) e no Brasil (FIESC 16) (Kim e Kim 2004; Oliveira et al. 2014; Cao et al. 2019; Nuangmek et al. 2019).

Como membros do FCSC e FIESC são produtores de micotoxinas, como tricotecenos do tipo B e zearalenona que, ao serem ingeridas associadas aos alimentos, causam graves efeitos sobre a saúde humana e animal. Podem ocorrer efeitos tóxicos agudos ou crônicos, dependendo da dosagem e frequência da exposição (Jay 1994; O'Donnell et al. 2018). A presença desses grupos de fungos nos frutos gera preocupação e acende um alerta sobre a importância do monitoramento da ocorrência e o grau de contaminação dos alimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio do CNPq, CAPES e FAPEMIG no desenvolvimento deste trabalho, e pela concessão de bolsa de pesquisa. A Edson Luis Rezende pela assistência técnica hábil. Agradecemos também a Vanderlei Souza, Emater MG, Jaíba, Minas Gerais e a Dra. Márcia Michelle Q. Ambrósio, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte por fornecerem isolados de campo e material para isolamento.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em Maio 02, 2019
- Anuário Brasileiro de Horti e Fruti 2019 (2019) Kist BB et al. Editora Gazeta Santa Cruz, Santa Cruz do Sul. 96 p
- Avila CF, Moreira GM, Nicolli CP, Gomes LB, Abreu LM, Pfenning LH, Miriam Haidukowski M, Moretti A, Logrieco A, Del Ponte EM (2019) *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with Brazilian rice: phylogeny, morphology and toxigenic potential. International Journal of Food Microbiology 306. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108267
- Bruton BD, Duthie JA (1996) *Fusarium rot*. In: Zitter TA, Hopkins DL, Thomas CE. (Ed.). Compendium of cucurbit disease. Saint Paul: APS Press, 1996. p. 50-51. Disponível em: <<http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/FusariumRot.aspx>>. Acesso em: 04 maio. 2017.
- Cao P, Li C, Xiang W, Wang X, Zhao J (2019) First report of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex causing fruit rot on muskmelon (*Cucumis melo* L.) in China. Plant Disease 103: 1768
- Carbone I, Kohn LM (1999) A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. Mycologia 91: 553-556
- Chehri K, Salleh B, Yli-Mattila T, Reddy KRN, Abbasi S (2011) Molecular characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran. Saudi J Biol Sci 18: 341-351
- Correll JC, Mitchell JK, Andersen CR (1991) Fruit rot of pumpkin in Arkansas caused by *Fusarium equiseti*. Plant Disease 75: 751
- Elmer WH (1996) *Fusarium* fruit rot of pumpkins in Connecticut. Plant Disease 80: 131-135
- Favaretto RF, Muniz MFB, Poletto T, Krahn JRT, Fantinel VS, Rabuske JE, Sarzi JS (2018) Morphological, physiological and molecular characterization of *Fusarium lacertarum* causal agent of damping-off in *Casuarina equisetifolia*. Rev. Bras. Cienc. Agrar.13: 5514
- Fedel-Moen R, Harris JR (1987) Stratified distribution of *Fusarium* and *Bipolaris* on wheat and barley with dryland root rot in South Australia. Plant Pathol. 36: 447-454
- Ferreira MG, Alves FM, Silva DJH, Nick C (2017) A cultura. In: Nick C, Borém A (Eds.) Abóboras e morangas: do plantio à colheita. Ed. UFV, Viçosa. pp. 9-20

- Freitas, JAD (2003) Normas técnicas e documentos de acompanhamento da produção integrada de melão. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 89 p
- Hartman GL, Huang YH, Nelson RL, Noel GR (1997) Germplasm evaluation of *Glycine max* for resistance to *Fusarium solani*, the causal organism of sudden death syndrome. *Plant Disease* 81: 515-518
- Hartman GL, McCormick SP, O'Donnell K (2019) Trichothecene-producing *Fusarium* species isolated from soybean roots in Ethiopia and Ghana and their pathogenicity on soybean. *Plant Disease* 103: 2070-2075
- Hepperle D (2004) SeqAssem©: A sequence analysis tool contig assembler and trace data visualization tool for molecular sequences. Win32-Version. Distributed by the author via < <http://www.sequentix.de> >
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2015. Disponível em: www.sidra.ibge.br. Acessado em 14 de Abril de 2019
- Ibrahim NF, Hawa Mohd M, Izham NM, Nor M, Zakaria L (2016) Pathogenicity of *Fusarium semitectum* and *Fusarium chlamydosporum* associated with pineapple fusariosis. *Malaysian Journal of Microbiology* 12: 164-170
- Jay JM (1994) *Microbiologia Moderna de Los Alimentos*. 3. ed. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 753 p
- Kim JW, Kim HJ (2004) *Fusarium* fruit rot of postharvest oriental melon (*Cucumis melo* L. var. *makuwa* Mak.) caused by *Fusarium* spp. *Res Plant Disease* 10: 260-267
- Leslie JF, Summerell BA (2006) *The Fusarium laboratory manual*. Malden, USA: Blackwell Publishers
- Li PL, Shi YX, Guo MY, Xie XW, Chai A-Li, Li BJ (2017) *Fusarium* wilt of cauliflower caused by *Fusarium equiseti* in China. *Canadian Journal of Plant Pathology* 39: 77-82
- Liu YJ, Whelen S, Hall BD (1999) Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16: 799-1808
- Lombard L, van Doorn R, Crous PW (2019) Neotypification of *Fusarium chlamydosporum* - a reappraisal of a clinically important species complex. *Fungal Systematics and Evolution* 4: 183-200
- Maryani N, Sandoval-Denis M, Lombard L, Crous PW, Kema GHJ (2019) New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. *Persoonia* 43: 48-69
- Nahar S, Mustaq M (2006) Pathogenicity and transmission studies of seed-borne *Fusarium* species (sec *Liseola* and *Sporotrichiella*) in sunflower. *Pakistan Journal of Botany* 38: 487-492

Naz F, Tariq A, Rauf CA, Sultana T (2018) First report of stem and root rot of bell pepper caused by *Fusarium equiseti* in Pakistan. *Journal of Plant Pathology* 100: 589

Nuangmek W, Aiduang W, Suwannarach N, Kumla J, Kiatsiriroat T, Lumyong S (2019) First report of fruit rot on cantaloupe caused by *Fusarium equiseti* in Thailand. *Journal of General Plant Pathology* 85: 295-300

Nylander JAA (2004) MrModeltest 2.3. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University

O'Donnell K, McCormick SP, Busman M, Proctor RH, Ward TJ, Doehring G, Geiser DM, Alberts JF, Rheeder JP (2018) Marasas et al. 1984 "Toxigenic *Fusarium* species: identity and mycotoxicology" revisited. *Mycologia* 110: 1058-1080

O'Donnell K, Sutton DA, Rinaldi MG, Gueidan C, Crous PW, Geiser DM (2009). Novel multilocus sequence typing scheme reveals high genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium incarnatum* - *F. equiseti* and *F. chlamydosporum* species complexes within the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 47: 3851-3861

Oliveira MJ, Laranjeira D, Câmara MPS, Laranjeira FF, Josep Armengol J, Michereff SM (2014) Effects of wounding, humidity, temperature, and inoculum concentrations on the severity of corky dry rot caused by *Fusarium semitectum* in melon fruits. *Acta Scientiarum* 36: 281-289

Pfenning LH, Gomes LB, Nicolli CP, Del Ponte EM, Antonio Moretti A. *Fusarium chlamydosporum* species complex associated with Brazilian rice: species diversity and toxigenic potential (Poster P-39). European Fusarium Seminar, Tulln, Austria, 8-11 April 2018. Abstract Book, p. 81

Punja ZK, Wan A, Goswami RS, Verma N, Rahman M, Barasubiye T, Seifert KA, Lévesque CA (2007) Diversity of *Fusarium* species associated with discolored ginseng roots in British Columbia. *Canadian Journal of Plant Pathology* 29: 340-353

R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

Resende GM, Borges RME, Gonçalves NPS (2013) Produtividade da cultura da abóbora em diferentes densidades de plantio no Vale do São Francisco. *Horticultura Brasileira* 31: 504-508

Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol* 61: 539-542

Santiago MF, Santos AMG, Inácio CP, Lira Neto AC, Assis TC, Neves RP, Doyle VP, Veloso JS, Vieira WAS, Câmara MPS, Laranjeira D (2018) First report of *Fusarium*

lacertarum causing cladode rot in *Nopalea cochenellifera* in Brazil. *Journal of Plant Pathology* 100: 611

Santos ACS, Trindade JVC, Lima CS, Barbosa RN, Costa AF, Tiago PV, Oliveira N (2019) Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil, *Mycologia* 111: 244-259

Short DP, O'Donnell K, Zhang N, Juba JH, Geiser DM (2011) Widespread occurrence of diverse human pathogenic types of the fungus *Fusarium* detected in plumbing drains. *J. Clin. Microbiol.* 49: 4264–4272

Strausbaugh CA, Overturf K, Koehn AC (2005) Pathogenicity and real-time PCR detection of *Fusarium* spp. in wheat and barley roots. *Can. J. Plant. Pathol.* 27: 430–438

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729

Terao D, Oliveira SMA, Viana FMP, Saraiva ACM (2008) Estratégias de controle de podridões em pós-colheita de melão: uma revisão. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. 56p

Trabelsi R, Gdoura R, Ali TM (2018) *Fusarium brachygibbosum* and *Fusarium chlamydosporum* causing wilt and die-back of olive in Tunisia. Kallel A, et al. (Ed.). Recent advances in environmental science from the Euro-Mediterranean and surrounding regions, *Advances in Science*. 1. ed. Tunisia: Advances in Science, Technology & Innovation, 2018, p. 581-582.

Villani A, Moretti A, De Saeger S, Han Z, Di Mavungu JD, Soares CMG, Proctor RH, Venâncio A, Lima N, Stea G, Paciolla C, Logrieco AF, Susca A (2016) A polyphasic approach for characterization of a collection of cereal isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. *International Journal of Food Microbiology* 234: 24-35

Villani A, Proctor RH, Kim H-S, Brown DW, Logrieco AF, Amatulli MT, Moretti A, Susca A (2019) Variation in secondary metabolite production potential in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex revealed by comparative analysis of 13 genomes. *BMC Genomics* 20: 314

Wang MM, Chen Q, Diao YZ, Duan WJ, Cai L (2019) *Fusarium incarnatum-equiseti* complex from China. *Persoonia* 43: 70–89

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego. p. 315–332

Wollenweber HW, Reinking OA (1925). Aliquot Fusaria Tropicalia Nova Vel Revisa. *Phytopathology* 15: 155-169

Wyenandt CA (2004) *Fusarium* fruit rot (*Fusarium* spp.) of pumpkin (*Cucurbita pepo*) and its control with cover crop mulches. Thesis, The Ohio State University, Ohio, United State.

MATERIAL SUPLEMENTAR

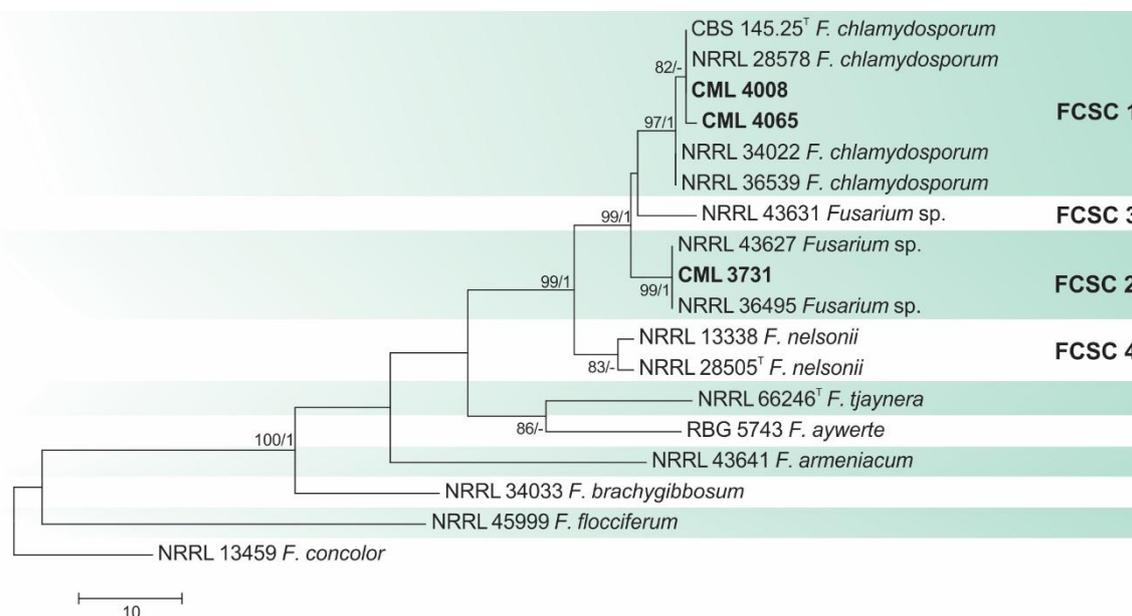


Figura 1S. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium chlamydosporum*, usando sequências do gene *EF-1α*. Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. Valores de CI = 0.801, RI = 0.774. Os isolados do estudo são indicados em negrito. Os isolados Ex-type são indicados com T.

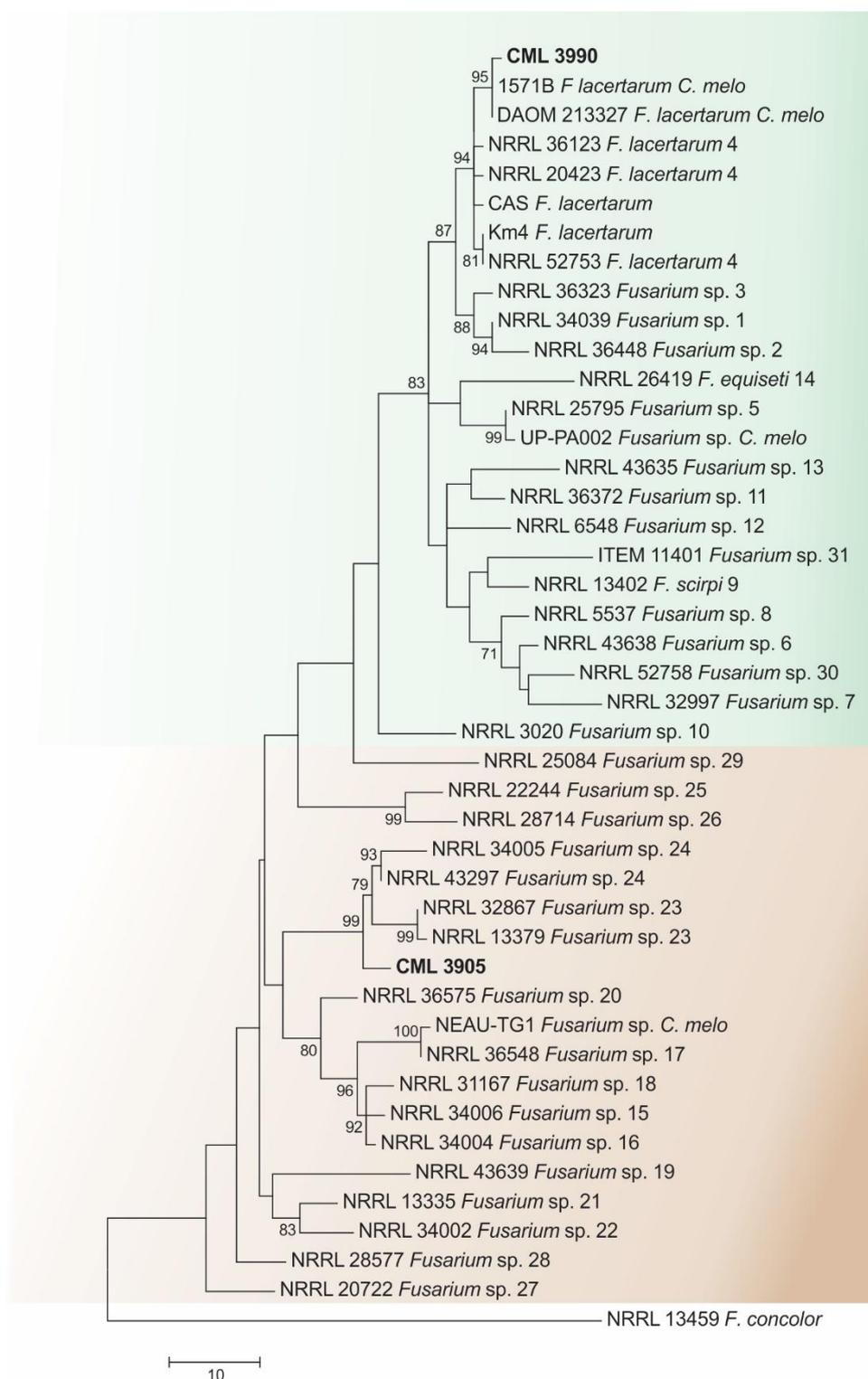


Figura 2S. Árvore filogenética de máxima parcimônia de espécies do complexo *Fusarium incarnatum-equiseti*, usando sequências do gene *EF-1 α* . Valores de *bootstrap* $\geq 70\%$ e de probabilidade posterior ≥ 0.90 são mostrados nos entrenós. Valores de CI = 0.674, RI = 0.806. Os isolados do estudo são indicados em negrito. Os isolados Ex-type são indicados com T.

Tabela 1S. Sequências de isolados de referência dos complexos *Fusarium chlamydosporum* e *Fusarium incarnatum-equiseti* utilizados nas análises filogenéticas.

Espécie	1Código	Linhagem	Substrato	Origem	No. do acesso do GenBank			
					EF-1 α	RPB2	CAM	LSU
<i>F. chlamydosporum</i>	CBS 145.25 ¹ , CML 3734	FCSC 1	Pseudocaule de bananeira	Honduras				
	NRRL 28578, CBS 615.87	FCSC 1	<i>Colocasia esculenta</i> , Folha	Cuba	GQ505405	GQ505469		
	NRRL 34022, UTHSC 93-2120	FCSC 1	Seio paranasal humano	EUA	GQ505416	GQ505480		
	NRRL 36539, CBS 677.77	FCSC 1	Solo cultivado	Ilhas Salomão	GQ505422	GQ505486		
<i>Fusarium</i> sp.	NRRL 36495, CBS 491.77	FCSC 2	Solo	Kuwait	GQ505421	GQ505485		
	NRRL 43627, UTHSC 05-3559 RBG5743	FCSC 2	Lavagem brônquica humana	EUA	GQ505487	EF470213		
<i>F. aywerte</i>	NRRL 43641, UTHSC 06-1377	-	Solo	Austrália	KP083250	KP083278		
		-	Olho de cavalo	EUA	GQ505430	GQ505494		
<i>F. armeniacum</i>	NRRL 34033, UTHSC 97-99	-	Celulite de pé humano	EUA	GQ505418	GQ505482		
<i>F. brachygibbosum</i>	NRRL 13459, CBS 691.87	-	Restos vegetais	África do Sul	GQ505674	EF470115		
<i>F. concolor</i>	NRRL 45999, UTHSC 06-3449		Couro cabeludo humano	EUA	MH582383	GQ505497		
<i>F. flocciferum</i>	NRRL 13338, FRC R-2181	FCSC 4	Solo	Austrália	GQ505402	GQ505466		
<i>F. nelsonii</i>	NRRL 28505 ^T , CML1985, FRC R-8670	FCSC 4	Detritos de solo	África do Sul	GQ505404	EF470150		
<i>F. nelsonii</i>	NRRL 43631, UTHSC 05-2441	FCSC 3	Perna humana	EUA	GQ505427	GQ505491		
<i>Fusarium</i> sp.	MRC117, FRC T-227, NRRL 13636	FCSC 5	Forragem de feijão	África do Sul	MH582447	MH582074		

Tabela 1S. continua

Espécie	1Código	Linhagem	Substrato	Origem	No. do acesso do GenBank			
					EF-1 α	RPB2	CAM	LSU
<i>Fusarium sp.</i>	MRC 35, FRC T-428, NRRL 13825	FCSC 5	Milheto	África do Sul	MH582448	MH582208		
<i>F. lacertarum</i>	NRRL 66246 ¹		<i>Triodia microstachya</i>	Austrália	KP083266	KP083279		
	NRRL 20423 ^T , IMI 300797	FIESC 4	Pele de lagarto	Índia	GQ505593	GQ505771	GQ505505	GQ505682
	NRRL 36123, CBS	FIESC 4	Desconhecido	Desconhecido	GQ505643	GQ505821	GQ505555	- GQ505732
	102300, BBA 70843 NRRL 52753, ARSEF 5219	FIESC 4	Larva de <i>crobipalpuloides</i> <i>absoluta</i>	Brasil	JF740828	JF741154	-	JF740923
	1571B	FIESC 4	<i>Phoenix dactylifera</i>	EUA	FJ895283			-
	DAOM 213327	FIESC 4	Tomate	Tailândia	DQ842087			KU041860
	CAS	FIESC 4	<i>Casuarina equisetifolia</i>	Brasil	KM679358			KP727645
	Km4	FIESC 4	<i>Orobanche</i> spp.	Irã	MF611751			
<i>F. equiseti</i>	NRRL 26419, CBS 307.94, BBA 68556 ^{No}	FIESC 14	Solo	Alemanha	GQ505599	GQ505777	GQ505511	GQ505688
<i>F. scirpi</i>	NRRL 13402, FRC R- 6363	FIESC 9	Solo de pinheiro	Austrália	GQ505592	GQ505770	GQ505504	- GQ505681
<i>Fusarium sp.</i>	NRRL 34039, UTHSC 96-1394	FIESC 1	Humano	EUA	GQ505639	GQ505817	GQ505551	GQ505728
	NRRL 36448, CBS 384.92	FIESC 2	Semente de <i>Phaseolus</i> <i>vulgaris</i>	Sudão	GQ505652	GQ505830	GQ505564	GQ505741
	NRRL 36323, CBS 186.31	FIESC 3	Fio de algodão	Inglaterra	GQ505648	GQ505826	GQ505560	GQ505737
	NRRL 25795, CBS 394.93, BBA 64265	FIESC 5	Semente de <i>Disphyma</i> <i>crassifolium</i>	Alemanha	GQ505597	GQ505775	GQ505509	GQ505686
	UP-PA002	FIESC 5	<i>Cucumis melo</i>	Tailândia	MH521297			MH521295

Tabela 1S. continua

Espécie	1Código	Linhagem	Substrato	Origem	No. do acesso do GenBank			
					EF-1 α	RPB2	CAM	LSU
<i>Fusarium</i> sp.	NRRL 43638, UTHSC R-3500	FIESC 6	Peixe boi	EUA	GQ505665	GQ505843	GQ505576	GQ505754
	NRRL 32997, UTHSC 99-423	FIESC 7	Unha do pé humano	EUA	GQ505624	GQ505802	GQ505536	GQ505713
	NRRL 5537, ATCC 28805	FIESC 8	Feno de festuca	EUA	GQ505588	GQ505766	GQ505500	GQ505677
	NRRL 3020, FRC R-6053	FIESC 10	Desconhecido	Desconhecido	GQ505586	GQ505764	GQ505498	GQ505675
	NRRL 36372, CBS 235.79	FIESC 11	Ar	Netherlands Antilles	GQ505649	GQ505827	GQ505561	GQ505738
	NRRL 6548, IMI 112503	FIESC 12	Trigo	Alemanha	GQ505589	GQ505767	GQ505501	GQ505678
	NRRL 43635, UTHSC 06-638	FIESC 13	Cavalo	EUA	GQ505662	EF470221	GQ505573	GQ505751
	NRRL 34006, UTHSC 93-2692	FIESC 15	Olho humano	EUA	GQ505630	GQ505808	GQ505542	GQ505719
	NRRL 34004, UTHSC 94-2581	FIESC 16	BAL humano	EUA	GQ505628	GQ505806	GQ505540	GQ505717
	NRRL 36548, CBS 190.60	FIESC 17	Banana	Republica do Congo	GQ505655	GQ505833	GQ505567	GQ505744
	NEAU-TG1	FIESC 17	<i>Cucumis melo</i>	China	MH920853			MH910492
	NRRL 31167, MDA 10	FIESC 18	Expectoração humana	EUA	GQ505608	GQ505786	GQ505520	GQ505697
	NRRL 43639, UTHSC 04-135	FIESC 19	Peixe boi	EUA	GQ505666	GQ505844	GQ505577	GQ505755
	NRRL 36575, CBS 976.97	FIESC 20	<i>Juniperus chinensis</i> , Folha	Havaí	GQ505656	GQ505834	GQ505568	GQ505745
	NRRL 13335, FRC R-2138	FIESC 21	Alfalfa	Austrália	GQ505590	GQ505768	GQ505502	GQ505679
	NRRL 34002, UTHSC 95-1545	FIESC 22	Seio etmoidal humano	EUA	GQ505626	GQ505804	GQ505538	GQ505715

Tabela 1S. continua

Espécie	1Código	Linhagem	Substrato	Origem	No. do acesso do GenBank			
					² EF-1 α	RPB2	CAM	LSU
<i>Fusarium</i> sp.	NRRL 13379, FRC R-5198, BBA 62200	FIESC 23	<i>Oryza sativa</i>	Índia	GQ505591	GQ505769	GQ505503	GQ505680
	NRRL 32867, FRC R-8837	FIESC 23	Humano	EUA	GQ505616	GQ505794	GQ505528	GQ505705
	NRRL 43297, WE 22	FIESC 24	Rizoma de <i>Spartina</i>	EUA	GQ505657	GQ505835	GQ505569	GQ505746
	NRRL 34005, UTHSC 94-2471	FIESC 24	Human intravitreal fluid	EUA	GQ505629	GQ505807	GQ505541	GQ505718
	NRRL 22244	FIESC 25	Arroz	China	GQ505596	GQ505774	GQ505508	GQ505685
	NRRL 28714, ATCC 74289	FIESC 26	Ramo de <i>Acacia</i> sp.	Costa Rica	GQ505604	GQ505782	GQ505516	GQ505693
	NRRL 20722, IMI 190455	FIESC 27	<i>Chrysanthemum</i> sp.	Quênia	GQ505595	GQ505773	GQ505507	GQ505684
	NRRL 28577, CBS 430.81	FIESC 28	Lápide	Romênia	GQ505603	GQ505781	GQ505515	GQ505692
	NRRL 25084, ARSEF 1641	FIESC 29	Ninfa de <i>Adelphocoris</i> sp.	Austria	JF740715	JF741045		JF740883
	NRRL 52758	FIESC 30	<i>Prosopis</i> nr. <i>bicincta</i>	Costa Rica	JF740833	JF741159		JF740925
ITEM 11401	FIESC 31	<i>Avena sativa</i>	Canadá	LN901578	LN901611	LN901594		

¹Abreviações das coleções de cultura: **CML**: Coleção Micológica de Lavras, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil. **NRRL**: Northern Regional Research Laboratory, Peoria, Illinois, USA. **CBS**: Culture collection of the Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands. **FRC**: Fusarium Research Center, University Park, PA, USA. **UTHSC**: University of Tennessee Health Science Center, TN, USA. **RBG**: Royal Botanic Gardens Trust, Sydney, New South Wales, Austrália. **ATCC**: American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA. **IMI**: CABI Biosciences, Egham, Surrey, England. **ARSEF**: ARS Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Ithaca, New York, USA. **WE**: Wade Elmer, Connecticut Agricultural Experiment Station, New Haven, CT, USA. **MRC**: Former South African Medical Research Council Collection currently housed at the Agricultural Research Council, Pretoria, South Africa. **ITEM**: Microbial Culture Collection of ISPA, Bari, Italy. ²Regiões gênicas: **EF-1 α** : Fator de alongação 1- α . **RPB2**: Segunda maior subunidade da RNA polimerase. **LSU**: Maior subunidade do rDNA. **CAM**: Calmodulina.

CURRÍCULO DA AUTORA

Acleide Maria Santos Cardos é natural de Porteirinha MG, onde nasceu em 1985. Em 2008, ingressou no curso de Agronomia na Universidade Estadual de Montes Claros. Durante a graduação fez estágio voluntário (2009 – 2010) no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia do Solo. Foi bolsista BIC / UNI (2010 – 2011) e PIBIC / FAPEMIG (2011 – 2012) no mesmo laboratório. Concluída a graduação em 2012, ingressou em 2013 no curso de Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras, sob a orientação do professor Dr. Ludwig H. Pfenning. Em 2015 iniciou o curso de Doutorado em Fitopatologia na mesma instituição, sob orientação do professor Ludwig H. Pfenning.