



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE
PERNAMBUCO**

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

**Espécies de *Fusarium* causando podridão seca em frutos
de pimenta malagueta na Zona da Mata Pernambucana**

José Marques dos Santos

**Recife – PE
2022**

JOSÉ MARQUES DOS SANTOS

**ESPÉCIES DE *Fusarium* CAUSANDO PODRIDÃO SECA EM FRUTOS DE
PIMENTA MALAGUETA NA ZONA DA MATA PERNAMBUCANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. André Angelo Medeiros Gomes (UFRPE)

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Reis Machado (UFPE)

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE)

RECIFE - PE

ABRIL - 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S237e

Santos, José Marques dos
Espécies de *Fusarium* causando podridão seca em frutos de pimenta malagueta na Zona da Mata Pernambucana /
José Marques dos Santos. - 2022.
56 f. : il.

Orientador: Andre Angelo Medeiros Gomes.
Coorientador: Alexandre Reis Machado.
Inclui referências e apêndice(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,
Recife, 2022.

1. *Capsicum frutescens* L.. 2. Solanaceae. 3. filogenia. 4. pós-colheita. I. Gomes, Andre Angelo Medeiros, orient. II.
Machado, Alexandre Reis, coorient. III. Título

CDD 632

**ESPÉCIES DE *Fusarium* CAUSANDO PODRIDÃO SECA EM FRUTOS DE
PIMENTA MALAGUETA NA ZONA DA MATA PERNAMBUCANA**

JOSÉ MARQUES DOS SANTOS

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em 28/04/2022.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. André Angelo Medeiros Gomes (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Ailton Reis (UFRPE)

Prof^ª. Dr^ª. Kamila Câmara Correia (UFCA)

RECIFE – PE

ABRIL – 2022

*À minha família e aos amigos que sempre me
motivaram e não me deixaram desistir.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por guiar meus passos em minha vida.

À minha família por me apoiar em minhas escolhas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia (PPGF) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela oportunidade de cursar um Mestrado.

Ao meu orientador, o Professor Dr. André Gomes, pelas orientações e toda paciência.

Agradeço a todos os professores e professoras do PPGF que, mesmo em um período de pandemia, se dedicaram ao máximo para proporcionar a nós discentes um aprendizado de excelência.

Agradeço a todos os colegas do Laboratório de Patologia Pós-Colheita pelos momentos compartilhados, em especial a Erasmo por todos os ensinamentos e ajuda ao longo desses dois anos.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para que eu alcançasse esse objetivo em minha vida.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

	página
RESUMO GERAL	VII
GENERAL ABSTRACT	VIII
CAPÍTULO I	9
INTRODUÇÃO GERAL	10
1. Aspectos gerais e características botânicas	10
2. Importância econômica do cultivo de pimentas	12
3. Perdas na pós-colheita ocasionadas por fungos	14
4. Podridões de frutos causadas por <i>Fusarium</i>	15
4.1 Complexo de espécies <i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>	16
4.2 Complexo de espécies <i>Fusarium lateritium</i>	16
4.3 Complexo de espécies <i>Fusarium chlamydosporum</i>	17
4.4 Complexo de espécies <i>Fusarium fujikuroi</i>	17
REFERÊNCIAS	18
CAPÍTULO II	23
RESUMO	25
1 INTRODUÇÃO	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1 Coleta de amostras e isolamento	27
2.2 Identificação dos isolados.....	29
2.2.1 Identificação molecular dos isolados.....	29
2.3 Teste de patogenicidade	31
3. RESULTADOS	32
3.1 Coleta de amostras e isolamento	32
3.2 Identificação dos isolados.....	32
3.2.1 Identificação molecular dos isolados.....	32
3.3 Teste de patogenicidade	34
4. DISCUSSÃO	35
5. REFERÊNCIAS.....	39
6. APÊNDICE	43
CAPÍTULO III	55
CONCLUSÕES GERAIS	56

RESUMO GERAL

Podridões causadas por espécies do gênero *Fusarium* estão entre as doenças que mais limitam a produção e comercialização de frutos em todo o mundo. Espécies de *Fusarium* apresentam uma ampla distribuição global e alta capacidade de colonizar um grande número de hospedeiros. As pimenteiras do gênero *Capsicum* são pertencentes à família Solanaceae, sendo nativas do continente americano e estando entre as plantas cultivadas mais antigas das Américas. Elas apresentam um mercado diversificado devido à grande variedade de produtos e subprodutos, usos e formas de consumo. O objetivo deste estudo foi identificar quais agentes fitopatogênicos são responsáveis por causar podridão seca em frutos de pimenta malagueta na região da Zona da Mata do Estado de Pernambuco. Para isso, amostras de pimentas apresentando sintomas de podridão seca foram coletadas em áreas de cultivo nos municípios pernambucanos de Primavera, Chã Grande e Vitória de Santo Antão e levadas ao Laboratório de Patologia Pós-Colheita da Universidade Federal Rural de Pernambuco (LPPC-UFRPE) para serem analisadas. A partir das amostras coletadas em campo foram obtidos 27 isolados. Utilizando preparações microscópicas, todos os isolados, através de comparações morfológicas, foram identificados a nível de gênero como pertencentes ao gênero *Fusarium*. Destes, 17 isolados foram selecionados para serem utilizados na extração de DNA e, posteriormente, identificados a nível de espécie através da análise das sequências das regiões TEF1 e RPB2 através de Inferência Bayesiana. A análise concatenada das duas regiões gênicas agrupou os isolados em quatro complexos de espécies distintos: complexo de espécie *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC), complexo de espécies *Fusarium lateritium* (FLSC), complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum* (FCSC) e complexo de espécie *Fusarium fujikuroi* (FFSC). Análises posteriores agruparam estes isolados em clados de nove espécies diferentes, sendo seis espécies pertencentes ao FIESC (*F. pernambucanum*, *F. sulawesiense*, *F. caatingaense*, *F. hainanense*, *F. citri* e *F. arcuatisporum*), uma espécie pertencente ao FLSC (*F. cassiae*), uma espécie pertencente ao FCSC (*F. chlamydosporum*) e um isolado pertencente ao FFSC (*F. pseudocircinatum*). Todos os isolados identificados a nível de espécie foram patogênicos em frutos de pimenta malagueta. Os resultados obtidos neste trabalho poderão servir para o desenvolvimento de estratégias de manejo desta doença, evitando perdas ocasionadas por estes fitopatógenos.

Palavras-chaves: *Capsicum frutescens* L., Solanaceae, filogenia, pós-colheita.

GENERAL ABSTRACT

Rots caused by species of the *Fusarium* genus are among the diseases that most limit the production and commercialization of fruits worldwide. *Fusarium* species present a wide global distribution and a high capacity to colonize a large number of hosts. The pepper plants of the genus *Capsicum* belong to the Solanaceae family. *Capsicum* spp. are native to the American continent, being among the oldest cultivated plants in the Americas. They present a diversified market due to the wide variety of products and by-products, uses and forms of consumption. The aim of this study was to identify which phytopathogenic agents are responsible for causing dry rot in chili pepper fruits in the Zona da Mata region of the State of Pernambuco. For this, samples of peppers showing symptoms of dry rot were collected in areas of cultivation in the municipalities of Primavera, Chã Grande and Vitória de Santo Antão, in Pernambuco, and taken to the Laboratory of Post-Harvest Pathology of the Federal Rural University of Pernambuco (LPPC-UFRPE) to be analyzed. From the samples collected in the field, 27 isolates were obtained. Using microscopic preparations, all isolates, through morphological comparisons, were identified at the genus level as *Fusarium*. Of these, 17 isolates were selected to be used in DNA extraction and, later, identified at the species level by analyzing the sequences of the TEF1 and RPB2 regions using Bayesian Inference. Concatenated analysis of the two gene regions grouped the isolates into four distinct species complexes: *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex (FIESC), *Fusarium lateritium* species complex (FLSC), *Fusarium chlamydosporum* species complex (FCSC) and *Fusarium fujikuroi* species complex (FFSC). Subsequent analyzes grouped these isolates into clades of nine different species, with six species belonging to the FIESC (*F. pernambucanum*, *F. sulawesiense*, *F. caatingaense*, *F. hainanense*, *F. citri* and *F. arcuatisporum*), one species belonging to the FLSC (*F. cassiae*), one species belonging to the FCSC (*F. chlamydosporum*) and one isolate belonging to the FFSC (*F. pseudocircinatum*). All isolates identified at the species level were pathogenic in chili pepper fruits. The results obtained in this work may serve for the development of management strategies for this disease, avoiding losses caused by these phytopathogens.

Keywords: *Capsicum frutescens* L., Solanaceae, phylogeny, post-harvest.

CAPÍTULO I

Introdução Geral

ESPÉCIES DE *Fusarium* CAUSANDO PODRIDÃO SECA EM FRUTOS DE PIMENTA MALAGUETA NA ZONA DA MATA PERNAMBUCANA

INTRODUÇÃO GERAL

1. Aspectos gerais e características botânicas

Pimenteiras do gênero *Capsicum* são cultivadas pela humanidade há muitos anos, sendo seus frutos utilizados como alimento, ingredientes aromatizantes, corantes naturais e também empregados na medicina tradicional. Hoje em dia, as pimentas são amplamente utilizadas tanto na culinária como na indústria alimentícia, apresentando um mercado diversificado, devido à grande variedade de produtos e subprodutos, usos e formas de consumo (HERNÁNDEZ-PÉREZ et al., 2020; JESUS et al., 2020).

As pimenteiras do gênero *Capsicum* são nativas da América, tendo surgido por volta de 7.000 anos a.C., estando, assim, entre as plantas cultivadas mais antigas deste continente. Contudo, sua origem exata é controversa, sendo que alguns pesquisadores acreditam que elas surgiram na Bacia Amazônica, enquanto outros afirmam que elas se originaram na América Central ou ainda no México (BONTEMPO, 2007; RIBEIRO et al., 2008).

O nome pimenta vem da palavra latina *pigmentum*, que significa matéria corante, sendo que no espanhol virou *pimienta*. O gênero *Capsicum* (do grego *kapso*, que significa picar ou arder) é pertencente à família Solanaceae, sendo representado pelos pimentões, pimentas doces e pimentas picantes, compreendendo cerca de 30 espécies conhecidas, sendo destas, cinco espécies domesticadas (*Capsicum frutescens* L., *C. chinense* Jacquin, *C. annuum* L. var. *annuum*, *C. pubescens* Ruiz & Pavon e *C. baccatum* var. *pendulum* (Wild.) Eshbaugh (HOU et al, 2018; LIMA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2021).

O Brasil é um importante centro de diversidade do gênero *Capsicum*. Em seu território podem ser encontrados quatro dos cinco táxons domesticados desse gênero, além de outras espécies e variedades semidomesticadas e silvestres. A espécie *C. frutescens* inclui a pimenta malagueta e a pimenta tabasco. *C. annuum* var. *annuum* é a espécie mais variável e cultivada em todo o mundo e inclui os pimentões, pimentas doces para fabricação de páprica (pimenta vermelha desidratada na forma de pó para fabricação de corantes e temperos), as pimentas picantes jalapenho, cayenne e outras. *C. baccatum* var. *pendulum* é representada no Brasil, principalmente, pelas pimentas dedo-de-moça e cambuci ou chapéu-de-frade. *C. chinense* é considerada a mais brasileira entre todas as espécies domesticadas de pimentas. Ela apresenta

a Bacia Amazônica como área de maior diversidade, sendo representada pelas pimentas conhecidas como pimenta-de-cheiro, pimenta-de-bode, cumari-do-Pará, murupi, biquinho, entre outras (JESUS et al., 2020; RIBEIRO et al., 2008).

As espécies domesticadas de *Capsicum* em geral são autógamas. Contudo, pode ocorrer certa taxa de alopoliploidia entre variedade e até mesmo entre diferentes espécies do gênero. A altura e a forma de crescimento das plantas variam de acordo com a espécie e as condições de cultivo. Em ambientes naturais, as espécies de *Capsicum* geralmente têm ciclo de vida perene, embora em muitas partes do mundo se comportem como anuais. O sistema radicular é pivotante, com um número elevado de ramificações laterais, podendo chegar a profundidades de 70 cm a 120 cm. As folhas apresentam tamanho, coloração, formato e pilosidade variáveis; a cor é tipicamente verde, mas existem folhas violetas e variegadas. Quanto ao formato, as folhas podem variar de ovaladas ou lanceoladas a deltóides (CARVALHO et al., 2006; RIBEIRO et al., 2008).

Frutos do gênero *Capsicum* apresentam uma grande diversidade de formato, tamanho e cor. Quando maduros, são geralmente vermelhos, podendo apresentar coloração amarelo-leitoso, amarelo-forte, alaranjada, salmão, vermelha, roxa e preta. Os frutos podem ainda ser brilhantes ou opacos. O formato varia entre as espécies e dentro delas, existindo frutos alongados, arredondados, triangulares ou cônicos, campanulados, quadrados ou retangulares. As sementes são reniformes, aplanadas, escuras ou claras, sendo que a maior parte das espécies de *Capsicum* produz sementes ortodoxas (HERNÁNDEZ-PÉREZ et al., 2020; RIBEIRO et al., 2008).

A colheita dos frutos das pimentas começa geralmente a partir de 90 dias após o transplante das mudas para o campo e pode estender-se por mais de um ano em lavouras bem conduzidas. As primeiras colheitas de espécies mais precoces são feitas a partir de 80 dias após a semeadura; e de espécies mais tardias, após 120 dias. A partir das primeiras colheitas, as plantas produzem continuamente flores e frutos, proporcionando múltiplas colheitas (ABUD et al., 2013; RIBEIRO et al., 2008).

O ponto de colheita ideal é determinado visualmente, quando os frutos atingem o tamanho máximo de crescimento e o formato típico de cada espécie, com a cor específica demandada pelo mercado. As pimentas são colhidas manualmente e, dependendo do tipo e do mercado de destino, são colhidas com ou sem os pedúnculos. As pimentas são plantas típicas de climas tropicais e, por esta razão, as pimentas devem ser conservadas na fase de pós-colheita em temperaturas entre 7°C e 12°C, para reduzir a respiração e outros processos fisiológicos (ABUD et al., 2013; RIBEIRO et al., 2008; SOETHE et al., 2016).

As pimentas apresentam compostos químicos importantes, como vitaminas, minerais, flavonoides, carotenoides e outros metabólitos secundários com propriedades antioxidantes, sendo consideradas alimentos funcionais, capazes de promover benefícios à saúde. No entanto, a pungência ainda continua sendo seu atributo mais atrativo (HERNÁNDEZ-PÉREZ et al., 2020; NADEEM et al., 2011; RIBEIRO et al., 2008).

A concentração de capsaicina nos frutos de pimenta é o que determina a sua pungência. Esta concentração é medida através do Teste Organoléptico Scoville (Scoville Organoleptic Test), desenvolvido pelo farmacêutico americano Wilbur Scoville em 1912 (RIBEIRO et al., 2008). Sendo que, atualmente, para uma determinação quantitativa mais confiável são empregados métodos cromatográficos, como por exemplo a HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), utilizado para uso em produtos farmacêuticos (GOCI et al., 2021).

2. Importância econômica do cultivo de pimentas

Pimentas podem ser cultivadas por agricultores em pequena, média e grande escala, sendo que as pimentas, em sua maioria, são cultivadas em pequenas unidades familiares de produção, em áreas que variam de 0,5 hectare a 10 hectares. Sua importância socioeconômica é muito grande, por permitir a fixação de pequenos produtores rurais e suas famílias no campo, a contratação sazonal de mão-de-obra, especialmente durante o período de colheita, e o estabelecimento de indústrias processadoras e, conseqüentemente, a geração de emprego (JESUS et al., 2020; LIMA et al., 2017; RIBEIRO et al., 2008).

As pimentas são cultivadas em praticamente todos os países do mundo (ALVES, 2016). Em 2020, a produção mundial de *Capsicum* spp. (incluindo pimentas e pimentões) foi de mais de 36,1 milhões de toneladas em uma área colhida de cerca de 2 milhões de hectares, apresentando um aumento na área cultivada de 100 mil hectares e na produção de mais de 110 mil toneladas quando comparados aos dados do ano anterior. Os maiores produtores mundiais de pimentas em 2020 foram a China (16,6 milhões de toneladas), o México (2,8 milhões de toneladas), a Indonésia (2,7 milhões de toneladas), a Turquia (2,6 milhões de toneladas) e a Espanha (1,4 milhões de toneladas) (FAO, 2022). Além de ser uma cultura de destaque em países desenvolvidos, a cultura da pimenta também se destaca por ser uma importante fonte de renda para pequenos produtores em muitos países em desenvolvimento (FRIMPONG et al. 2019).

Em relação ao comércio internacional de *Capsicum* spp. as exportações mundiais em 2020 atingiram volumes de 584,9 mil toneladas, gerando uma receita de mais de US\$ 1,3

bilhões. Sendo os maiores exportadores a Índia (423,5 mil toneladas), a China (54,3 mil toneladas), o Peru (31,8 mil toneladas), o México (16,8 mil toneladas) e Myanmar (16,6 mil toneladas) (TRADEMAP, 2022).

O cultivo no Brasil de pimentas do gênero *Capsicum* é realizado em todos os estados da federação (LIMA et al, 2017). Abrangendo cerca de 5 mil hectares cultivados (CARVALHO et al., 2015). Sendo que, a produtividade média depende do tipo de pimenta cultivada, variando de 10 t ha⁻¹ a 30 t ha⁻¹. O custo de produção, assim como a rentabilidade obtida da comercialização dos frutos, varia principalmente em função do tipo de pimenta, da produtividade e do período de colheita (RIBEIRO et al., 2008).

De acordo com dados do IBGE (2022), o Brasil produziu em 2017 mais de 28,2 mil toneladas de pimentas, em mais de 28,7 mil propriedades, gerando uma receita de mais R\$ 98,5 milhões. Sendo os maiores produtores em quantidade produzida os estados de São Paulo (4,9 mil toneladas), Amazonas (3,7 mil toneladas), Pará (3,6 mil toneladas), Ceará (3,1 mil toneladas), Goiás (2,3 mil toneladas) e Sergipe (2,2 mil toneladas). O estado de Pernambuco figura como o décimo quinto no ranking nacional de produção de pimentas, apresentando no ano de 2017 uma produção de 364 toneladas do fruto.

O Brasil exportou no ano de 2020 aproximadamente 2 mil toneladas de pimentas do gênero *Capsicum*, gerando uma receita de mais de US\$ 3,6 milhões, apresentando um crescimento de 18% nos valores exportados e 16% no volume quando comparados ao ano de 2016, sendo o décimo quarto no ranking mundial de exportações do gênero (TRADEMAP, 2022).

As variedades de pimenta mais cultivadas no Brasil são: pimenta malagueta (fruto de 2 cm de comprimento e em média 0,5 cm de largura e coloração vermelha forte), pimenta cumari (fruto esférico e vermelho-escuro), pimenta-de-cheiro (fruto esférico e de cor amarela) e pimenta dedo-de-moça (cor vermelha ou amarela e frutos com 5 a 7 cm de comprimento e 1,5 cm de largura, apresentam curvas na extremidade) (BONTEMPO, 2007).

Estimativas indicam que o consumo médio diário de pimenta no Brasil é de meio grama por pessoa (CARVALHO et al., 2006). Sendo que a pimenta malagueta se destaca, não só por ser a pimenta mais cultivada, como também por ser a mais consumida em todo o país. Na região Nordeste, também predomina o cultivo e o consumo de várias formas de pimenta-de-cheiro. Além disso, no Ceará, a pimenta tabasco também é cultivado para exportação como pasta para molho (LIMA et al, 2017; RIBEIRO et al., 2008).

Em todo o Brasil, a produção de pimenta é muito diversificada, abrangendo o cultivo para consumo próprio, cultivo de pimentas ornamentais em vasos, cultivos de colecionadores

amadores, plantações comerciais, pequenas agroindústrias artesanais de base familiar e grandes indústrias produtoras e exportadoras de páprica e de pasta (CARVALHO et al., 2006).

No entanto, no Brasil, o mercado mais visível é o das pimentas comercializadas *in natura*, em pequenas quantidades, no atacado e no varejo. Sendo que, o tamanho real e a relevância desse mercado são difíceis de estimar, principalmente por falta de estatísticas confiáveis e de informações sistematizadas. A importância do mercado de pimentas processadas também é subestimada, por causa da grande diversidade de produtos e do número de pequenas empresas que atuam nos mercados regionais (RIBEIRO et al., 2008).

3. Perdas na pós-colheita ocasionadas por fungos

Doenças pós-colheita podem destruir de 10 a 30% do total de rendimentos das culturas, e em frutos tropicais e subtropicais, especialmente nos países em desenvolvimento, destroem mais de 30% da produtividade das culturas (AGRIOS, 2005; PARISI; HENRIQUE; PRATI, 2015). Os fungos são os principais agentes causadores de doenças em pós-colheita de frutas e hortaliças, sendo responsáveis por cerca de 80 a 90% das perdas ocasionadas por fitopatógenos durante a pós-colheita, trazendo, com isso, grandes prejuízos aos produtores, bem como reduzindo a quantidade e a qualidade dos alimentos ofertados à população (DANTAS et al., 2003).

As doenças fúngicas de pós-colheita podem aparecer a qualquer momento entre a colheita e o consumo. Algumas doenças pós-colheita podem não tornar o produto invendável, mas podem reduzir o seu valor de venda, através do surgimento de manchas ou lesões que provocam uma redução no valor comercial. Além das perdas econômicas, alguns gêneros fúngicos, são capazes de produzir micotoxinas que podem permanecer no produto, representando um risco à saúde caso este seja consumido por pessoas ou animais (AGRIOS, 2005).

Como qualquer outra cultura agrícola, pimentas do gênero *Capsicum* também são suscetíveis a infecções fúngicas. Sendo que, a incidência de doenças na pós-colheita mostra-se como um grande problema para os produtores desta hortaliça (FRIMPONG et al. 2019). A contaminação por fungos de muitos produtos agrícolas, incluindo pimenta, começa no campo. E, devido à falta de informações sobre os tratamentos pós-colheita adequados, embalagem e condições de armazenamento, os frutos não apenas perdem sua qualidade, mas também sofrem perdas substanciais (AKINYEMI; LIAMNGEE, 2018).

Um das principais doenças de pós-colheita em frutos de pimentas é a antracnose,

provocada pelo fungo *Colletotrichum* spp. Essa doença pode provocar grandes perdas, porque os frutos doentes são descartados na comercialização. Os fungos *Geotrichum* sp. e *Rhizopus* sp. também podem causar podridão nos frutos, principalmente após a ocorrência de ferimentos e danos mecânicos. Os pedúnculos dos frutos de pimenta podem ser atacados por fungos, como *Alternaria alternata*, *Fusarium* spp. e *Cladosporium fulvum*, comprometendo a qualidade visual e, conseqüentemente, a comercialização dos frutos (RIBEIRO et al., 2008). Fungos fitopatogênicos, como *Aspergillus* e *Bipolaris* também têm sido encontrados causando podridões pós-colheita em pimenta (AKINYEMI; LIAMNGEE, 2018).

4. Podridões de frutos causadas por *Fusarium*

Espécies de *Fusarium* são bem conhecidas por sua abundância, diversidade e estilo de vida cosmopolita. Sua distribuição global, capacidade de adaptação a diferentes condições climáticas e colonização de um grande número de hospedeiros dá uma demonstração da grande diversidade de espécies pertencentes a esse gênero fúngico (MARYANI et al. 2019).

O gênero *Fusarium* inclui alguns dos patógenos de plantas mais devastadores, afetando uma ampla gama de culturas agrônomicas. Sendo responsável por causar podridões pós-colheita em diferentes áreas de produção em todo o mundo (ARAÚJO et al., 2021). Além de importante fitopatógeno, membros do gênero *Fusarium* podem associar-se a plantas hospedeiras como invasores secundários, saprotroficos e/ou endofíticos. (MARYANI et al. 2019).

Fusarium apresenta colônia cotonosa, com grande variedade de cores (branco, cinza, rosa, violeta, amarelo e marrom), bordas regulares e crescimento lento (NOGUEIRA, 2014). Forma hifas ramificadas, septadas, dois tipos de conídios, macro e microconídios, e estruturas assexuadas de resistências, clamidósporos (BARNETT; HUNTER, 2006).

A identificação de espécies do gênero *Fusarium* envolve três conceitos de espécie: morfológica, baseada na similaridade dos caracteres morfológicos observáveis, denominados de marcadores morfológicos; biológica, baseado na compatibilidade sexual entre membros da mesma espécie; e a filogenética baseado na análise de sequências de DNA. Sendo a combinação dos conceitos de espécie filogenética e morfológica o mais usual para a distinção das espécies do gênero *Fusarium* (CASTELLÁ; CABAÑES, 2014; O'DONNELL et al., 2000; SUMMERELL; SALLEH; LESLIE, 2003).

Em análises filogenéticas, o uso das regiões TEF1 e RPB2 vem demonstrando maior consistência para a delimitação das espécies de *Fusarium*, devido ao alto nível de polimorfismo

da sequência e não possuírem cópias não-ortólogas, outro ponto importante é que estas regiões são facilmente amplificadas para todas as espécies do gênero (ARAÚJO et al., 2021; LIMA et al., 2021; O'DONNELL et al., 2015).

O gênero *Fusarium* compreende mais de 300 espécies filogeneticamente distintas (O'DONNELL et al., 2020). Sendo estas espécies, atualmente, agrupadas em 18 linhagens evolutivas chamadas de complexos de espécies (CROUS et al., 2021). Complexos de espécies são grupos de espécies estreitamente relacionadas, dificilmente distinguíveis através de características morfológicas (ALLGAYER; HILLER; VALIATI, 2021).

4.1 Complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti*

O complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* - FIESC é um complexo filogeneticamente rico que inclui mais de 30 espécies filogenéticas crípticas, tornando muito difícil a identificação baseada apenas em caracteres fenotípicos (CASTELLÁ; CABAÑES, 2014; XIA et al., 2019).

Estudos mostram que espécies pertencentes ao complexo de espécies *F. incarnatum-equiseti* apresentam um grande número de hospedeiros em diferentes famílias botânicas. Estudos sobre a diversidade de espécies de *Fusarium* associado à murcha de fusarium da bananeira na Indonésia encontraram espécies pertencentes a diferentes complexos de espécies, dentre eles, espécies pertencentes ao complexo *F. incarnatum-equiseti* (MARYANI et al. 2019).

Espécies pertencentes ao complexo de espécies *F. incarnatum-equiseti* também foram identificadas causando podridão em frutos de melão no Brasil. Sendo esta, uma doença de grande importância na fase de pós-colheita do melão (LIMA et al., 2021). No Brasil, espécies pertencentes ao complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* também foram identificados colonizando grãos de arroz, sendo que algumas dessas espécies apresentam a capacidade de produzir micotoxinas que podem se acumular no cereal (AVILA, 2017).

4.2 Complexo de espécies *Fusarium lateritium*

O complexo de espécies *Fusarium lateritium* – FLSC engloba seis espécies estreitamente relacionadas e filogeneticamente distintas (CROUS et al., 2021). Estas espécies já foram relatadas em várias regiões do mundo causando doenças em uma ampla gama de hospedeiros, como por exemplo, *Citrus*, mamão, café, banana, soja, entre outros (FARR; ROSSMAN, 2022). Na Itália, espécies pertencentes ao FLSC foram relatadas causando podridão de frutos em

nogueira, oliveira e também como agente causador de cancos de galhos e necrose cinzenta de nozes de avelã (VITALE et al., 2011)

4.3 Complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum*

O complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum* – FCSC representa uma morfoespécie bem definida de importância fitopatológica e clínica, contendo pelo menos oito espécies distintas (CROUS et al., 2021; VAN DIEPENINGEN et al., 2014).

Espécies pertencentes ao FCSC são comumente isoladas de solos em regiões áridas e semiáridas e de material vegetal apresentando sintomas de doenças que incluem podridão, *damping-off* e cancro em caule (LOMBARD; VAN DOORN; CROUS, 2019). Espécie pertencentes ao FCSC pode ser encontrada em associação com diversas culturas, como banana, arroz, milho, sorgo, milheto e lentilha (GOMES, 2017).

4.4 Complexo de espécies *Fusarium fujikuroi*

O complexo de espécies *Fusarium fujikuroi* – FFSC é composto por mais de 70 espécies filogenéticas distintas (CROUS et al., 2021). Espécies pertencentes ao FFSC causam um amplo espectro de doenças frequentemente devastadoras em diversas culturas agrícolas, incluindo uva, milho, soja, banana, manga, café, figo, arroz, cana-de-açúcar, entre outras (FARR; ROSSMAN, 2022).

Espécies pertencentes ao FFSC são relatadas causando em arroz uma doença conhecida como bakanae cujos sintomas são podridão da coroa, nanismo, e também estiolamento e alongamento anormal do colmo provocados em decorrência da produção de giberelina realizada pelo fungo (GOMES, 2017). Na Colômbia, espécies pertencentes ao FFSC foram relatadas por Herron et al. (2015) causando cancro do caule e morte de galhos em plantas adultas de *Pinus* spp e podridão de raiz e colo em plântulas.

A correta identificação dos agentes fitopatogênicos que estão associados a determinada doença é crucial para o correto manejo, evitando maiores danos às culturas e, consequentemente, reduzindo os prejuízos advindos do ataque desses fitopatógenos. Sabendo disso, e diante de relatos de agricultores da Zona da Mata de Pernambuco sobre a observação da ocorrência de sintomas de podridão seca em frutos de pimenta malagueta diferentes daqueles típicos causados por *Colletotrichum* em seus cultivos, o presente trabalho objetivou investigar quais são os agentes fitopatogênicos responsáveis por causar essa podridão seca em frutos de pimenta malagueta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUD, H. F.; ARAUJO, E. F.; ARAUJO, R. F.; ARAUJO, A. V.; PINTO, C. M. F. Qualidade fisiológica de sementes das pimentas malagueta e biquinho durante a ontogênese. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 48, n.12, p. 1546-1553, 2013.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. ed. Nova York: Academic Press, 2005. 922 p.
- AKINYEMI, B. K.; LIAMNGEE, K. Isolation and identification of fungi causing decay in pepper (*Capsicum* spp) from selected markets in Makurdi. **Asian Journal of Research in Crop Science**, v. 1, n. 2, p. 1-6, 2018.
- ALLGAYER, H.; HILLER, R. F.; VALIATI, V. H. Uma análise epistêmica para a elucidação do complexo de espécies crípticas. **Conjectura: filosofia e educação**, Caxias do Sul, v. 26, p. 85-100, 2021. DOI: 10.18226/21784612.v26.e021005.
- ALVES, A. N.; DAMASCENO, K. A.; RIBEIRO, L. M. P.; CUNHA, M. F.; GONÇALVES, R. M. S.; GONÇALVES, C. A. A. Antepasto de pimenta biquinho. **Boletim Técnico IFTM**. Uberaba, n. 2, p. 06-09, 2016.
- ARAÚJO, M. B. M.; MOREIRA, G. M.; NASCIMENTO, L. V.; NOGUEIRA, G. A.; NASCIMENTO, S. R. C.; PFENNING, L. H.; AMBRÓSIO, M. M. Q. Fusarium rot of melon is caused by several *Fusarium* species. **Plant Pathology**, v. 70, p. 712 -721, 2021. DOI: 10.1111/ppa.13328.
- AVILA, C. F. **Species and trichothecene genotypes within *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex infecting Brazilian rice**. 2017. 42 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG.
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 2006.
- BONTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios à saúde**. São Paulo: Alaúde, 2007.
- CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A. **Pimentas do gênero *Capsicum* no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2006. 27 p.
- CARVALHO, S. I. C.; RAGASSI, C. F.; OLIVEIRA, L. B.; AMARAL, Z. P. S.; SREIFSCHNEIDER, F. J. B.; FALEIRO, F. G.; BUSO, G. S. C. Transferability of microsatellite markers of *Capsicum annuum* L. to *C. frutescens* L. and *C. chinense* Jacq. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 3, p. 7937-7946, 2015. DOI: 10.4238/2015.July.17.1.
- CASTELLÁ, G.; CABAÑES, F. J. Phylogenetic diversity of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex isolated from Spanish wheat. **Antonie van Leeuwenhoek**, 2014. DOI: 10.1007/s10482-014-0200-x.
- CROUS, P. W.; LOMBARD, L.; SANDOVAL-DENIS, M.; SEIFERT, K. A.; SCHROERS, H. J.; CHAVERRI, P.; GENÉ, J.; GUARRO, J.; HIROOKA, Y.; BENSCH, K.; KEMA, G. H. J.; LAMPRECHT, S. C.; CAI, L.; ROSSMAN, A. Y.; STADLER, M.; SUMMERBELL, R.

C.; TAYLOR, J. W.; PLOCH, S.; VISAGIE, C. M.; YILMAZ, N.; FRISVAD, J. C.; ABDEL-AZEEM, A. M.; ABDOLLAHZADEH, J.; ABDOLRASOULI, A.; AKULOV, A.; ALBERTS, J. F.; ARAÚJO, J. P. M.; ARIYAWANSA, H. A.; BAKHSHI, M.; BENDIKSBY, M.; BEN HADJ AMOR, A.; BEZERRA, J. D. P.; BOEKHOUT; CÂMARA, M. P. S.; CARBIA, M.; CARDINALI, G.; CASTAÑEDA-RUIZ, R. F.; CELIS, A.; CHATURVEDI, V.; COLLEMARE, J.; CROLL, D.; DAMM, U.; DECOCK, C. A.; DE VRIES, R. P.; EZEKIEL, C. N.; FAN, X. L.; FERNÁNDEZ, N. B.; GAYA, E.; GONZÁLEZ, C. D.; GRAMAJE, D.; GROENEWALD, J. Z.; GRUBE, M.; GUEVARA-SUAREZ, M.; GUPTA, V. K.; GUARNACCIA, V.; HADDAJI, A.; HAGEN, F.; HAELEWATERS, D.; HANSEN, K.; HASHIMOTO, A.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; HOUBRAKEN, J.; HUBKA, V.; HYDE, K. D.; ITURRIAGA, T.; JEEWON, R.; JOHNSTON, P. R.; JURJEVIĆ, Z.; KARALTI, İ.; KORSTEN, L.; KURAMAE, E. E.; KUŠAN, I.; LABUDA, R.; LAWRENCE, D. P.; LEE, H. B.; LECHAT, C.; LI, H. Y.; LITOVKA, Y. A.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; MARIN-FELIX, Y.; MATIO KEMKUIGNOU, B.; MATOČEC, N.; MCTAGGART, A. R.; MLČOCH, P.; MUGNAI, L.; NAKASHIMA, C.; NILSSON, R. H.; NOUMEUR, S. R.; PAVLOV, I. N.; PERALTA, M. P.; PHILLIPS, A. J. L.; PITT, J. I.; POLIZZI, G.; QUAEDVLIEG, W.; RAJESHKUMAR, K. C.; RESTREPO, S.; RHAJEM, A.; ROBERT, J.; ROBERT, V.; RODRIGUES, A. M.; SALGADO-SALAZAR, C.; SAMSON, R. A.; SANTOS, A. C. S.; SHIVAS, R. G.; SOUZA-MOTTA, C. M.; SUN, G. Y.; SWART, W. J.; SZOKE, S.; TAN, Y. P.; TAYLOR, J. E.; TAYLOR, P. W. J.; TIAGO, P. V.; VÁCZY, K. Z.; VAN DE WIELE, N.; VAN DER MERWE, N. A.; VERKLEY, G. J. M.; VIEIRA, W. A. S.; VIZZINI, A.; WEIR, B. S.; WIJAYAWARDENE, N. N.; XIA, J. W.; YÁÑEZ-MORALES, M. J.; YURKOV, A.; ZAMORA, J. C.; ZARE, R.; ZHANG, C. L.; THINES, M. *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. **Studies in Mycology**, v. 98, n. 1, p. 1-184, 2021. DOI: 10.1016/j.simyco.2021.100116.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; MICHEREFF, S. J.; NASCIMENTO, L. C.; GURGEL, L. M. S.; PESSOA, W. R. L. S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, vol. 28. p. 528-533, 2003.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Faostat**. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 03 fev. 2022.

FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal Databases**. United States Department of Agriculture - USDA. Disponível em: <<https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>>. Acesso em: 12 abril 22.

FRIMPONG, G. K.; ADEKUNLE, A. A.; OGUNDIPE, O. T.; SOLANKI, M. K.; SADHASIVAM, S.; SIONOV, E. Identification and toxigenic potential of fungi isolated from *Capsicum* peppers. **Microorganisms**, v. 7, p. 1-10, 2019. DOI: 10.3390/microorganisms7090303.

GOCI, E.; HALOCI, E.; DI STEFANO, A.; CHIAVAROLI, A.; ANGELINI, P.; MIHA, A.; CACCIATORE, I.; MARINELLI, L. Evaluation of *in vitro* capsaicin release and antimicrobial properties of topical pharmaceutical formulation. **Biomolecules**, v. 11, n. 3, p. 1-10, 2021.

GOMES, L. B. **Filogenia molecular, potencial toxigênico e patogenicidade do complexo *Fusarium chlamydosporum* em arroz**. 2017. 59 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

HERNÁNDEZ-PÉREZ, T.; GÓMEZ-GARCÍA, M. R.; VALVERDE, M. E.; PAREDES-LÓPEZ, O. *Capsicum annuum* (hot pepper): An ancient Latin-American crop with outstanding bioactive compounds and nutraceutical potential. A review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**. v. 19, p. 2972-2993, 2020. DOI: 10.1111/1541-4337.12634.

HERRON, D. A.; WINGFIELD, M. J.; WINGFIELD, B. D.; RODAS, C. A.; MARINCOWITZ, S.; STEENKAMP, E. T. Novel taxa in the *Fusarium fujikuroi* species complex from *Pinus* spp. **Studies in Mycology**, v. 80, n. 1, p. 131-150, 2015. DOI: 10.1016/j.simyco.2014.12.001.

HOU, B. Z.; LI, C. L.; HAN, Y. Y.; SHEN, Y. Y. Characterization of the hot pepper (*Capsicum frutescens*) fruit ripening regulated by ethylene and ABA. **BMC Plant Biology**, Beijing, v. 18, p. 1-12, 2018. DOI: 10.1186/s12870-018-1377-3.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção de Pimenta**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/pimenta/br>>. Acesso em: 02 fev. 2022.

JESUS, G. C. R.; FREITAS NETO, E. C.; BARRAQUE, M. J. M.; MESQUITA, P. H. G.; CURVÊLO, C. R. S.; CANTUÁRIO, F. S.; SALOMÃO, L. C.; PEREIRA, A. I. A. Qualidade e produtividade de variedades botânicas de pimenta (*Capsicum chinense*) fora da região Amazônica, seu centro de diversificação. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 5, p.32378-32389, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n5-618.

LIMA, E. N.; OSTER, A. H.; BORDALLO, P. N.; ARAÚJO, A. A. C.; SILVA, D. E. M.; LIMA, C. S. A novel lineage in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex is one of the causal agents of fusarium rot on melon fruits in Northeast Brazil. **Plant Pathology**, v. 70, p. 133–143, 2021. DOI: 10.1111/ppa.13271.

LIMA, M. F.; CARVALHO, S. I. C.; RAGASSI, C. F.; BIANCHETTI, L. B.; FALEIRO, F. G.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Characterization of a pepper collection (*Capsicum frutescens* L.) from Brazil. **Genetics and Molecular Research**. v. 16, n. 3, p. 1-18, 2017. DOI: 10.4238/gmr16039704.

LOMBARD, L.; VAN DOORN, R.; CROUS, P. W. Neotypification of *Fusarium chlamydosporum* - a reappraisal of a clinically important species complex. **Fungal Systematics and Evolution**, v. 4, p. 183-200, 2019. DOI: 10.3114/fuse.2019.04.10.

MARYANI, N.; SANDOVAL-DENIS, M.; LOMBARD, L.; CROUS, P. W.; KEMA, G. H. J. 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. DOI: 10.3767/persoonia.2019.43.02.

NADEEM, M.; ANJUM, F. M.; KHAN, M. R.; SAEED, M.; RIAZ, A. Antioxidant potential of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) a review. **Pakistan Journal of Food Science**, v. 21, n. 1, p. 45-51, 2011.

NOGUEIRA, J. C. **Potencial biotecnológico dos endófitos associados à pimenta murupi (*Capsicum chinense* Jacq.)**. 2014. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus.

O'DONNELL, K.; WARD, T. J.; ROBERT, V. A. R. G.; CROUS, P. W.; GEISER, D. M.; KANG, S. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: current status and future directions. **Phytoparasitica** v. 43. p. 583–595, 2015. DOI: 10.1007/s12600-015-0484-z.

O'DONNELL, K.; AL-HATMI, A. M. S.; AOKI, T.; BRANKOVICS, B.; CANO-LIRA, J. F.; COLEMAN, J. J.; HOOG, G. S.; PIETRO, A. D.; FRANDSEN, R. J. N.; GEISER, D. M.; GIBAS, C. F. C.; GUARRO, J.; KIM, H. S.; KISTLER, H. C.; LARABA, I.; LESLIE, J. F.; LÓPEZ-BERGES, M. S.; LYSØE, E.; MEIS, J. F.; MONOD, M.; PROCTOR, R. H.; REP, M.; RUIZ-ROLDÁN, C.; ŠIŠIĆ, A.; STAJICH, J. E.; STEENKAMP, E. T.; SUMMERELL, B. A.; LEE, T. A. J.; DIEPENINGEN, A. D.; VERWEIJ, P. E.; WAALWIJK, C.; WARD, T. J.; WICKES, B. L.; WIEDERHOLD, N. P.; WINGFIELD, M. J.; ZHANG, N.; ZHANG, S. X. No to *Neocosmospora*: phylogenomic and practical reasons for continued inclusion of the *Fusarium solani* species complex in the genus *Fusarium*. **Mosphere**, v. 5, p. 1-7, 2020.

O'DONNELL, K. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca-Fusarium solani* species complex. **Mycologia**, Lawrence, v. 92, n. 5, p. 919-938, 2000. DOI: 10.2307/3761588.

OLIVEIRA, D. S.; SILVA, L. P.; MAROSTEGA, T. N.; JESUS, J. G.; PREISIGKE, S. C.; GILIO, T. A. S.; ARAÚJO, K. L.; NEVES, L. G. Taxa de pagamento de frutos em cruzamentos intraespecíficos de *capsicum frutescens*. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 15727-15735, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n2-273.

PARISI, M. C. M.; HENRIQUE, C. M.; PRATI, P. Doenças pós-colheita: um entrave na comercialização. **Pesquisa & tecnologia**, São Paulo, v. 12, n. 2, 2015.

RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I. C.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Pimentas Capsicum**. 1. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. 200 p.

SOETHE, C.; STEFFENS, C. A.; MATTOS, L. M.; FERREIRA, N. A.; MAYER, D. M. Postharvest quality and functional compounds in “dedo-de-moça” ‘BRS Mari’ pepper fruit at different stages of maturity. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 8, p. 1322-1328, 2016. DOI: 10.1590/0103-8478cr20141795.

SUMMERELL, B.A.; SALLEH, B.; LESLIE, J.F. An utilitarian approach to *Fusarium* identification. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, n. 2, p. 117-128, 2003.

TRADEMAP. **Fruits of the genus *Capsicum* or of the genus *Pimenta*, dried, neither crushed nor ground**. Disponível em:

<https://www.trademap.org/Product_SelProductCountry.aspx?nvpm=1%7c076%7c%7c%7c%7c0904%7c%7c%7c6%7c1%7c1%7c2%7c1%7c1%7c1%7c2%7c1%7c1>. Acesso em: 02 fev. 2022.

VAN DIEPENINGEN, A. D.; AL-HATMI, A. M. S.; BRANKOVICS, B.; HOOG, G. S. Taxonomy and clinical spectra of *Fusarium* species: where do we stand in 2014? **Current Clinical Microbiology Reports**, v. 1, p. 10-18, 2014. DOI: 10.1007/s40588-014-0003-x.

VITALE, S.; SANTORI, A.; WAJNBERG, E.; CASTAGNONE-SERENO, P.; LUONGO, L.; BELISARIO, A. Morphological and molecular analysis of *Fusarium lateritium*, the cause of gray necrosis of hazelnut fruit in Italy. **Phytopathology**, v. 101, n. 6, p. 679-686, 2011. DOI: 10.1094/PHYTO-04-10-0120.

XIA, J. W.; SANDOVAL-DENIS, M.; CROUS, P. W.; ZHANG, X. G.; LOMBARD, L.
Numbers to names – restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. **Persoonia**,
v. 43, p. 186–221, 2019. DOI: 10.3767/persoonia.2019.43.05.

CAPÍTULO II

Espécies de *Fusarium* causando podridão seca em frutos de pimenta malagueta na Zona da Mata Pernambucana

1 **Espécies de *Fusarium* causando podridão seca em frutos de pimenta malagueta na Zona**
2 **da Mata Pernambucana**

3

4 J. M. Santos¹, E. R. Paz Filho¹, A. R. Machado², M. P. S. Câmara¹, A. A. M. Gomes¹

5

6 ¹ Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900

7 Recife, Pernambuco, Brasil;

8 ² Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife,

9 Pernambuco, Brasil.

10

11 †Autor correspondente: André Angelo Medeiros Gomes - e-mail: andreangelomg@gmail.com

12 RESUMO

13

14 A pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) é uma hortaliça pertencente à família
15 Solanaceae, sendo uma das espécies domesticadas de pimenta mais cultivadas em todo o
16 mundo. Como qualquer outra cultura agrícola, ela está sujeita ao ataque de fitopatógenos,
17 podendo acarretar perdas quantitativas e qualitativas. O objetivo deste estudo foi identificar
18 quais agentes fitopatogênicos são responsáveis por causar podridão seca em frutos de pimenta
19 malagueta. Para isso, amostras de pimentas apresentando sintomas de podridão seca foram
20 coletadas em áreas de cultivo nos municípios pernambucanos de Primavera, Chã Grande e
21 Vitória de Santo Antão e levadas ao Laboratório de Patologia Pós-Colheita da Universidade
22 Federal Rural de Pernambuco (LPPC-UFRPE) para serem analisadas. A partir das amostras
23 coletadas em campo foram obtidos 27 isolados. Utilizando preparações microscópicas, todos
24 os isolados, através de comparações morfológicas, foram identificados como pertencentes ao
25 gênero *Fusarium*. Destes, 17 isolados foram selecionados para serem utilizados na extração de
26 DNA e, posteriormente, identificados a nível de espécie através da análise das sequências das
27 regiões TEF1 e RPB2 através de Inferência Bayesiana. A análise concatenada das duas regiões
28 gênicas agrupou os isolados em quatro complexos de espécies distintos: complexo de espécie
29 *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC), complexo de espécies *Fusarium lateritium* (FLSC),
30 complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum* (FCSC) e complexo de espécie *Fusarium*
31 *fujikuroi* (FFSC). Análises posteriores revelaram que estes isolados pertencem a nove espécies
32 diferentes, sendo seis espécies pertencentes ao FIESC (*F. pernambucanum*, *F. sulawesiense*, *F.*
33 *caatingaense*, *F. hainanense*, *F. citri* e *F. arcuatisporum*), uma espécie pertencente ao FLSC
34 (*F. cassiae*), uma espécie pertencente ao FCSC (*F. chlamydosporum*) e um isolado pertencente
35 ao FFSC (*F. pseudocircinatum*). Todos os isolados identificados a nível de espécie foram
36 patogênicos em frutos de pimenta malagueta.

37

38 **Palavras-chaves:** *Capsicum frutescens* L., Solanaceae, filogenia, pós-colheita.

39 1 INTRODUÇÃO

40

41 A pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) é uma hortaliça pertencente à família
42 Solanaceae, sendo uma das espécies domesticadas de pimenta mais cultivadas em todo o mundo
43 (ZHONG et al., 2021). O fruto de pimenta malagueta é muito valorizado por sua pungência e
44 valor nutricional, estando presente em uma grande variedade de receitas, sendo uma excelente
45 fonte de vitaminas, minerais e substâncias com ação antioxidante, como compostos fenólicos,
46 ácido ascórbico e carotenoides (ANJOS et al., 2022).

47 As pimenteiras do gênero *Capsicum* são originárias da América, tendo surgido por volta
48 de 7.000 anos a.C., estando entre as plantas cultivadas mais antigas das Américas
49 (BONTEMPO, 2007). Acredita-se que sua dispersão ocorreu na região tropical das Américas e
50 que a partir do descobrimento do continente pelos europeus elas foram disseminadas pelo
51 mundo, sendo as primeiras especiarias americanas que conquistaram os pratos e solos europeus,
52 africanos e asiáticos. O gênero *Capsicum* compreende um grupo diversificado de pimentas e
53 pimentões, abrangendo cerca de 30 espécies (OLIVEIRA et al., 2021). Cinco delas são
54 consideradas domesticadas: *C. frutescens*, *C. annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum* e *C.*
55 *pubescens*. (ZHONG et al., 2021).

56 As pimentas são cultivadas em praticamente todos os países do mundo (ALVES, 2016).
57 Em 2020, a produção mundial de *Capsicum* spp. foi de mais de 36,1 milhões de toneladas em
58 uma área colhida de cerca de 2 milhões de hectares. Os maiores produtores mundiais são a
59 China (16,6 milhões de toneladas), o México (2,8 milhões de toneladas), a Indonésia (2,7
60 milhões de toneladas), a Turquia (2,6 milhões de toneladas) e a Espanha (1,4 milhões de
61 toneladas) (FAO, 2022).

62 Além de ser uma cultura de destaque em países desenvolvidos, a cultura da pimenta
63 também se destaca por ser uma importante fonte de renda para pequenos produtores em muitos
64 países em desenvolvimento (FRIMPONG et al. 2019). Sua importância socioeconômica é
65 muito grande, por permitir a fixação de pequenos produtores rurais e suas famílias no campo,
66 a contratação sazonal de mão-de-obra, especialmente durante o período de colheita, e o
67 estabelecimento de indústrias processadoras e, conseqüentemente, a geração de emprego
68 (LIMA et al., 2017; RIBEIRO et al., 2008).

69 Como qualquer outra cultura agrícola, o cultivo de pimentas do gênero *Capsicum*
70 também está sujeito a problemas fitossanitários, podendo acarretar perdas quantitativas e
71 qualitativas. Quando ocorrem em frutos, especialmente na etapa de pós-colheita, os fungos
72 destacam-se como os principais agentes microbianos relacionados, sendo responsáveis por

73 cerca de 80 a 90% das perdas ocasionadas por fitopatógenos durante a pós-colheita, trazendo,
74 com isso, grandes prejuízos aos produtores, bem como reduzindo a quantidade e a qualidade
75 dos alimentos ofertados à população (DANTAS et al., 2003; FRIMPONG et al., 2019).

76 Espécies de fungos dos gêneros *Colletotrichum*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*
77 *Lasiodiplodia*, são as mais relatadas causando sintomas de podridão em frutos tenros e
78 suculentos. Por exemplo, espécies de *Colletotrichum* são frequentemente associadas a sintomas
79 de podridão denominado de antracnose em uma ampla variedade de frutos como banana,
80 manga, acerola, mamão, abacate, goiaba, entre outras (DEAN et al., 2012).

81 Outro importante grupo de fungos fitopatogênicos, que apesar de ser tipicamente
82 associado a danos em raízes, vasos do xilema e grãos, vem sendo relatado com frequência
83 causando sintomas de podridão em frutos, são as espécies do gênero *Fusarium* (FARR;
84 ROSSMAN, 2022). Espécies de *Fusarium* são bem conhecidas por sua abundância, diversidade
85 e estilo de vida cosmopolita. Sua distribuição global, capacidade de adaptação a diferentes
86 condições climáticas e colonização de um grande número de hospedeiros dá uma demonstração
87 da grande diversidade de espécies pertencentes a esse gênero fúngico (MARYANI et al. 2019).

88 O gênero *Fusarium* inclui alguns dos patógenos de plantas mais devastadores, afetando
89 uma ampla gama de culturas agrônômicas. Sendo responsável por causar podridões pós-
90 colheita em diferentes áreas de produção em todo o mundo (ARAÚJO et al., 2021). Além de
91 importante fitopatógeno, membros do gênero *Fusarium* podem associar-se a plantas
92 hospedeiras como invasores secundários, saprotróficos e/ou endofíticos (MARYANI et al.
93 2019).

94 A correta identificação dos agentes fitopatogênicos que estão associados a determinada
95 doença é crucial para a tomada de decisão sobre os métodos de manejo, evitando maiores danos
96 às culturas e, conseqüentemente, reduzindo os prejuízos advindos do ataque desses
97 fitopatógenos. Sabendo disso, e diante de relatos de agricultores da Zona da Mata de
98 Pernambuco sobre a observação da ocorrência de sintomas de podridão seca em frutos de
99 pimenta malagueta diferentes daqueles típicos causados por *Colletotrichum* em seus cultivos,
100 o presente trabalho objetivou investigar quais são os agentes fitopatogênicos responsáveis por
101 causar essa podridão seca em frutos de pimenta malagueta.

102

103 **2 MATERIAL E MÉTODOS**

104

105 **2.1 Coleta de amostras e isolamento**

106 Nos meses de abril e maio de 2021, amostras de pimentas apresentando sintomas de

107 podridão seca foram coletadas em áreas de cultivo nos municípios pernambucanos de
108 Primavera, Chã Grande e Vitória de Santo Antão, ambos localizados na Mesorregião da Zona
109 da Mata do Estado de Pernambuco (GOVERNO DO ESTADO DE PERNAMBUCO, 2022).

110 Cada amostra foi constituída por frutos de uma única planta e cada isolado foi oriundo
111 de um único fruto e planta. Os sintomas observados nos frutos em campo caracterizavam-se
112 da seguinte maneira: lesões necróticas secas na epiderme dos frutos, que variavam desde
113 pequenos pontos necróticos até total colonização do fruto. Frutos em estádios mais avançados
114 da doença, mostravam-se mumificados (figura 5).

115 No município de Primavera, as amostras foram coletadas na comunidade de Sítio
116 Maracujá, em um cultivo localizado a 8°16'16.7" de latitude sul e 35°24'13.0" de longitude
117 oeste. Em Chã Grande as coletas ocorreram na comunidade rural de Sítio Macacos em uma área
118 de cultivo localizado a 8°15'13.3" de latitude sul e 35°28'51.2" de longitude oeste. Já em Vitória
119 de Santo Antão a coleta de amostras foi realizada na comunidade de Sítio Cacimbas, localizado
120 a uma latitude de 8°03'05.2" sul e longitude de 35°15'20.6" oeste. Após coletadas, as amostras
121 foram levadas ao Laboratório de Patologia Pós-Colheita da Universidade Federal Rural de
122 Pernambuco (LPPC-UFRPE) onde foram utilizadas para a obtenção de isolados fúngicos.

123 Os isolados fúngicos foram obtidos através de isolamentos direto e indireto, realizados
124 em câmara de fluxo laminar a partir dos frutos coletados. O isolamento direto consistiu na
125 transferência, com o auxílio de uma alça esterilizada, de estruturas do patógeno diretamente do
126 tecido infectado para placas contendo o meio de cultura BDA (Ágar Batata Dextrose)
127 (CAROLLO; SANTOS FILHO, 2016).

128 O isolamento indireto consistiu na transferência de porções infectadas do tecido do
129 hospedeiro para o meio de cultura. Para isso, foi realizada a retirada de fragmentos de tecidos
130 da região limítrofe entre a área lesionada e a área sadia. Em seguida os fragmentos retirados
131 passaram por um processo de desinfestação e, posteriormente, foram transferidos para placas
132 contendo meio de cultura BDA. Para a desinfestação, os fragmentos foram colocados com ajuda
133 de uma pinça em béquer com álcool a 70% por 30 segundos. Em seguida foram passados para
134 outro béquer com hipoclorito de sódio a 0,5% por 2 minutos. E, por fim, foram lavados em
135 água destilada estéril por duas vezes, passando 30 segundos em cada um dos béqueres de água
136 destilada estéril. Após a desinfestação os fragmentos dos tecidos foram secos em papel-toalha
137 e, em seguida, transferidos para as placas contendo o meio de cultura BDA e incubados a
138 temperatura ambiente (23-25° C) e observados diariamente (CAROLLO; SANTOS FILHO,
139 2016).

140 Após a obtenção, os isolados passaram por um processo de purificação das colônias
141 através de repicagem de ponta de hifa. Para isso, hifas fúngicas emergindo dos fragmentos
142 foram transferidas para uma outra placa de Petri contendo meio de cultivo Ágar-Água. Após 24
143 horas de crescimento foi retirada uma única ponta de hifa de cada isolado e transferida para novas
144 placas contendo meio de cultura BDA para dar início ao crescimento de colônias puras
145 (MELLO; REIS; SILVA, 2011).

146 Após o desenvolvimento das colônias puras, isolados com sete dias de crescimento
147 foram preservados em água destilada e esterilizada (CASTELLANI, 1939) e depositados na
148 coleção de isolados LPPC, do Laboratório de Patologia Pós-Colheita do Departamento de
149 Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

150

151 **2.2 Identificação dos isolados**

152

153 A identificação a nível de gênero dos isolados foi realizada através da observação em
154 microscópio óptico de suas características morfológicas. Foram observados a produção ou não
155 de macro e microconídeos, bem como a sua forma, tamanho e número de septos. Também foi
156 observada a presença ou ausência de clamidósporos. Para isso, foram utilizadas colônias puras
157 dos isolados com sete dias de crescimento em meio de cultura SNA (*synthetic nutrient-poor*
158 *agar*). Tais atributos morfológicos proporcionam a identificação dos isolados a nível de
159 gêneros. A identificação a nível de complexo e espécie procedeu com o uso de sequências de
160 DNA como marcadores moleculares.

161

162 **2.2.1 Identificação molecular dos isolados**

163

164 *Extração de DNA, amplificação e sequenciamento*

165

166 Para realizar a identificação a nível de espécie dos isolados, foram analisadas sequências
167 das seguintes regiões: segunda maior subunidade da RNA polimerase II (RPB2) e fator de
168 alongamento da tradução 1-alfa (TEF1).

169 Para extração do DNA foi utilizado o Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit.
170 Inicialmente, os isolados foram cultivados em meio de cultura BDA, durante sete dias.
171 Fragmentos de micélio foram coletados e depositados em microtubos de 2 mL contendo 300µL
172 de Nuclei Lysis Solution e 4 microesferas (Beads). Posteriormente, incubados a 65°C por 15
173 minutos em banho seco, seguido pela adição de 3 µL de RNA Solution (RNAase), incubação a

174 37°C por 15 minutos e freezer por 5 minutos a – 20°C.

175 Foram adicionados 200 µL de Protein Precipitation Solution e misturado em vortex por
176 10 segundos. As amostras foram centrifugadas durante 5 minutos a 14.000 rpm para a formação
177 do precipitado (pellet) dos componentes celulares e proteínas. Em seguida, foram removidos
178 600 µL do sobrenadante (solução que continha o DNA) e transferidos para um microtubo de
179 1,5 mL contendo 600 µL de isopropanol resfriado.

180 A solução foi misturada por aproximadamente 5 minutos invertendo-se os tubos e
181 incubadas no freezer por 20 minutos. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a
182 14.000 rpm por 5 minutos para a formação do precipitado de DNA. Foi descartado o
183 sobrenadante e realizada duas lavagens com etanol 70%. Para isso, foram adicionados 600 µL
184 de etanol 70% resfriado e agitação durante 2 minutos, seguida por centrifugação a 14.000 rpm
185 por 5 minutos. Após esse processo, o etanol foi removido e os tubos foram postos na posição
186 horizontal com a tampa aberta sobre papel toalha para secagem do pellet. Por fim, adicionou-
187 se 100 µL de DNA Rehydration Solution para ressuspender o pellet e reidratar o DNA. A
188 solução foi misturada invertendo os tubos várias vezes. As amostras foram incubadas a 65°C
189 por 1 (uma) hora no banho seco.

190 Após a extração do DNA, as amostras foram submetidas a Reação em Cadeia da
191 Polimerase (PCR) para amplificação das regiões de interesse do DNA. Foram amplificadas as
192 regiões RPB2 e TEF1, utilizando para a região RPB2 os primers RPB2-5fb
193 (GAYGAYCGTGATCACTTYGG) e RPB2-7Rb (CCCATRGCYTGYYTTRCCCAT), e para a
194 região TEF1 os primers EF1T (ATGGGTAAGGAGGACAAGAC) e EF2T
195 (GGAAGTACCAGTGATCATGTT) (O'DONNELL et al., 2008).

196 Todas as reações de PCR foram realizadas para um volume final de 25 µL, contendo:
197 12,5 µL de Dream Taq Master Mix, 1 µL de cada primers (forward e reverse), 8,5 µL de Water
198 free nucleasse e 2 µL da amostra de DNA. As reações de PCR foram realizadas em
199 termociclador Mastercycler® nexus gradiente da empresa Eppendorf, sob as mesmas condições
200 para ambos os primers: um ciclo de 95°C por 3 minutos (desnaturação inicial), seguido de 35
201 ciclos de 95°C por 45 segundos (desnaturação), 53°C por 45 segundos (anelamento) e 72°C por
202 2 minutos (extensão), por fim, um ciclo de 10 minutos à 72°C (extensão final).

203 Após a amplificação, os produtos da PCR foram separados por eletroforese em gel de
204 agarose a 1,5% em tampão 1-Tris- ácido acético EDTA (TAE) corados com sybr safe DNA gel
205 stain e visualizados sob luz ultravioleta para confirmar as amplificações.

206 Os produtos da PCR foram purificados com o Kit Exonuclease/Alkaline Phosphatase,
207 de acordo com as instruções do fabricante e encaminhados para sequenciamento na plataforma

208 de sequenciamento do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).
209 Os primers utilizados no sequenciamento foram os mesmos utilizados na PCR.

210

211 *Análises filogenéticas*

212

213 A montagem da fita consenso foi gerada utilizando o programa DNA Baser Assembler.
214 Os alinhamentos das sequências foram realizados utilizando a ferramenta MUSCLE (EDGAR,
215 2004) e corrigidas manualmente através do programa MEGA7 (KUMAR et al., 2016).

216 Os alinhamentos das sequências das duas regiões (RPB2 e TEF1) foram concatenados
217 utilizando o programa Mesquite. As análises filogenéticas de Inferência Bayesiana foram
218 realizadas no portal web CIPRES (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010) utilizando
219 MrBayes v 3.2 (RONQUIST et al., 2012), baseado na cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC)
220 com 50.000.000 de gerações, usando os melhores modelos substituição de nucleotídeos
221 selecionados de acordo com o Akaike Information Criterion (AIC) no software MrModeltest
222 v.2.3 (POSADA; CRANDALL, 1998). As árvores foram amostradas a cada 1000 gerações,
223 descartando 25% de todas as árvores obtidas. Probabilidade posterior (RANNALA; YANG,
224 1996) foram determinadas a partir da árvore de maior consenso entre as árvores remanescentes.
225 As árvores geradas foram visualizadas no programa FigTree (RAMBAUT, 2018).

226

227 **2.3 Teste de patogenicidade**

228

229 Com o objetivo de avaliar a patogenicidade dos isolados obtidos associados a frutos de
230 pimenta malagueta foram realizadas as etapas do Postulado de Koch. O ensaio foi realizado no
231 laboratório de Patologia Pós-colheita da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

232 Frutos de pimenta malagueta sadios e livres de injúrias foram colhidos e encaminhados
233 ao laboratório. Foram lavados em água corrente e secos a temperatura ambiente. Em seguida,
234 foram acondicionados em caixa tipo gerbox e microferidos com auxílio de agulhas
235 entomológicas estéreis. Foi colocado um chumaço de algodão umedecido com água destilada
236 para a manutenção da umidade dentro da caixa gerbox.

237 Foi depositado um plug de micélio (3mm) contendo estruturas fúngicas dos isolados,
238 cultivados em meio BDA durante 7 dias sobre os microferimentos realizados nos frutos. A
239 testemunha constituiu de frutos de pimenta malagueta inoculados com plug de meio BDA sem
240 a presença de estruturas fúngicas. Para cada isolado avaliado, utilizou-se 5 repetições (frutos).

241 Avaliou-se presença e tamanho de lesão (mm) a cada 24 h após a inoculação durante

242 um período de sete dias. As medições foram realizadas com o auxílio de um paquímetro digital.

243

244 **3 RESULTADOS**

245

246 **3.1 Coleta de amostras e isolamento**

247

248 A partir de frutos de pimenta malagueta coletados em campo apresentando sintomas de
249 podridão seca foram obtidos 27 isolados fúngicos (tabela 1), sendo 14 isolados obtidos no
250 município de Primavera, dois isolados obtidos em Chã Grande e 11 isolados obtidos no
251 município de Vitória de Santo Antão.

252

253 **3.2 Identificação dos isolados**

254

255 Para todos os isolados foram obtidas preparações microscópicas. Sendo, todos eles,
256 através de comparações morfológicas, identificados como pertencentes ao gênero *Fusarium*.
257 Na tabela 3, encontram-se as medidas das principais estruturas observadas dos isolados
258 identificados a nível de espécie.

259

260 **3.2.1 Identificação molecular dos isolados**

261

262 *Extração de DNA, amplificação e sequenciamento*

263

264 Buscando uma amostra representativa da população em estudo, foram selecionados 17
265 isolados de acordo com diferenças encontradas em suas características morfológicas (presença
266 e tamanho de macro e micro conídios, presença de clamidósporos e coloração de colônia) para
267 serem utilizados na identificação molecular utilizando sequências de DNA. Após amplificados
268 por PCR, os segmentos de DNA extraídos geraram produtos que variaram de 554 a 663 pb para
269 a região de TEF1 e de 812 a 1138 pb para a região de RPB2.

270

271 *Análises filogenéticas*

272

273 Inicialmente foi realizado o alinhamento concatenado das sequências das regiões TEF1
274 e RPB2 de 17 isolados obtidos neste trabalho, mais representantes de todos os complexos de
275 espécies de *Fusarium* para inferência bayesiana e identificação dos complexos de espécies aos

276 quais pertenciam os isolados em estudo (Figura 1). O melhor modelo de substituição de
277 nucleotídeos escolhido para esta análises filogenéticas foi o GTR+I+G tanto para o TEF1,
278 quanto para RPB2. *Nectria cinnabarina* foi utilizado como outgroup.

279 Dos 17 isolados avaliados, 14 isolados (LPPC28, LPPC29, LPPC30, LPPC32, LPPC34,
280 LPPC35, LPPC41, LPPC44, LPPC45, LPPC46, LPPC50, LPPC52, LPPC53 e LPPC54)
281 agruparam-se como membros do complexo de espécie *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC)
282 com 100% de probabilidade posterior (PP). Um isolado (LPPC31) agrupou com representantes
283 do complexo de espécies *Fusarium lateritium* (FLSC) com 90% de PP. Um isolado (LPPC 47)
284 agrupou com representantes do complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum* (FCSC) com
285 100% de PP. E, por fim, um isolado (LPPC 51) agrupou com representantes do complexo de
286 espécie *Fusarium fujikuroi* (FFSC) com 100% de PP (figura 1).

287 A partir da inferência filogenética, que permitiu separar os isolados em complexos de
288 espécies, procedeu-se a continuação das análises com a finalidade de identificar os isolados a
289 nível de espécie. Para isso, novas inferências bayesianas foram realizadas com representantes
290 de cada complexo de interesse para geração das respectivas árvores filogenéticas.

291 Realizou-se análise concatenada das sequências das regiões TEF1 e RPB2 de
292 representantes de todas as espécies pertencentes ao complexo de espécie *Fusarium incarnatum-*
293 *equiseti* juntamente com as sequências dos 14 isolados identificados a priori como pertencentes
294 a este complexo de espécie. O melhor modelo de substituição de nucleotídeos escolhido para
295 as análises filogenéticas foi o SYM+G para o TEF1 e GTR+I+G para RPB2. Foram utilizados
296 como outgroup *F. camptoceras* e *F. kotabaruense*.

297 A árvore gerada com parte da região gênica TEF1 e RPB2 concatenadas (figura 2)
298 agrupou 5 isolados (LPPC28, LPPC29, LPPC30, LPPC32 e LPPC34) com o representante tipo
299 da espécie *F. pernambucanum* (100% de PP). Os isolados LPPC54, LPPC45 e LPPC53
300 agruparam-se com representantes de *F. sulawesiense*, *F. caatingaense* e *F. hainanense*,
301 respectivamente. Três isolados (LPPC35, LPPC41 e LPPC44) agruparam com representantes
302 de *F. citri* (100% de PP). Dois isolados (LPPC50 e LPPC52) agruparam com representantes de
303 *F. arcuatisporum* com 100% de PP. E, um isolado (LPPC46) não agrupou com nenhuma
304 espécie do complexo *Fusarium incarnatum-equiseti*.

305 Para o complexo de espécies *Fusarium lateritium* também foi realizada a análise
306 concatenada com sequências das regiões TEF1 e RPB2 de todas as espécies pertencentes ao
307 complexo e sequências do isolado LPPC31. Utilizou-se como out-group as espécies *F. concolor*
308 e *F. austroafricanum*. Os melhores modelos de substituição de nucleotídeos escolhidos para
309 esta análise foram o SYM+I para o TEF1 e GTR+G para RPB2. A árvore gerada (figura 3)

310 agrupou o isolado LPPC31 com o representante de *F. cassiae* com 99% de PP.

311 Análise concatenada com sequências das regiões TEF1 e RPB2 também foi realizada
312 com o isolado LPPC47 juntamente com representantes de todas as espécies pertencentes ao
313 complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum*. Utilizou-se como out-group as espécies *F.*
314 *concolor* e *F. austroafricanum*. Os melhores modelos de substituição de nucleotídeos
315 escolhidos para esta análise foram o SYM+G para o TEF1 e GTR+G para RPB2. A árvore
316 gerada (figura 4) agrupou o isolado LPPC47 como pertencente a *F. chlamydosporum* com
317 100% de PP.

318 Para o isolado LPPC51 que a priori agrupou com espécies do complexo de espécie
319 *Fusarium fujikuroi* não foi realizada análise com todos os representativos do complexo.
320 Entretanto, em Basic Local Alignment Search Tool – BLAST, as sequências TEF1 mostrou
321 99,68% de similaridade com o isolado tipo de *Fusarium pseudocircinatum* CBS 449.97.

322 Dentre os 17 isolados que foram utilizados nas análises filogenéticas, seis foram
323 provenientes do município de Primavera, sendo identificados como três espécies diferentes: *F.*
324 *pernambucanum* e *F. citri*, pertencente ao complexo FIESC, e *F. cassiae*, pertencente ao FLSC.
325 Do município de Chã Grande foram obtidos dois isolados, sendo ambos identificados como
326 pertencentes ao FIESC, sendo um isolado identificado como *F. caatingaense* e o outro não
327 agrupou com nenhuma das espécies descritas dentro do FIESC.

328 Dos isolados obtidos no município de Vitória de Santo Antão, nove foram utilizados
329 nas análises filogenéticas, sendo estes nove isolados identificados como seis espécies distintas:
330 *F. pernambucanum*, *F. sulawesiense*, *F. hainanense*, e *F. arcuatisporum*, pertencentes ao
331 FIESC, *F. chlamydosporum*, pertencente ao FCSC, *F. pseudocircinatum*, pertencente ao FFSC.
332 Foram encontradas espécies pertencentes ao FIESC nos três municípios estudados, sendo que
333 *F. pernambucanum* foi a única espécie encontrada em mais de um local (Primavera e Vitória
334 de Santo Antão).

335

336 **3.3 Teste de patogenicidade**

337

338 Os 27 isolados obtidos neste trabalho foram testados quanto à patogenicidade em frutos
339 de pimenta malagueta. Todos os isolados, exceto o isolado LPPC49, causaram sintomas de
340 podridão seca quando inoculados em frutos de pimenta malagueta. Os isolados LPPC42,
341 LPPC35, LPPC37 e LPPC32 que diferiram estatisticamente dos demais, apresentando tamanho
342 médio de lesão após sete dias variando entre 21,96 e 17,09 mm (tabela 4).

343 Após sete dias da inoculação e finalizada a avaliação da patogenicidade, foi realizado o

344 reisolamento. Todos os 26 isolados que foram patogênicos foram reisolados e identificados
345 através da observação e comparação de suas características morfológicas em preparações
346 microscópicas como pertencentes ao gênero *Fusarium*. As colônias obtidas do reisolamento
347 apresentaram as mesmas características da cultura original.

348

349 **4 DISCUSSÃO**

350

351 O gênero *Fusarium* é um dos grupos mais importantes de fungos fitopatogênicos e afeta
352 uma enorme diversidade de culturas em todas as regiões do planeta (SUMMERELL, 2019). Ele
353 tem recebido bastante atenção por parte dos pesquisadores devido à sua ampla gama de habitats
354 e hospedeiros em todo o mundo (JEDIDI et al., 2021). Podendo ser patogênico e estar associado
355 a outros fungos, plantas e animais, incluindo humanos (LOMBARD, et al., 2019).

356 Neste trabalho, objetivou-se identificar qual agente patogênico era responsável por
357 causar podridão seca em frutos de pimenta malagueta. Para isso, 27 isolados foram obtidos a
358 partir de frutos sintomáticos nos municípios pernambucanos de Primavera, Chã Grande e
359 Vitória de Santo Antão. Estes isolados foram identificados através de características
360 morfológicas como pertencentes ao gênero *Fusarium*. Sendo, posteriormente, selecionados 17
361 destes isolados para estudos moleculares.

362 Para a delimitação das espécies de *Fusarium* através de análises filogenéticas, o uso das
363 regiões TEF1 e RPB2 vem demonstrando maior consistência (LIMA et al., 2021). Deste modo,
364 foram utilizadas sequências destas duas regiões para as análises filogenéticas. Após inferências
365 bayesianas, foi observado que o estudo filogenético de *Fusarium* utilizando sequências obtidas
366 das regiões TEF1 e RPB2 se mostrou satisfatório para agrupar os complexos de espécies
367 pertencentes a este gênero.

368 Através de inferências bayesianas com sequências de TEF1 e RPB2 todos os isolados
369 foram identificados como pertencentes ao gênero *Fusarium*. Foi identificado um total de nove
370 espécies, pertencentes a quatro complexos de espécies distintos. Sendo seis espécies
371 pertencentes ao complexo de espécie *Fusarium incarnatum-equiseti* (FIESC), uma espécie
372 pertencente ao complexo de espécie *Fusarium lateritium* (FLSC), uma espécie pertencente ao
373 complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum* (FCSC) e uma espécie pertencente ao
374 complexo de espécie *Fusarium fujikuroi* (FFSC).

375 O complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* – FIESC é um complexo
376 altamente diversificado, tendo sido relatado como agente causal de importantes doenças em
377 culturas agrícolas ao redor do mundo, sendo algumas de suas espécies importantes produtores

378 de micotoxinas (WONGLOM; SUNPAPAO, 2020; XIA et al., 2019).

379 Neste trabalho, os isolados que agruparam em FIESC foram identificadas como
380 *Fusarium pernambucanum*, *F. caatingaense*, *F. sulawesiense*, *F. hainanense*, *F. citri* e *F.*
381 *arcuatisporum*.

382 Espécies de *F. pernambucanum*, e *F. caatingaense* foram descritas pela primeira vez
383 por Santos et al. (2019) estando associadas à insetos. Sendo *F. pernambucanum* encontrado
384 associado à mosca negra dos citros (*Aleurocanthus woglumi*) e *F. caatingaense* encontrado
385 associado à cochonilha-do-carmim (*Dactylopius opuntiae*). Ambas as espécies foram
386 encontradas no estado de Pernambuco.

387 Trabalhos publicados por Zhang et al. (2021) e Liu; Tang e Zhou (2021) relatam *F.*
388 causando podridão, respectivamente, em frutos de melão e flores de maracujá, na China. Não
389 sendo encontrado, até o presente momento, nenhum trabalho associando *F. pernambucanum* à
390 doença em pimenta malagueta, sendo este o primeiro relato. O mesmo acontece com *F.*
391 *caatingaense*, que, até o presente momento, não foi relatado causando doença em pimenta
392 malagueta, sendo este o primeiro relato no mundo.

393 *Fusarium sulawesiense* já foi relatado causando doenças em uma ampla gama de
394 hospedeiros em todo o mundo: pimenta (*Capsicum* sp.) e bananeira na China (WANG et al.,
395 2019), melão no Brasil (LIMA et al., 2021), gergelim no Paquistão (KAMRAN et al., 2020),
396 entre outros. No entanto, este o primeiro relato de *F. sulawesiense* causando doença em pimenta
397 malagueta no Brasil.

398 *Fusarium hainanense* já foi relatado causando doenças em diversas culturas pelo
399 mundo. Sendo relatado associado à bananeira e arroz na China (WANG et al., 2019), causando
400 podridão da bainha do arroz na Indonésia (PRAMUNADIPTA et al., 2022), entre outros. No
401 entanto, até o presente momento, nenhum trabalho foi publicado associando *F. hainanense* a
402 doença em pimenta malagueta, sendo este o primeiro relato.

403 *Fusarium citri* também já foi relatado por diversos autores causando doença em uma
404 ampla gama de hospedeiros em todo mundo, incluindo tangerina e pimenta (*Capsicum* sp.) na
405 China (WANG et al., 2019), causando mancha foliar em hortaliças (alface, rúcula, espinafre e
406 rabanete) na Itália (MATIC et al., 2020), entre outros. Contudo, este é o primeiro relato de *F.*
407 *citri* causando doença em pimenta malagueta no Brasil.

408 Trabalho publicado por Wang et al. (2019) relatou *F. arcuatisporum* causando doença
409 em arroz e também flor-de-lótus na China. Xia et al. (2019) também relataram *F. arcuatisporum*
410 causando doença em nabo na China. No entanto, até o presente momento, nenhum trabalho foi
411 publicado associando *F. arcuatisporum* à doença em pimenta malagueta, sendo este o primeiro

412 relato.

413 A espécie identificada pertencente ao FLSC foi a espécie *F. cassiae*. Sendo que, Perera
414 et al. (2020) descreveram *F. cassiae* associada a vagens em decomposição de cássia-imperial
415 (*Cassia fistula*) na Tailândia. Não sendo encontrado nenhum trabalho, até o presente momento,
416 associando *F. cassiae* a doença em pimenta malagueta, sendo este o primeiro relato.

417 A espécie encontrada pertencente ao FCSC foi a espécie *F. chlamyosporum*. Esta
418 espécie tem sido relatada causando doenças em uma ampla gama de hospedeiros em todo o
419 mundo. Sendo relatada causando doença em graviola nas Filipinas (ALBERTO; OTANES,
420 2016), damping-off em pinheiro na Argélia (LAZREG et al., 2013), entre outros. No entanto,
421 até o presente momento, *F. chlamyosporum* não foi relatado causando doença em pimenta
422 malagueta, sendo este o primeiro relato no mundo.

423 A espécie pertencente ao FFSC foi identificada como *F. pseudocircinatum*. Esta espécie
424 já relatada causando doenças em várias culturas ao redor do mundo. Sendo relatada por
425 Santillán-Mendoza et al. (2020) causando malformação em plantas de mogno no México,
426 relatada por Garcia-Lopez et al. (2016) causando malformação em plantas de manga na
427 República Dominicana, entre outros. Contudo, até o presente momento, não foram encontrados
428 trabalhos associando *F. pseudocircinatum* a doença em pimenta malagueta, sendo este o
429 primeiro relato.

430 Testes de patogenicidade são necessários, pois apenas o isolamento e a identificação de
431 um determinado fungo não comprovam sua patogenicidade e nem sua agressividade, desse
432 modo, fazem-se necessários testes que comprovem a real ligação entre o agente causador e a
433 ocorrência da doença (ELLIOTT, 2018). Sendo assim, os 27 isolados obtidos neste trabalho
434 foram testados quanto a sua patogenicidade em frutos maduros de pimenta malagueta.

435 Os isolados testados apresentaram comportamentos diferentes em relação aos níveis de
436 agressividade em frutos de pimenta malagueta. Todos os isolados foram patogênicos, exceto o
437 isolado LPPC49 (tabela 2), sendo que os isolados LPPC42, LPPC35, LPPC37 e LPPC32 foram
438 os mais agressivos, diferindo estatisticamente dos demais isolados apresentando tamanho
439 médio de lesão após sete dias variando entre 21,96 e 17,09 mm. Dentre os isolados que foram
440 mais agressivos, o isolado LPPC35 foi identificado com *F. citri* e o isolado LPPC32 como *F.*
441 *pernambucanum*, ambos pertencentes ao complexo de espécies FIESC.

442 Outras espécies de *Fusarium* já foram relatadas em pimenta malagueta como *F.*
443 *annuum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. graminearum* e *F. incarnatum* (FARR; ROSSMAN,
444 2022). No entanto, este foi o primeiro trabalho relatando a nível molecular *F. cassiae*, *F.*
445 *pernambucanum*, *F. caatingaense*, *F. chlamyosporum*, *F. pseudocircinatum*, *F.*

446 *arcuatissporum* e *F. hainanense* causando podridão em frutos de pimenta malagueta. Sendo
447 assim, os resultados obtidos neste trabalho poderão ajudar na compreensão da diversidade de
448 espécies de *Fusarium* em áreas de cultivo de pimenta malagueta, contribuindo para o
449 desenvolvimento de estratégias adequadas de manejo da doença.

450 **5 REFERÊNCIAS**

- 451 ALBERTO, R. T.; OTANES, A. T. Morphological and molecular identification and fungicide
452 sensitivity assay of pathogens attacking guyabano (*Annona muricata*) in Philippines. **Plant**
453 **Pathology & Quarantine**, v. 6, n. 1, p. 60-79, 2016. DOI: 10.5943/ppq/6/1/9.
- 454 ALVES, A. N.; DAMASCENO, K. A.; RIBEIRO, L. M. P.; CUNHA, M. F.; GONÇALVES,
455 R. M. S.; GONÇALVES, C. A. A. Antepasto de pimenta biquinho. **Boletim Técnico IFTM**.
456 Uberaba, n. 2, p. 06-09, 2016.
- 457 ANJOS, G. L.; MOREIRA, G. C.; CARNEIRO, C. N.; DIAS, F. S.; Effect of phytohormones
458 on the composition of phenolic compounds in chili peppers (*Capsicum frutescens*) and
459 exploratory analysis. **Scientia Horticulturae**, v. 292, 2022. DOI:
460 10.1016/j.scienta.2021.110660.
- 461 ARAÚJO, M. B. M.; MOREIRA, G. M.; NASCIMENTO, L. V.; NOGUEIRA, G. A.;
462 NASCIMENTO, S. R. C.; PFENNING, L. H.; AMBRÓSIO, M. M. Q. Fusarium rot of melon
463 is caused by several *Fusarium* species. **Plant Pathology**, v. 70, p. 712 -721, 2021. DOI:
464 10.1111/ppa.13328.
- 465 CAROLLO, E. M.; SANTOS FILHO, H. P. **Manual básico de técnicas fitopatológicas**.
466 Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016. 109 p.
467
- 468 CASTELLANI, A. The viability of some pathogenic fungi in sterile distilled water. **Journal**
469 **of Tropical Medicine and Hygiene**, 1939, v. 42, p. 225-226.
- 470 DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; MICHEREFF, S. J.; NASCIMENTO, L. C.;
471 GURGEL, L. M. S.; PESSOA, W. R. L. S. **Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e**
472 **laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife**. Fitopatologia Brasileira,
473 vol. 28. p. 528-533, 2003.
- 474 DEAN, R.; VAN KAN, J.A.L.; PRETORIUS, Z.A.; HAMMOND-KOSACK, K.E.; DI
475 PIETRO, A.; PIETRO, D.S.; RUDD, J.J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.;
476 FOSTER, G.D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant**
477 **Pathology**, Oxford, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.
- 478 EDGAR, R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high
479 throughput. **Nucleic acids research**. v.32, n.5. p.1792-1797, 2004. DOI: 10.1093/nar/gkh340.
- 480 ELLIOTT, M. L. Standardizing pathogenicity assays for Fusarium wilt pathogens of
481 ornamental palms. **Plant Disease**. v. 102, n. 8, p. 1541-1548, 2018. DOI: 10.1094/PDIS-10-
482 17-1525-RE.
- 483 FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Faostat**. Disponível em:
484 <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>>. Acesso em: 03 fev. 2022.
- 485 FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal Databases**. United States Department of
486 Agriculture - USDA. Disponível em: <<https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>>. Acesso em:
487 12 abril 22.
- 488 FRIMPONG, G. K.; ADEKUNLE, A. A.; OGUNDIPE, O. T.; SOLANKI, M. K.;
489 SADHASIVAM, S.; SIONOV, E. Identification and toxigenic potential of fungi isolated from

- 490 *Capsicum* peppers. **Microorganisms**, v. 7, p. 1-10, 2019. DOI:
491 10.3390/microorganisms7090303.
- 492 GARCIA-LOPEZ, E.; MORA-AGUILERA, J. A.; NAVA-DIAZ, C.; VILLEGAS-MONTER,
493 A.; TOVAR-PEDRAZA, J. M.; SERRA, C.; BATISTA-MARTE, C. M. First report of
494 *Fusarium pseudocircinatum* causing mango malformation disease in Dominican Republic.
495 **Plant Disease**, v. 100, n. 7, p. 1501, 2016. DOI: 10.1094/PDIS-12-15-1397-PDN.
- 496 GOVERNO DO ESTADO DE PERNAMBUCO. Base de dados do Estado. **Relação dos**
497 **municípios, por região de desenvolvimento**. Disponível em:
498 <[http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?CodInformacao=](http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?CodInformacao=798&Cod=1)
499 [798&Cod=1](http://www.bde.pe.gov.br/visualizacao/Visualizacao_formato2.aspx?CodInformacao=798&Cod=1)>. Acesso em: 21 mar. 2022.
- 500 JEDIDI, I.; JURADO, M.; CRUZ, A.; TRABELSI, M. M.; SAID, S.; GONZÁLEZ-JAÉN, M.
501 T. Phylogenetic analysis and growth profiles of *Fusarium incarnatum-equiseti* species
502 complex strains isolated from Tunisian cereals. **International Journal of Food**
503 **Microbiology**. v. 353, p. 1-10, 2021. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109297.
- 504 KAMRAN, M.; ULLAH, I.; UL HAQ, M. E.; IQBAL, M.; ABBAS, H.; NAZIR, S.; ALI, S.;
505 KHAN, Q. A. T.; IDREES, M. First report of *Fusarium sulawesiensis* (FIESC-16) associated
506 with stem rot of sesame in Pakistan. **Plant Disease**, v. 104, n. 5, p. 1554, 2020. DOI:
507 10.1094/PDIS-11-19-2330-PDN.
- 508 KUMAR S, STECHER G, TAMURA, K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis
509 version 7.0 for bigger datasets. **Molecular biology and evolution**, v. 33 p. 1870-1874, 2016.
510 DOI: 10.1093/molbev/msw054.
- 511 LAZREG, F.; BELABID, L.; SANCHEZ, J.; GALLEGO, E.; GARRIDO-CARDENAS, J.
512 A.; ELHAITOU, A. First report of *Fusarium chlamydosporum* causing damping-off disease
513 on Aleppo pine in Algeria. **Plant Disease**. v. 97, n. 11, p. 1506, 2013. DOI: 10.1094/PDIS-
514 02-13-0208-PDN.
- 515 LIMA, E. N.; OSTER, A. H.; BORDALLO, P. N.; ARAÚJO, A. A. C.; SILVA, D. E. M.;
516 LIMA, C. S. A novel lineage in the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex is one of
517 the causal agents of fusarium rot on melon fruits in Northeast Brazil. **Plant Pathology**, v. 70,
518 p. 133–143, 2021. DOI: 10.1111/ppa.13271.
- 519 LIMA, M. F.; CARVALHO, S. I. C.; RAGASSI, C. F.; BIANCHETTI, L. B.; FALEIRO, F.
520 G.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Characterization of a pepper collection (*Capsicum frutescens*
521 L.) from Brazil. **Genetics and Molecular Research**. v. 16, n. 3, p. 1-18, 2017. DOI:
522 10.4238/gmr16039704.
- 523 LIU, Y.; TANG, J.; ZHOU, Y. Identification and description of a new pathogen causing
524 flower dry rot on *Passiflora edulis* in China. **Plant Disease**. v. 105, n. 7, p. 1967-1975, 2021.
525 DOI: 10.1094/PDIS-10-20-2130-RE.
- 526 LOMBARD, L.; SANDOVAL-DENIS, M.; CAI, L.; CROUS, P. W. Changing the game:
527 resolving systematic issues in key *Fusarium* species complexes. **Persoonia**. v. 43, 2019. DOI:
528 10.3767/persoonia.2019.43.00.
- 529 MARYANI, N.; SANDOVAL-DENIS, M.; LOMBARD, L.; CROUS, P. W.; KEMA, G. H. J.
530 New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing

- 531 Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. **Persoonia**, v. 43, p. 48 – 69,
532 2019. DOI: 10.3767/persoonia.2019.43.02.
- 533 MATIC, S.; TABONE, G.; GUARNACCIA, V.; GULLINO, M. L.; GARIBALDI, A.
534 Emerging leafy vegetable crop diseases caused by the *Fusarium incarnatum-equiseti* species
535 complex. **Phytopathologia Mediterranea**. v. 59, n. 2, p. 303-317, 2020. DOI:
536 10.14601/Phyto-10883.
- 537 MELLO, S. C. M.; REIS, A.; SILVA, J. B. T. **Manual de curadores de germoplasma –**
538 **Micro-organismos: fungos filamentosos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e
539 Biotecnologia, 2011. 25 p.
- 540 MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES science gateway for
541 inference of large phylogenetic trees. **Proceedings of the Gateway Computing**
542 **Environments Workshop (GCE)**, p. 1-8, 2010. DOI: 10.1109/GCE.2010.5676129.
- 543 O'DONNELL, K.; SUTTON, D.A.; FOTHERGILL, A.; MCCARTHY, D.; RINALDI, M.G.;
544 BRANDT, M.E.; ZHANG, N.; GEISER, D.M. Molecular phylogenetic diversity, multilocus
545 haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species
546 complex. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46. p. 2477-2490, 2008. DOI:
547 10.1128/JCM.02371-07.
- 548 OLIVEIRA, D. S.; SILVA, L. P.; MAROSTEGA, T. N.; JESUS, J. G.; PREISIGKE, S. C.;
549 GILIO, T. A. S.; ARAÚJO, K. L.; NEVES, L. G. Taxa de pegamento de frutos em
550 cruzamentos intraespecíficos de *capsicum frutescens*. **Brazilian Journal of Development**,
551 Curitiba, v. 7, n. 2, p. 15727-15735, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n2-273.
- 552 PERERA, R. H.; HYDE, K. D.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; JONES, E. B. G.;
553 MCKENZIE, E. H. C.; STADLER, M.; LEE, H. B.; SAMARAKOON, M. C.;
554 EKANAYAKA, A. H.; CAMPORESI, E.; LIU, J. K.; LIU, Z. Y. Fungi on wild seeds and
555 fruits. **Mycosphere**. v. 11, n. 1, p. 2108–2480, 2020. DOI: 10.5943/mycosphere/11/1/14.
- 556 POSADA, D.; CRANDALL, K. MODELTEST: Testing the Model of DNA Substitution.
557 **Bioinformatics**. v.14.p. 817-818,1998. DOI: 10.1093/bioinformatics/14.9.817.
- 558 PRAMUNADIPTA, S.; WIDIASTUTI, A.; WIBOWO, A.; SUGA, H.; PRIYATMOJO, A.
559 Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with the sheath rot disease of
560 rice (*Oryza sativa*) in Indonesia. **Journal of Plant Pathology**, v. 104, n. 1, p. 251-267, 2022.
561 DOI: 10.1007/s42161-021-00988-x.
- 562 RAMBAUT, A. **FigTree 1.4.4**. 2018. Disponível em:
563 <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>. Acesso em 15 mar. 2022.
- 564 RANNALLA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new
565 method of phylogenetic inference. **Journal of Molecular Evolution**, v 43. p. 304 -311, 1996.
566 DOI: 10.1007/BF02338839.
- 567 RIBEIRO, C. S. C.; LOPES, C. A.; CARVALHO, S. I. C.; HENZ, G. P.; REIFSCHNEIDER,
568 F. J. B. **Pimentas Capsicum**. 1. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2008. 200 p.
- 569 RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D.L.; ARLING, A.;
570 HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M.A.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3.2:

- 571 Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space,
572 **Systematic Biology**, v. 61, n. 3, p. 539–542, 2012. DOI: 10.1093/sysbio/sys029.
- 573 SANTILLÁN-MENDOZA, R.; MONTOYA-MARTÍNEZ, A. C.; PINEDA-VACA, D.;
574 FERNÁNDEZ-PAVÍA, S. P.; MONTERO-CASTRO, J. C.; BENÍTEZ-MALVIDO, J.;
575 ORTEGA-ARREOLA, R.; RODRÍGUEZ-ALVARADO, G. Genetic diversity of *Fusarium*
576 *pseudocircinatum* in the central western region of Mexico: the case of big-leaf mahogany
577 malformation disease. **Molecular Biology Reports**. v. 47, p. 6599–6609, 2020. DOI:
578 10.1007/s11033-020-05711-0.
- 579 SANTOS, A. C. D. S.; TRINDADE, J. V. C.; LIMA, C. S.; BARBOSA, R. D. N.; COSTA,
580 A. F.; TIAGO, P. V.; OLIVEIRA, N. T. Morphology, phylogeny, and sexual stage of
581 *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium*
582 *incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. **Mycologia**, v. 111, n.
583 2, p. 244-259, 2019. DOI: 10.1080/00275514.2019.1573047.
- 584 SUMMERELL, B. A. Resolving *Fusarium*: current status of the genus. **Annual Review of**
585 **Phytopathology**. v. 57, p. 323–339, 2019. DOI: 10.1146/annurevphyto-082718-100204.
- 586 WANG, M. M.; CHEN, Q.; DIAO, Y. Z.; DUAN, W. J.; CAI, L. *Fusarium incarnatum-*
587 *equiseti* complex from China. **Persoonia**. v. 43, p. 70-89, 2019. DOI:
588 10.3767/persoonia.2019.43.03.
- 589 WONGLOM, P.; SUNPAPAO, A. *Fusarium incarnatum* is associated with postharvest fruit
590 rot of muskmelon (*Cucumis melo*). **Journal of Phytopathology**. p. 1–7, 2020. DOI:
591 10.1111/jph.12882.
- 592 XIA, J. W.; SANDOVAL-DENIS, M.; CROUS, P. W.; ZHANG, X. G.; LOMBARD, L.
593 Numbers to names – restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. **Persoonia**,
594 v. 43, p. 186–221, 2019. DOI: 10.3767/persoonia.2019.43.05.
- 595 ZHANG, X.; XIA, J.; LIU, J.; ZHAO, D.; KONG, L.; ZHU, X. First report of *Fusarium*
596 *pernambucanum* causing fruit rot of muskmelon in China. **Plant Disease**. 2021.
- 597 ZHONG, Y.; CHENG, Y.; RUAN, M.; YE, Q.; WANG, R.; YAO, Z.; ZHOU, G.; LIU, J.;
598 YU, J.; WAN, H. High-throughput ssr marker development and the analysis of genetic
599 diversity in *Capsicum frutescens*. **Horticulturae**, v. 7, 2021.

6 APÊNDICE

Tabela 1 Relação dos isolados obtidos neste estudo.

Isolado	Local de origem
LPPC31	Primavera - PE
LPPC32	Primavera - PE
LPPC33	Primavera - PE
LPPC34	Primavera - PE
LPPC35	Primavera - PE
LPPC36	Primavera - PE
LPPC37	Primavera - PE
LPPC38	Primavera - PE
LPPC39	Primavera - PE
LPPC40	Primavera - PE
LPPC41	Primavera - PE
LPPC42	Primavera - PE
LPPC43	Primavera - PE
LPPC44	Primavera - PE
LPPC45	Chã Grande - PE
LPPC46	Chã Grande - PE
LPPC47	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC48	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC49	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC50	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC51	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC52	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC53	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC54	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC28	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC29	Vitória de Santo Antão - PE
LPPC30	Vitória de Santo Antão - PE

Tabela 2 Relação dos isolados e número de acesso no GenBank das sequências utilizadas como referência neste estudo.

Complexo de espécies	Espécie	Código do isolado	Código de acesso no GenBank	
			TEF-1 α	RPB2
<i>Fusarium buharicum</i> (FBSC)	<i>F. buharicum</i>	CBS 178.35 T = NRRL 25488	KX302912	KX302928
	<i>F. convolutans</i>	CBS 144207 T	LT996094	LT996141
	<i>F. sublunatum</i>	CBS 189.34 T	KX302919	JX171565
<i>Fusarium lateritium</i> (FLSC)	<i>F. cassiae</i>	PH-CAS 05 T	MT212205	MT212197
		LC13727	MW594307	MW474540
	<i>F. lateritium</i>	YZU 181385	MW855822	MW855850
		NRRL 25197	HM347114	HM347207
	<i>F. magnoliae-champaca</i>	MFLUCC 18-0580 T		MT212198
	<i>F. massalimae</i>	A12 = URM 8239 T	MN939763	MN939767
	<i>F. sarcochroum</i>	CBS 745.79 T = NRRL 20472	MW834278	JX171586
		CPC 28118	LT746213	LT746326
	<i>F. stilboides</i>	CBS 746.79 T	MW928843	MW928832
<i>Fusarium torreyae</i> (FtorSC)		HA-1	MT509358	MT526788
	<i>F. torreyae</i>	CBS 133858 T = NRRL 54151	HM068339	MW928834
	<i>F. continuum</i>	CBS 140841 T = F201030	KM236722	KM236782
	<i>F. zanthoxyli</i>	CBS 140838 T = F201311	KM236703	KM236763
<i>Fusarium heterosporum</i> (FHSC)	<i>F. heterosporum</i>	CBS 391.68 T	MW928839	MW928827
<i>Fusarium tricinctum</i> (FTSC)	<i>F. tricinctum</i>	CBS 393.93 T = NRRL 25481	AB674263	JX171629
	<i>F. avenaceum</i>	CBS 408.86 T	MW928836	MG282401
<i>Fusarium citricola</i> (FCCSC)	<i>F. citricola</i>	CBS 142421 T	LT746197	LT746310
	<i>F. salinense</i>	CBS 142420 T	LT746193	LT746306
	<i>F. aconidiale</i>	CBS 147772 T	MZ078246	MZ078218
<i>Fusarium camptoceras</i> (FCAMSC)	<i>F. camptoceras</i>	CBS 193.65 T	MN170450	MN170383
	<i>F. kotabaruense</i>	InaCC F963 T	LS479445	LS479859
	<i>F. neosemitectum</i>	CBS 189.60 T	MN170489	MN170422
<i>Fusarium incarnatum-equiseti</i> (FIESC)	<i>F. aberrans</i>	CBS 131385 T	MN170445	MN170378
		CBS 131388	MN170447	MN170380
	<i>F. arcuatissporum</i>	LC12147 T	MK289584	MK289739

	LC6026	MK289585	MK289770
<i>F. brevicaudatum</i>	NRRL 43638 T	GQ505665	GQ505843
	NRRL 45998	GQ505673	GQ505851
<i>F. bubalinum</i>	CBS 161.25 T	MN170448	MN170381
<i>F. caatingaense</i>	CBS 976.97	MN170449	MN170382
	NRRL 34003	GQ505627	GQ505805
<i>F. cateniforme</i>	CBS 150.25 T	MN170451	MN170384
<i>F. citri</i>	LC7922	MK289634	MK289788
	CGMCC 3.19467 T = LC6896	MK289617	MK289771
<i>F. clavum</i>	CBS 126202 T	MN170456	MN170389
	NL19-056013	MZ921830	MZ921698
<i>F. coffeatum</i>	CBS 635.76 T	MN120755	MN120736
	CBS 430.81	MN120756	MN120737
<i>F. compactum</i>	CBS 186.31 T = NRRL 36323	GQ505648	GQ505826
	NRRL 36318	GQ505646	GQ505824
<i>F. croceum</i>	CBS 131777 T	MN170463	MN170396
	NL19-060011	MZ921832	MZ921700
<i>F. duofalcatisporum</i>	NRRL 36448 T	GQ505652	GQ505830
	NRRL 36401	GQ505651	GQ505829
<i>F. equiseti</i>	NRRL 20697	GQ505594	GQ505772
	CBS 307.94 T = NRRL 26419	GQ505599	GQ505777
<i>F. fasciculatum</i>	CBS 131382 T	MN170473	MN170406
	CBS 131384	MN170475	MN170408
<i>F. flagelliforme</i>	NRRL 36269 T	GQ505645	GQ505823
	NL19-97010	MZ921844	MZ921712
<i>F. gracilipes</i>	CBS 130384 T = NRRL 43635	GQ505662	GQ505840
<i>F. guilinense</i>	NRRL 13335	GQ505590	GQ505768
	LC12160 T	MK289594	MK289747
<i>F. hainanense</i>	CBS 131386	MN170510	MN170443
	LC11638 T	MK289581	MK289735
<i>F. humuli</i>	LC4490	MK289614	MK289767
	CQ1039 T	MK289570	MK289724

<i>F. incarnatum</i>	CBS 132.73 T	MN170476	MN170409
	NRRL 32867	GQ505616	GQ505794
<i>F. ipomoeae</i>	CBS 140909	MN170479	MN170412
	LC12165 T	MK289599	MK289752
<i>F. irregulare</i>	CBS 132190	MN170480	MN170413
	LC7188 T	MK289629	MK289783
<i>F. lacertarum</i>	NRRL 20423 T	GQ505593	GQ505771
	NRRL 36123	GQ505643	GQ505821
<i>F. longicaudatum</i>	CBS 123.73 T	MN170481	MN170414
<i>F. longifundum</i>	NRRL 36372 T	GQ505649	GQ505827
<i>F. luffae</i>	CBS 131097	MN170482	MN170415
	LC12167 T	MK289601	MK289754
<i>F. monophialidicum</i>	NRRL 54973 T	MN170483	MN170416
<i>F. mucidum</i>	CBS 102395 T	MN170485	MN170418
	CBS 102394	MN170484	MN170417
<i>F. multiceps</i>	NRRL 43639 T	GQ505666	GQ505844
<i>F. nanum</i>	CBS 119867	MN170486	MN170419
	LC12168 T	MK289602	MK289755
<i>F. neoscirpi</i>	CBS 610.95 T	GQ505601	GQ505779
<i>F. pernambucanum</i>	CBS 791.70	MN170491	MN170424
	URM 7559 T	LS398489	LS398519
<i>F. persicinum</i>	CBS 479.83 T	MN170495	MN170428
	CBS 132821	MN170497	MN170430
<i>F. scirpi</i>	CBS 447.84 T = NRRL 36478	GQ505654	GQ505832
	CBS 448.84	MN170498	MN170431
<i>F. serpentinum</i>	CBS 119880 T	MN170499	MN170432
<i>F. sulawesiense</i>	CBS 131.73	MN170500	MN170433
	CBS 122439	MN170504	MN170437
<i>F. tanahbumbuense</i>	CBS 145.44	MN170505	MN170438
	CBS 131009	MN170506	MN170439
<i>F. toxicum</i>	CBS 406.86 T	MN170508	MN170441
	NL19-050001	MZ921847	MZ921715

	<i>F. wereldwijnianum</i>	NL19-94009 T	MZ921850	MZ921718
		NL19-059003	MZ921852	MZ921720
<i>Fusarium aywerte</i> (FASC)	<i>F. tjaynera</i>	NRRL 66246 T = RBG 5367	KP083266	KP083279
<i>Fusarium chlamydosporum</i> (FCSC)	<i>F. atrovinosum</i>	CBS 445.67 T	MN120752	MW928822
		CBS 130394	MN120753	MN120734
		NRRL 34016	GQ505411	GQ505475
	<i>F. chlamydosporum</i>	CBS 145.25 T	MN120754	MN120735
	<i>F. humicola</i>	CBS 124.73 T	MN120757	MN120738
	<i>F. microconidium</i>	CBS 119843 T	MN120759	
	<i>F. nelsonii</i>	NRRL 28505	GQ505404	GQ505468
		CBS 119877	MN120761	MN120741
		CBS 119876 T	MN120760	MN120740
	<i>F. peruvianum</i>	CBS 511.75 T	MN120767	MN120746
	<i>F. spinosum</i>	CBS 122438 T	MN120768	MN120747
		NRRL 43631	GQ505427	GQ505491
	<i>F. sporodochiale</i>	CBS 220.61 T	MN120770	MN120749
		CBS 199.63	MN120769	MN120748
<i>Fusarium sambucinum</i> (FSAMSC)	<i>F. longipes</i>	CBS 476.77 T = NRRL 20695	GQ915509	GQ915493
	<i>F. musarum</i>	NRRL 28507 T	MW233094	MW928829
	<i>F. graminearum</i>	CBS 136009 T	MW928838	MW928826
<i>Fusarium concolor</i> (FCOSC)	<i>F. concolor</i>	CBS 183.34 T = NRRL 13994	MH742650	MH742569
	<i>F. austroafricanum</i>	NRRL 66741 T	MH742687	MH742616
<i>Fusarium burgessii</i> (FburSC)	<i>F. beomiforme</i>	CBS 100160 T = NRRL 13606	MF120507	MF120496
	<i>F. algeriense</i>	CBS 142638 T = NRRL 66647	MF120510	MF120499
	<i>F. burgessii</i>	CBS 125537 T = RBG 5315	HQ667148	HQ646393
<i>Fusarium redolens</i> (FRSC)	<i>F. spartum</i>	NRRL 66896 T	MT409459	MT409449
	<i>F. hostae</i>	NRRL 29889 T	AY329034	JX171640
	<i>F. redolens</i>	CBS 248.61 T = NRRL 25600	MT409453	MT409443
<i>Fusarium oxysporum</i> (FOSC)	<i>F. oxysporum</i>	CBS 144134 T	MH485044	MH484953
	<i>F. glycines</i>	CBS 144746 T = CPC 25808	MH485033	MH484942
	<i>F. fabacearum</i>	CBS 144743 T = CPC 25802	MH485030	MH484939
<i>Fusarium nisikadoi</i> (FNSC)	<i>F. nisikadoi</i>	CBS 456.97 T = NRRL 25308	KR909358	MG282421

	<i>F. commune</i>	CBS 110090 T = NRRL 31076	AF362263	MW934368
	<i>F. miscanthi</i>	CBS 577.97 T = NRRL 26231	MN193878	JX171634
<i>Fusarium fujikuroi</i> (FFSC)	<i>F. mangiferae</i>	CBS 120994 T	MN534017	MN534271
	<i>F. ananatum</i>	CBS 118516 T	MT010996	MT010966
	<i>F. fujikuroi</i>	CBS 221.76 T	AB725605	KU604255
<i>Fusarium newnessense</i> (FnewSC)	<i>F. newnessense</i>	NRRL 66241 T	KP083261	KP083277
Indefinido	<i>F. diversisporum</i>	BBA 11129	MZ921930	MZ921801
	<i>F. nurragi</i>	CBS 393.96 T	MW928840	MW928830
Outgroup	<i>Nectria cinnabarina</i>	CBS 125165	HM484527	KM232402

Tabela 3 Características morfológicas dos isolados de *Fusarium* obtidos de frutos de pimentas malaguetas com sintomas de podridão seca.

Isolado	Espécie	Macroconídios			Microconídios			Clamidósporos
		Comprimento (µm)	Largura (µm)	Septos	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Septos	
LPPC31	<i>F. cassiae</i>	20,0 (26,2) 32,5	5,0 (5,0) 5,0	2 – 3	7,5 (11,2) 15,0	2,5 (4,9) 5,0	0 – 1	Ausentes
LPPC32	<i>F. pernambucanum</i>	20,0 (26,8) 37,5	2,5 (4,8) 5,0	3 – 4	-	-	-	Ausentes
LPPC44	<i>F. citri</i>	20,0 (25,1) 35,0	3,8 (4,7) 5,0	2 – 4	5,0 (12,8) 17,5	2,5 (2,6) 3,8	0 – 1	Presentes
LPPC45	<i>F. caatingaense</i>	20,0 (24,3) 32,5	3,8 (4,9) 5,0	1 – 3	7,5 (12,8) 15,0	2,5 (3,8) 5,0	0 – 1	Presentes
LPPC47	<i>F. chlamydosporum</i>	-	-	-	7,5 (8,8) 12,5	2,5 (4,4) 5,0	0	Presentes
LPPC51	<i>F. pseudocircinatum</i>	27,5 (48,8) 67,5	3,8 (4,8) 5,0	3 – 6	7,5 (9,8) 12,5	2,5 (2,8) 5,0	0	Ausentes
LPPC52	<i>F. arcuatisporum</i>	17,5 (25,0) 37,5	3,8 (4,2) 5,0	2 – 4	5,0 (9,2) 12,5	2,5 (2,6) 3,8	0 – 1	Presentes
LPPC53	<i>F. hainanense</i>	30,0 (38,2) 57,5	3,8 (4,5) 5,0	2 – 5	-	-	-	Ausentes
LPPC54	<i>F. sulawesiense</i>	20,0 (26,1) 32,5	3,8 (3,9) 5,0	3 – 5	7,5 (11,2) 15,0	2,5 (3,0) 5,0	0 – 1	Ausentes

Tabela 4 Médias das lesões em frutos de pimenta malagueta após sete dias de inoculação.

Isolado	Média (mm)
LPPC42	21,96 A
LPPC35	20,29 A
LPPC37	18,73 A
LPPC32	17,09 A
LPPC33	15,79 B
LPPC41	15,55 B
LPPC36	15,32 B
LPPC34	14,01 B
LPPC50	13,65 B
LPPC54	13,42 B
LPPC44	13,32 B
LPPC39	13,02 B
LPPC43	12,32 B
LPPC48	11,35 C
LPPC31	10,84 C
LPPC47	10,72 C
LPPC38	10,56 C
LPPC53	9,89 C
LPPC45	9,58 C
LPPC40	9,16 C
LPPC51	8,79 C
LPPC46	7,59 C
LPPC52	5,55 D
LPPC49	0,00 E
Testemunha	0,00 E
CV (%)	26,92

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

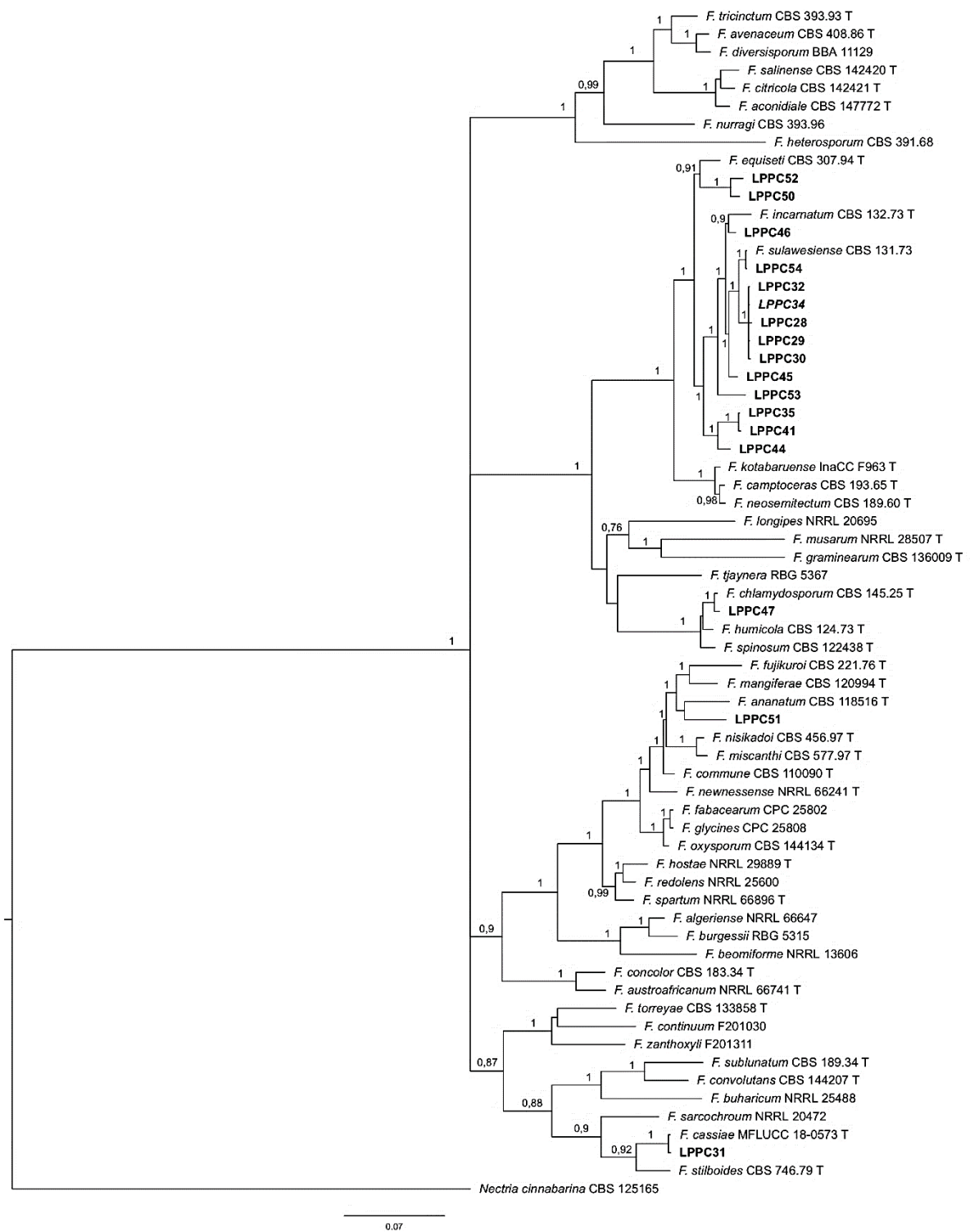


Figura 1 Árvore gerada por Inferência Bayesiana com representantes dos complexos de espécies de *Fusarium* utilizando seqüências das regiões TEF1 e RPB2. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito. Os valores de probabilidade posterior encontram-se nos nós. *Nectria cinnabarina* foi utilizado como outgroup.

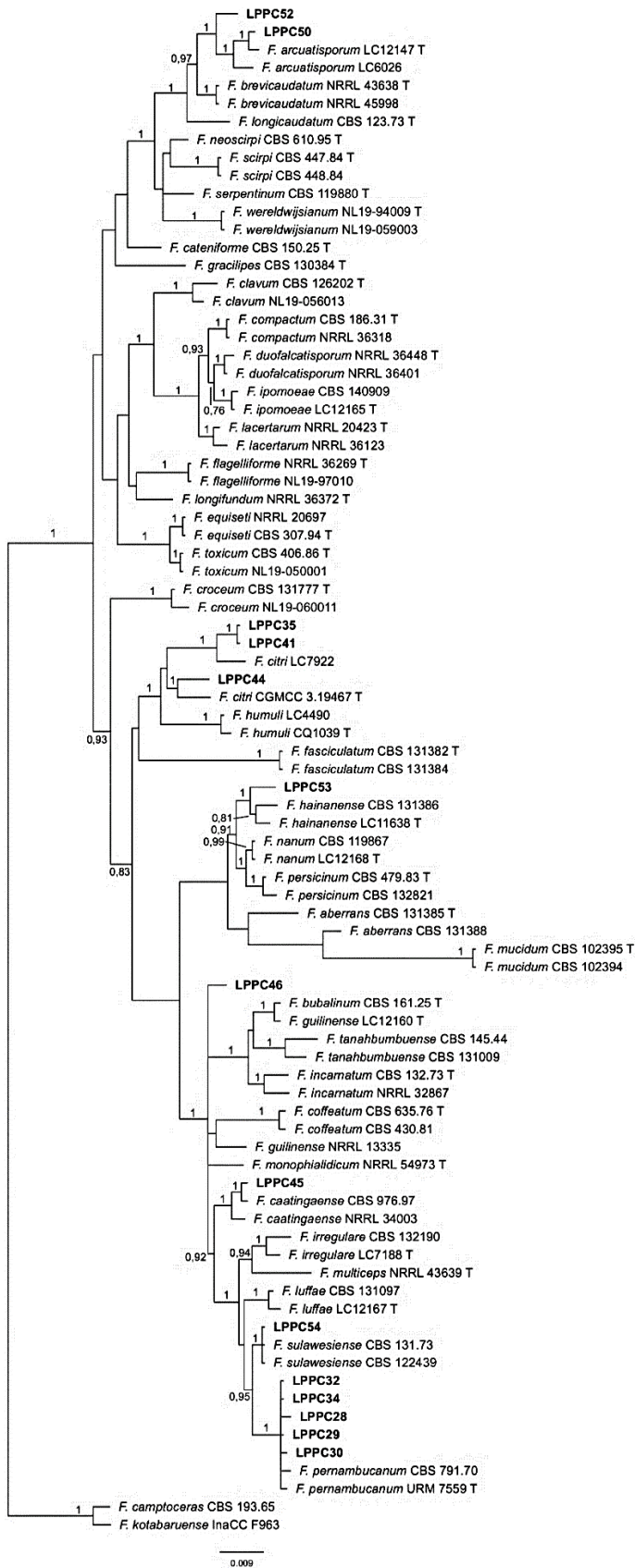


Figura 2 Árvore gerada por Inferência Bayesiana com as espécies pertencentes ao complexo de espécies *Fusarium incarnatum-equiseti* utilizando sequências das regiões TEF1 e RPB2. Os isolados obtidos neste estudo estão destacados em negrito. Os valores de probabilidade posterior encontram-se nos nós. *F. camptoceras* e *F. kotabaruense* foram utilizados como outgroup.

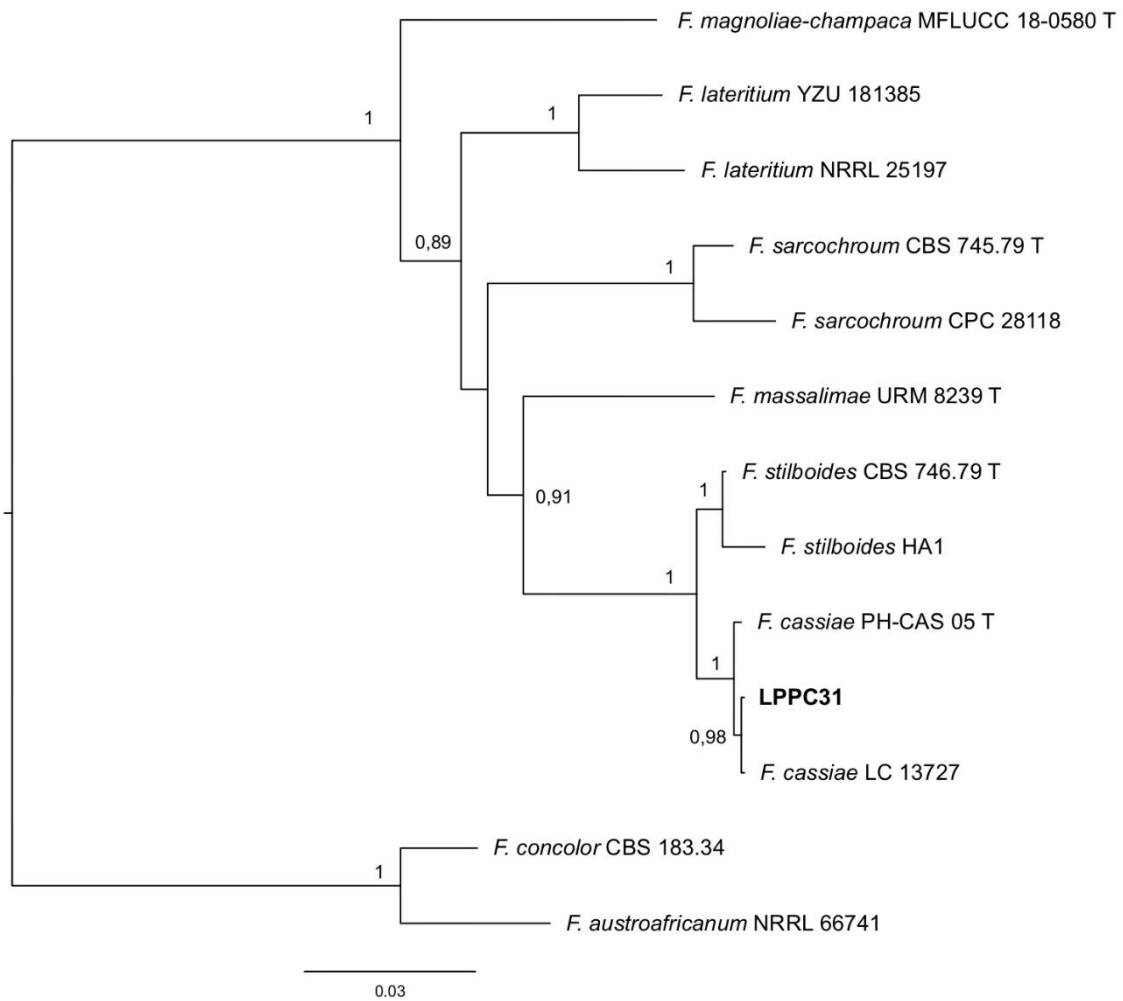


Figura 3 Árvore gerada por Inferência Bayesiana com as espécies pertencentes ao complexo de espécies *Fusarium lateritium* utilizando sequências das regiões TEF1 e RPB2. O isolado obtido neste estudo está destacado em negrito. Os valores de probabilidade posterior encontram-se nos nós. *F. concolor* e *F. austroafricanum* foram utilizados como outgroup.

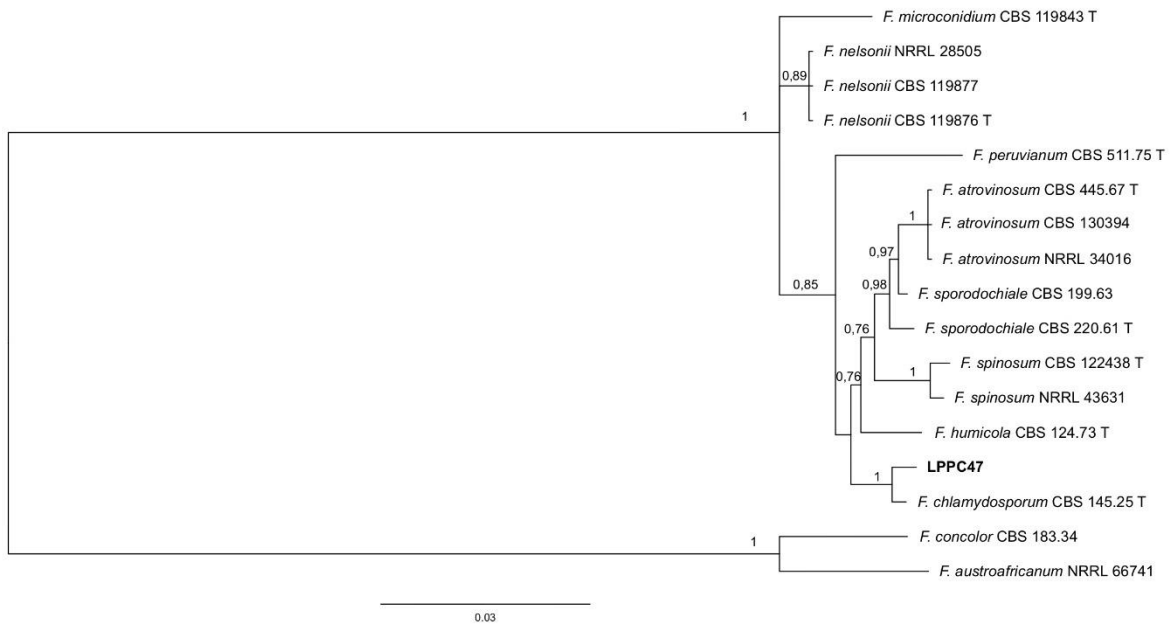


Figura 4 Árvore gerada por Inferência Bayesiana com as espécies pertencentes ao complexo de espécies *Fusarium chlamydosporum* utilizando sequências das regiões TEF1 e RPB2. O isolado obtido neste estudo está destacado em negrito. Os valores de probabilidade posterior encontram-se nos nós. *F. concolor* e *F. austroafricanum* foram utilizados como outgroup.

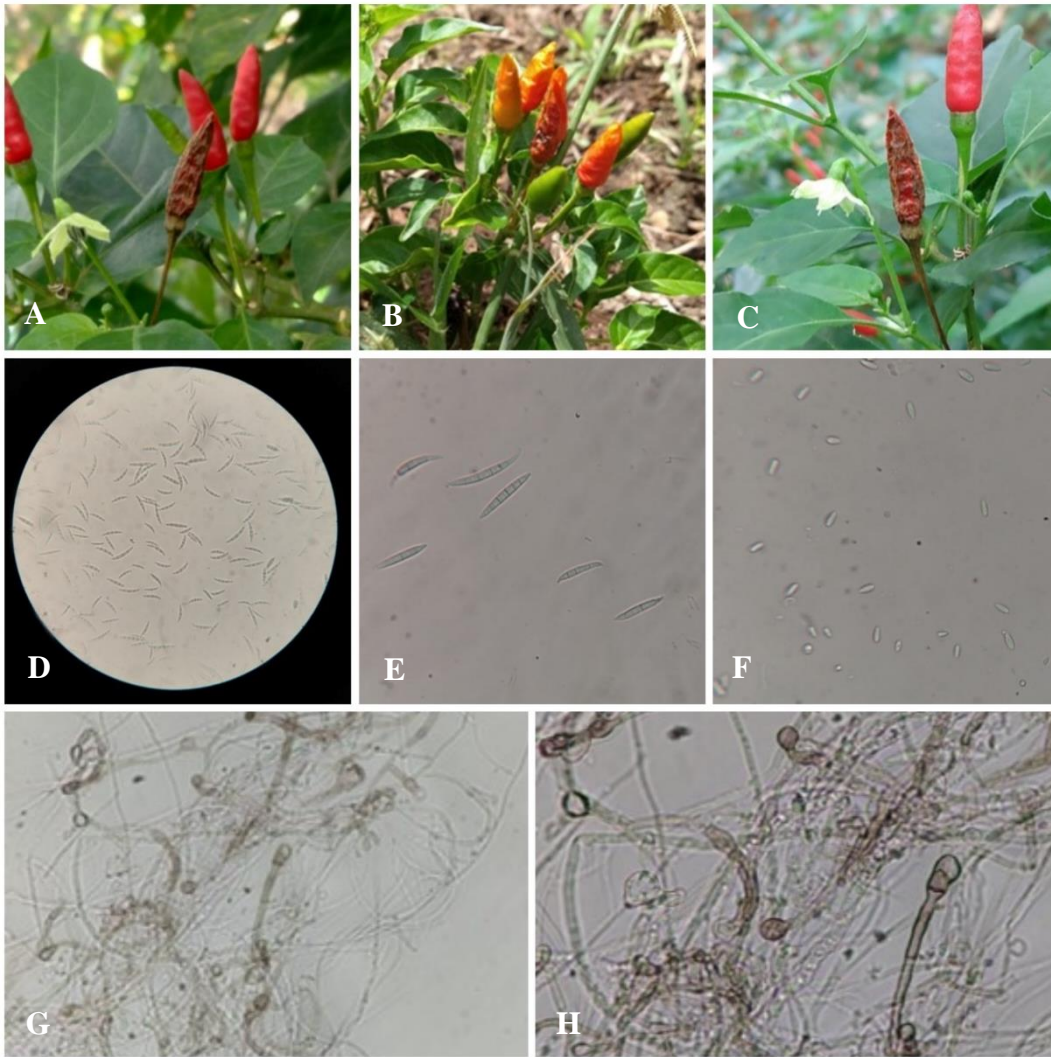


Figura 5 A-B-C: pimentas no campo com sintomas de podridão seca; D-E: macroconídios; F: microconídios; G-H: clamidósporos.

CAPÍTULO III

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

1. Existe uma grande diversidade de espécies de *Fusarium* causando podridão em frutos de pimenta malagueta em Pernambuco;
2. As espécies *Fusarium pernambucanum*, *F. caatingaense*, *F. sulawesiense*, *F. hainanense*, *F. citri*, *F. arcuatisporum*, *F. cassiae*, *F. chlamydosporum* e *F. pseudocircinatum* estão causando podridão em frutos de pimenta malagueta em Pernambuco;
3. Este o primeiro relato no mundo associando espécies de *Fusarium pernambucanum*, *F. caatingaense*, *F. hainanense*, *F. arcuatisporum*, *F. cassiae*, *F. chlamydosporum* e *F. pseudocircinatum* à podridão em frutos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*);
4. Este é o primeiro relato no Brasil associando espécies de *F. sulawesiense* e *F. citri* à podridão em frutos de pimenta malagueta (*C. frutescens*).