



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



JOSÉ DANIEL VIANA NETO

**ESPÉCIES DE *Neopetalotiopsis* ASSOCIADAS A MANCHA MARROM DA PALMA
MIÚDA.**

**RIO LARGO
ESTADO DE ALAGOAS
2021**

JOSÉ DANIEL VIANA NETO

**ESPÉCIES DE *Neopestalotiopsis* ASSOCIADAS A MANCHA MARROM DA PALMA
MIÚDA.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Campus de Engen-
harias e Ciências Agrárias como
parte dos requisitos para obtenção
do título de Engenheiro
Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Gaus
Silvestre de Andrade Lima

**RIO LARGO
ESTADO DE ALAGOAS**

2021

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

V614e Viana Neto, José Daniel
Espécies de neopestalotiopsis associadas a mancha marrom da palma
miúda. / José Daniel Viana Neto – 2021.
39 f.; il.

Monografia de Graduação em Agronomia (Trabalho de Conclusão de
Curso) – Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e
Ciências Agrárias. Rio Largo, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima

Inclui bibliografia

1. Napolea cochenilífera. 2. Doença da Palma. 3. Complexo pestalotiod.
I. Título.

CDU 636.085

FOLHA DE APROVAÇÃO

JOSÉ DANIEL VIANA NETO

ESPÉCIES DE *Neopetalotiopsis* ASSOCIADAS À MANCHA-MARROM DA PALMA MIÚDA

Monografia apresentada ao curso de agronomia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em agronomia.

Aprovado em: 02/10/2021

Banca Examinadora:

Gaus Silvestre de Andrade Lima

Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima - Universidade Federal de Alagoas
(Orientador)

NAYANA BRUSCHI INFANTE

Dra. Nayana Bruschi Infante

Antônio Duarte do Nascimento
Dr. Antônio Duarte do Nascimento – EMATER/AL

Ao Senhor Jesus, meu Senhor e Salvador, pois sem Ele não conseguiria (João 15.5c). A minha família, que foi e sempre será o apoio e refúgio em todos os momentos. E a todos que me auxiliaram nesse percurso rumo a conquista acadêmica e profissional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Deus único e verdadeiro, a ele seja dada toda Glória e Louvor.

Ao Campus de Engenharias e Ciências Agrárias e todos os seus funcionários.

A Universidade Federal de Alagoas, pela oportunidade de fazer o curso.

Ao Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima pela paciência, orientação, pela atenção e por acreditar em mim.

Dr. Frederico Monteiro Feijó pela paciência e parceria nos trabalhos.

À minha família que incondicionalmente me deram apoio e foram meus principais incentivadores.

Ao Laboratório de Fitopatologia Molecular, que me ajudou a desenvolver conhecimento acadêmico e pelo prazer de ter trabalhado juntamente a todos que o compõe.

Aos meus amigos e colegas de graduação, que me ajudaram nessa jornada.

RESUMO GERAL

A palma forrageira (*Nopalea cochenillifera* e *Opuntia ficus-indica*) é uma cultura de grande relevância para produção animal em muitos países. No Brasil, a região Nordeste é a maior produtora, devido as condições climáticas que confere excelente adaptabilidade a cultura. Apesar do potencial produtivo da palma forrageira, doenças como a mancha marrom podem comprometer sua produtividade e acarretar grandes prejuízos aos produtores. A mancha marrom é a doença mais importante da palma miúda no Nordeste brasileiro e muitos agentes etiológicos de origem fúngicos já foram relatados causando essa doença e dentre estes, *Neopestalotiopsis* spp. Assim, objetivou-se com este estudo identificar e caracterizar espécies de *Neopestalotiopsis* que causam mancha marrom da palma miúda nos estados de Alagoas e Pernambuco. Cladódios apresentando sintomas de manchas marrom em sua superfície, foram coletados em municípios do estado de Alagoas e Pernambuco. No laboratório, realizou-se isolamento, obtenção de culturas monospóricas e teste de patogenicidade. Posteriormente, os isolados identificados previamente como pertencentes ao gênero *Neopestalotiopsis* foram identificados com base em análises moleculares de regiões genômicas específicas (ITS, EF1- α , TUB2) para o gênero *Neospestalotiopsis*. A caracterização morfológica foi realizada baseando-se nas estruturas reprodutivas. Três isolados patogênicos foram obtidos. Com base nas análises filogenéticas e morfológicas o presente estudo identificou duas espécies de *Neopestalotiopsis*: *N. surinamensis* e *N. saprophyta* associadas a mancha marrom da palma miúda.

Palavras-chave: *Nopalea cochenillifera*; Doenças da palma; Complexo Pestalotioid

ABSTRACT

Forage palm (*Nopalea cochenillifera* and *Opuntia ficus-indica*) is a crop of great relevance for animal production in many countries. In Brazil, the Northeast region is the largest producer, due to the climatic conditions that confer excellent adaptability to the crop. Despite the productive potential of forage palm, diseases such as brown spot can compromise its productivity and cause great damage to producers. Brown spot is the most important disease of the small palm in northeastern Brazil and many etiological agents of fungal origin have been reported causing this disease and among these, *Neopestalotiopsis* spp. Thus, the objective of this study was to identify and characterize *neopestalotiopsis* species that cause brown spot of the small palm in the states of Alagoas and Pernambuco. Clades presenting symptoms of brown spots on their surface were collected in municipalities in the state of Alagoas and Pernambuco. In the laboratory, isolation, monosporic cultures and pathogenicity test were performed. Subsequently, the isolates previously identified as belonging to the genus *Neopestalotiopsis* were identified based on molecular analyses of specific genomic regions (ITS, EF1- α , TUB2) for the genus *Neopestalotiopsis*. Morphological characterization was performed based on reproductive structures. Three pathogenic isolates were obtained. Based on phylogenetic and morphological analyses, the present study identified two species of *Neopestalotiopsis*: *N. surinamensis* and *N. saprophyta* associated with brown spot of the small palm.

Keywords: *Nopalea cochenillifera*; Diseases of the palm; Pestalotioid Complex

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	9
2- REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1- Cultura da Palma forrageira	11
2.1.2- Importância econômica	13
2.2- Mancha marrom	14
2.2.1- Complexo Pestalotioid	14
2.2.2- Aspectos filogenéticos do complexo Pestalotioid	16
2.2.3- Gênero <i>Neopestalotiopsis</i>	16
2.2.4- REFERÊNCIAS	18
3- MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1- Obtenção dos isolados	29
3.2- Sequenciamento e análise filogenética.....	29
3.3- Caracterização morfológica.....	30
4- RESULTADOS.....	31
5- DISCUSSÃO	34
6- CONCLUSÃO	36
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1- INTRODUÇÃO

A palma forrageira tem como centro de origem o México e atualmente encontra-se amplamente distribuída nas regiões áridas e semiáridas do globo terrestre (Queiroga et al. 2020). E o que facilitou sua adaptabilidade a essas regiões foi seu metabolismo fisiológico CAM, que lhe confere grande eficiência no aproveitamento de água através dos estômatos (Cavalcante et al. 2014) e além disso, constitui importante fonte de nutrientes para ruminantes de baixo custo para os produtores (Silva; Santos 2006).

No Brasil, a produção estimada de palma forrageira gira em torno 3,5 milhões de toneladas (IBGE, 2017) produzidas em aproximadamente 600.000 ha (Lopes et al. 2012), quase que exclusivamente na região Nordeste (IBGE, 2017; Victor et al. 2017). O principal uso no Brasil é como forrageira, com destaque para duas espécies, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., com as cultivares Gigante e Redonda, e *Nopalea cochenillifera*, com a cultivar Miúda (Ferreira et al. 2012; Lopes et al. 2012). Entre as espécies, *N. cochenillifera* tem sido mais utilizada nas regiões semiáridas do Nordeste por apresentar excelentes características nutricionais, digestibilidade e palatabilidade para os rebanhos de caprinos, suínos e bovinos, além de maior produção de matéria seca e elevada resistência a cochonilha-carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell) (Lopes et al. 2012).

Vários fatores podem comprometer o potencial produtivo da palma forrageira, apesar da cultura apresentar fisiologia que permite ótimo desenvolvimento em condições adversas (Teles et al. 2002), dentre estes, estão as doenças de origem fúngica, como a mancha marrom (Swart et al. 2002; Ammar et al. 2004; Souza et al. 2010; Flores-Flores et al. 2013; Conforto et al. 2016; Feijó et al. 2016; Conforto et al. 2017; Oliveira et al. 2018; Conforto et al. 2019; Feijó et al. 2019).

A mancha marrom é a principal doença da palma forrageira miúda no Nordeste brasileiro e caracteriza-se pela ocorrência de manchas inicialmente marrons e pretas nos cladódios, de forma circular ou elíptica, que com o progresso da doença pode se estender de uma face para a outra dos cladódios, provocando perfurações e posteriormente a queda do tecido infectado. As manchas podem coalescer e resultar em grandes áreas necróticas que levam a queda dos cladódios (Souza et al. 2010; Lima et al. 2011; Barbosa et al. 2012; Conforto et al. 2016).

A etiologia da mancha marrom está atribuída a um complexo de patógenos de origem fúngica, dentre os quais, espécies pertencentes ao gênero *Neopestalotiopsis* (Dodge 1938; Ammar et al. 2004; Souza et al. 2010; Flores-Flores et al. 2013; Conforto et al. 2016, 2017,

2019; Feijó et al. 2019). Recentemente, três espécies de *Neopestalotiopsis* (*N. australis*, *N. protearum* e *Neopestalotiopsis* sp.) foram relatadas entre os agentes causadores da mancha marrom (Conforto et al. 2019), no entanto, outras espécies do gênero podem estar associadas a doença. Atualmente a identificação das espécies pertencentes ao gênero *Neopestalotiopsis* tem sido realizada por meio de análises morfológicas combinada com filogenia multilocus, sendo a região espaçadora interna transcrita (ITS) e os genes β -tubulina (β -tub) e fator de alongação da tradução 1- α (TEF1- α), as mais precisas (Hyde et al. 2014). Portanto, objetivo desse trabalho foi identificar e caracterizar espécies de *Neopestalotiopsis* que causam mancha marrom da palma miúda nos estados de Alagoas e Pernambuco.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Cultura da Palma forrageira

A palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*), pertence a Divisão Embryophyta, Sub-divisão Angiospermea, Classe Dicotyledoneae, Sub-classe Archiclamideae, Ordem Opuntiales e família Cactaceae, que engloba aproximadamente 178 gêneros e cerca de 2000 espécies (SILVA e SANTOS, 2006), sendo os gêneros *Opuntia* e *Nopalea*, os mais utilizados como plantas forrageiras no mundo (PADILHA JUNIOR et al., 2016).

A cultura é originária do México (SANGLARD, MELO, 2015) e foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XIX, no estado de Pernambuco, como planta hospedeira da Cochonilha do Carmim [*Dactylopius coccus* Costa (Homóptera, Dactylopiidae)], visando a produção do corante carmim, que na época apresentava grande valor comercial (ARAÚJO et al., 2005; NUNES, 2011). Porém, o cultivo e produção não apresentaram muito sucesso, levando assim ao uso da palma como planta ornamental, na decoração de diferentes ambientes (SANTOS et al., 2006).

Somente no século XX, mais especificamente no ano de 1932, a cultura despertou interesse como planta forrageira, sendo introduzida e disseminada nas regiões semiáridas do nordeste brasileiro, através do primeiro programa governamental de difusão da cultura da palma forrageira, englobando todos os estados, desde o Piauí à Bahia (Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e Sergipe) (LIMA et al., 2001).

As regiões semiáridas representam em torno de 18% do território mundial e são áreas caracterizadas por irregularidades e baixas precipitações, unidos a elevados períodos de seca (SUDENE, 2017). São regiões que também englobam pequenos agricultores, no âmbito da agricultura familiar. Devido a essas características, a manutenção da alimentação dos rebanhos, mais especificamente a produção de forragens e grãos são comprometidas. Portanto, o uso de recursos alimentares alternativos, não convencionais, disponíveis e adaptados a essas áreas, pode ser a melhor opção para garantir a viabilidade dos rebanhos nessas regiões suscetíveis à seca e reduzir os custos na produção (URBANO et al., 2016).

Com isso, a palma forrageira se tornou uma excelente opção de cultivo nessas regiões devido a sua fisiologia. A cultura apresenta como característica principal, a adaptação fisiológica, conhecida como metabolismo fotossintético CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), isso faz com que a planta, fixe melhor CO₂ durante a noite, quando as taxas de evaporação são mais lentas, a partir da abertura dos estômatos, reduzindo a perda de água para o ambiente durante a fotossíntese. Além do metabolismo CAM, a palma apresenta em seu

sistema radicular uma rede de raízes finas próximas da camada superficial do solo, que absorvem de maneira mais eficiente a água de chuvas, mesmo leves e orvalhos, favorecendo seu cultivo nessas regiões (CAVALCANTE et al., 2014). (SANTOS et al., 2010). Para fins forrageiro, existe a predominância de três espécies no Brasil, sendo eles: a palma Gigante, a Redonda e principalmente a palma Miúda (SEAGRI, 2018).

Opuntia ficus-indica, cultivar gigante, também conhecida popularmente como Graúda, apresenta porte médio, caule ereto, com poucas ramificações. Os cladódios são grandes, por isso o nome gigante, seu peso varia de 1,0 a 2,0 kg com aproximadamente 40 a 50 cm de comprimento. As flores são hermafroditas de coloração amarelada, o fruto é uma baga ovoide com a coloração variando entre o amarelo e o roxo quando maduro. É uma cultivar que tem como característica a resistência à seca e elevada produtividade, por outro lado, o seu valor nutricional é mais baixo em relação as outras cultivares, tornando assim a aceitabilidade aos animais menor comparada as outras (SANTOS et al., 1997; FARIAS et a., 2005; SILVA; SANTOS,2006).

A cultivar redonda (*Opuntia* sp.), conhecida como orelha de onça, é originária da palma gigante. É uma planta de porte médio, com o caule bastante ramificado lateralmente. Os cladódios apresentam um formato ovoide e arredondado, pesando em média 1,8 a 2,0 kg e com cerca de 4,0 cm de comprimento. É uma cultivar que apresenta elevada resistência a seca, alto rendimento de produtividade e boa aceitação para os animais, em relação a cultivar gigante, porém é uma cultivar que apresenta suscetibilidade à cochinilha-do-carmim, desfavorecendo assim o plantio (SILVA; SANTOS, 2006; VASCONCELOS et al., 2007; LOPES et al., 2012).

A palma forrageira miúda, também chamada de doce (*Nopalea cochenilifera*), é uma espécie arbustiva, que apresenta porte reduzido, caule bem ramificado, cladódios com forma obviada, pesando cerca de 350 g e 25 cm de comprimento. Tem como características flores de cor vermelhas e frutos do tipo baga, com coloração variando do vermelho ao roxo. Quando comparada com as cultivares gigante e redonda, a palma miúda mostra-se mais nutritiva e palatável para os animais, por outro lado, é menos resistência à longos períodos seca. (NEVES et al., 2010; GUSHA et al., 2013). Apresenta uma maior exigência quanto a fertilidade do solo, adubação, umidade e temperaturas mis amenas no período noturno. Com relação a produção de matéria seca é superior a palma gigante e redonda. O destaque da palma miúda em relação as outras cultivares, é a resistência a cochinilha-do-carmim (SANTOS et al., 1990; ALBUQUERQUE, 2000; SANTOS et al., 2001; VASCONCELOS et al., 2009).

Existem atualmente no Brasil, dois bancos de germoplasma de palma. Um banco está localizado na Estação Experimental de Arcoverde - Pernambuco, na Empresa Pernambucana

de Pesquisa Agropecuária (IPA), com aproximadamente 1400 acessos, onde, cerca de 200 destes acessos foram oriundos do México, África do Sul, Argélia, EUA e Chile. O segundo é em Alagoas, no município de Santana do Ipanema, administrado pela Secretaria de Agricultura e pecuária, possuindo cerca de 40 acessos, divididos entre os gêneros *Opuntia* e *Nopalea*. (SANTOS et al., 2006).

2.1.2- Importância econômica

O Brasil possui uma produção média de 3.5 bilhões de toneladas de palma forrageira, produzidas em aproximadamente 126.000 propriedades, distribuídas nas regiões semiáridas dos estados da Bahia, Paraíba, Pernambuco, Sergipe, Alagoas, Rio Grande do Norte, Ceará e Minas Gerais (IBGE, 2017).

A palma forrageira apresenta níveis de produtividade de 6,5 a 17,5 toneladas de matéria seca (MS) / ha a cada dois anos após o plantio, que podem variar para mais ou para menos de acordo com a variedade, a densidade média de plantas e níveis de adubação (AMORIM et al. 2015; SOUZA et al., 2017). Atualmente, pode custar cerca de US \$ 130,0 / ton MS para o produtor, o que torna a utilização da cultura, muito mais vantajosa, quando comparada a outros tipos de culturas forrageiras, como por exemplo silagem de milho pode chegar a custar US \$ 270 / ton MS (SIQUEIRA et al., 2017)

Além de servir como planta forrageira, A Organização das Nações Unidas (ONU) reconhece o valor econômico da Palma Forrageira (CÂNDIDO FILHO et al., 2014), considerando a cultura como uma alternativa nutricional economicamente viável (DANTAS et al., 2017) podendo contribuir no combate à fome, por meio de sua agência dedicada à alimentação humana, a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO). A cultura oferece uma ampla gama de usos, incluindo seus frutos, a polpa, sucos, doces e vitaminas (BARBOSA et al., 2009). CÂNDIDO FILHO et al., 2014; SHETTY, 2012; CASTRO et al., 2011;

O cultivo da palma, pode ser alavancada a negócios com elevado valor agregado, como os relacionados à indústria farmacêutica de medicamentos destinados ao tratamento de doenças importantes, que atingem expressivas parcelas da população mundial, como gastrite, hiperglicemia e diabetes (CÂNDIDO FILHO et al., 2014; DIAZ et al., 2017). Outra área de grande importância em nível mundial, diz respeito à sustentabilidade socioambiental. O uso da palma forrageira tem sido amplamente estudado no âmbito da recuperação e conservação de solos, elevando o seu valor potencial em iniciativas dedicadas à sustentabilidade, envolvendo

proteção e conservação do meio ambiente. Que são assuntos bastante relevantes na atualidade (ROCHA, 2012).

Apesar de estudos e pesquisas mostrarem que a cultura apresenta rusticidade, adaptabilidade a diferentes ambientes e elevado aumento na produtividade com o uso de um manejo adequado para a cultura, verifica-se no campo uma queda na produção, em função de danos provocados por pragas e principalmente pela ocorrência de doenças nos cladódios, como a mancha marrom (SOUZA et al., 2010; BARBOSA et al., 2012).

2.2- Mancha marrom

A mancha marrom (Cladode Brown Spot - CBS) conhecida anteriormente no Brasil como mancha de *Alternaria*, foi relatada pela primeira em 2001, no município de São Bento do Una, Pernambuco, causando sérios problemas para a cultura, e desde então existem relatos de ocorrência desta doença, com incidência de 70 % na maioria das áreas de cultivo (LIMA et al., 2011; BARBOSA et al., 2007). Os sintomas da doença caracterizam-se por manchas de coloração marrom e preta nos cladódios, de formas circulares ou elípticas, medindo cerca 1,0-3,0cm de diâmetro. As lesões podem se estender de uma face a outra do cladódio, exibindo perfurações devido à queda do tecido infectado. As manchas podem coalescer, formando grandes áreas necrosadas e causando queda dos cladódios (SWART; SWART, 2003; SANTOS et al., 2006).

2.2.1- Complexo Pestalotioid

O complexo de Pestalotioid é composto por fungos que possuem conídios semelhantes a *Pestalotiopsis*, com cinco células, sendo as das extremidades hialinas e as medianas pigmentadas (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014). Engloba indivíduos saprofitos, endofíticos e patogênicos (SURYANARAYANAN et al., 2011; XU et al., 2014), e são regularmente encontrados em ecossistemas tropicais e subtropicais (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2011; KRUSCHEWSKY et al., 2014).

Os fungos desse complexo eram considerados de importância secundária e iniciavam o processo infeccioso a partir de aberturas naturais e/ou de ferimentos ocasionados por insetos, pesticidas ou danos provocados pelo sol (HOPKINS; MCQUILKEN, 2000; AGRIOS, 2005). Entretanto, esses fungos têm ocasionado significativas perdas econômicas em ampla gama de hospedeiros (ÚRBEZ-TORRES et al., 2012; ARZANLOU et al., 2013; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014; JAYAWARDENA et al., 2015; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2016).

Como já foi citado, esses fungos têm se apresentado como patogênicos em diversas culturas (JAYAWARDENE et al., 2015; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2016). Em *C. nucifera*, espécies de Pestalotioid já foram relatadas, como endofíticas e também patogênicas (CARDOSO et al, 2003; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014; ROSADO et al., 2015). Cardoso et al. (2003) avaliando a etiologia e o progresso da mancha de pestalotia do coqueiro, no estado da Paraíba, constataram que um fungo do gênero *Pestalotiopsis* era patogênico em folhas daquela cultura. Isso indica que muitas espécies fúngicas podem se comportar de formas distintas em função das condições do hospedeiro (HYDE et al., 2014).

O gênero *Pestalotiopsis* foi inserido por Steyaert (1949), que também propôs alterações taxonômicas com base nas formas dos conídios. O mesmo autor sugeriu três gêneros de fungos, sendo *Pestalotia*, *Pestalotiopsis* e *Truncatella*. Posteriormente, o mesmo autor subdividiu o gênero *Pestalotiopsis* e agrupou as espécies com base no número de apêndices apicais e coloração das células medianas em versicolor e concolor. Mas, as alterações propostas por ele não foram aceitas por Moreau (1949), Guba (1956, 1961) e Dube; Bilgrami (1965).

Posteriormente, uma nova classificação foi proposta por Guba (1961), na qual se considerava o número de células, a cor das células medianas e a morfologia dos apêndices apical e basal. Desta forma, mediante esses critérios, foram descritas diferentes categorias e seções do gênero *Pestalotia*. Mais adiante, Sutton (1980) apoiou a nova divisão, porém dificuldades, complexidade e conflitos técnicos na taxonomia de *Pestalotiopsis* foram reconhecidos.

Nag Raj (1985, 1993) concordou com a ideia da redistribuição das espécies de *Pestalotia* para outros gêneros, porém, entendia que o gênero *Pestalotiopsis* também teria que englobar as espécies de conídio com três células. Jeewon et al. (2003) verificaram que apenas caracteres como pigmentação das células medianas e apêndices apicais seriam confiáveis para separar as espécies do gênero *Pestalotiopsis*, mas foi sugerido que análises moleculares deveriam ser associadas para obter a correta identificação das espécies.

Revisões do gênero *Pestalotiopsis* têm sido realizadas mediante análises moleculares e morfológicas, as quais têm propiciado novas alterações taxonômicas (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014; MAHARACH-CHIKUMBURA et al., 2016). Maharachchikumbura et al. (2014) combinando dados morfológicos e moleculares contribuíram para uma grande revisão dos táxons tipo de *Pestalotiopsis* e estabeleceram dois novos gêneros, *Neopestalotiopsis* e *Pseudopestalotiopsis*, pertencendo à ordem *Xylariales*.

Com base em evidências morfológicas e filogenéticas, Crous; Hawksworth; Wingfield (2015) inseriram os gêneros *Pestalotiopsis*, *Neopestalotiopsis* e *Pseudopestalotiopsis* em uma nova família, a *Pestalotiopsidaceae* Maharachch. & K. D. Hyde, perfazendo a acomodação na

subclasse *Xylariomycetidae* O. E. Erikss e Winka e ordem *Amphisphaeriales* D. Hawksw. & O. E. Erikss. A nova família *Pestalotiopsidaceae* acomoda os gêneros *Ciliochorella* Syd., *Neopestalotiopsis* Maharachch., *Pestalotiopsis* Steyaert., *Pseudopestalotiopsis* Maharachch. e *Seiridium* Nees.

2.2.2- Aspectos filogenéticos do complexo Pestalotioid

Por haver similaridade morfológica entre espécies dos gêneros fúngicos, a identificação passou a ser mais bem-sucedida por meio do sequenciamento de DNA (CROUS; HAWKSWORTH; WINGFIELD, 2015). Foi devido a utilização de sequenciamento de regiões gênicas que modificações taxonômicas foram realizadas, e dessa forma, espécies de *Pestalotiopsis* passaram a ser compreendidas por complexo Pestalotioid (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014).

A revisão molecular dos gêneros e de espécies do complexo Pestalotioid, tem propiciado mudanças muito significativas e que ainda estão em andamento. Maharachchikumbura et al. (2012) realizaram o sequenciamento de dez regiões gênicas diferentes, sendo, o espaçador interno transcrito (ITS), β -tubulina, fator de alongamento 1- α , (TEF1- α), β -tubulina, a grande subunidade nuclear (LSU), rDNA de subunidade pequena ribossômica nuclear (SSU), actina (ACT), glutamina sintase (GS), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GPDH), RNA polimerase II (RPB1) e calmodulina (CAL), para reavaliar as espécies do complexo Pestalotioid. Eles concluíram, com ajuda de dados morfológicos, que o sequenciamento da região ITS e dos genes codificadores da β -tubulina e o TEF1- α poderiam fornecer resultados mais acurados para tal fim. Sequências concatenadas dessas regiões resultaram em clados fortemente suportados (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014).

A região ITS, pode resolver a identificação em gênero e espécie dos fungos e desde o desenho dos oligonucleotídeos por White et al. (1990), tornou-se a mais empregada em estudos filogenéticos. Porém, essa região associada com os genes TEF1- α e β -tubulina, fortalecem os ramos e colaboram para uma melhor separação de espécies (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014; HYDE et al., 2014).

2.2.3- Gênero *Neopestalotiopsis*

O gênero *Neopestalotiopsis* é facilmente distinguido de *Pseudopestalotiopsis* e *Pestalotiopsis* por suas células medianas versicoladas (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014). Espécies com células medianas obscuras-escamosas com apêndices apicais foram definidas como *Pseudopestalotiopsis* (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014). Desde a

monografia de MAHARACHCHIKUMBURA et al. (2014), várias novas espécies de Pestalotioid também foram introduzidas (ARIYAWANSA et al., 2015; HYDE et al., 2016; JAYAWARDERA et al., 2016; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2016a, b).

Esse gênero foi separado de *Pestalotiopsis* por Maharachchikumbura et al. (2014) com base em análise filogenética e diferenças morfológicas e já são mais de 25 espécies descritas para o gênero (SOLARTE et al., 2018). A espécie tipo do gênero é *N. protearum* (Crous & L. Swart) Maharachch., K.D. Hyde & Crous (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014).

2.2.4- REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. Califórnia: Elsevier Academic Press. 5. ed, 952p. 2005.
- ALBUQUERQUE, S. G. de Cultivo da palma forrageira no Sertão do São Francisco. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 6 p. 2000.
- AMORIM, P.L, et al. Morphological and productive characterization of forage cactus varieties. **Revista Caatinga**. Sep;28(3): p. 230-8. 2015.
- ANDRADE, G.C.G et al. Características culturais e severidade da mancha foliar de *Quambalaria eucalypti* sob diferentes regimes de temperatura, luz e período de molhamento foliar. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v.32, n.4, p.329-334, 2007.
- ANDREW, M. An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. **Mycologia**. 101 (1), 95–109. 2009.
- ARAÚJO, L. F. et al. Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: Relação com a umidade ótima para fermentação sólida. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 9, n. 3, p. 379-384, 2005.
- ARINZE, A.E. Post-harvest diseases of tomato fruits in Southern Nigeria. **Journal Fitopatologia Brasileira**. v. 11, n. 3, p. 637 – 645. 1986.
- AUST, H.J et al. Flexibility of plant pathogens in exploiting ecological and biotic conditions in the development of epidemics. In: Palti, J., Kranz, J. (Eds.), **Comparative Epidemiology**. Pudoc, Wageningen, pp. 46–56. 1980.
- BARBOSA, R. S. Doenças da Palma in E. B. Lopes (Ed.), *Palma forrageira: cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino* p. 47–56. 2007
- BARBOSA, R. S. et al. Doenças da Palma Forrageira. In: LOPES, E. B. (Ed.) *Palma forrageira: Cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino*. João Pessoa: EMEPA/FAEPA, p. 81 – 98, 2012.
- BIALE, J. B. Postharvest physiology and biochemistry of fruits. **Annual Review of Plant Physiology**. v. 1, p. 183-206, 1950.

BORGES NETO, C.R. et al. Influência da idade da planta, período de molhamento de umidificação e concentração do inóculo no desenvolvimento de sintomas provocados por *Cercospora caricis* em tiririca. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.2, p.138-142, 2000.

BROOME, J.C. Development of an infection model for *Botrytis bunch* rot of grapes based on wetness duration and temperature. **Phytopathology**, St. Paul, v.85, n.1, p.97-102, 1995.

CÂNDIDO FILHO, A.; PEREIRA, F.; LIMA, A. Base alimentar humana com o uso da palma forrageira. VI Simpósio de Reforma Agrária e Questões Rurais. Recife: Instituto Agrônomo de Pernambuco, 2014.

CARISSE, O. et al. Spatiotemporal relationships between disease development and airborne inoculum in unmanaged and managed *Botrytis* leaf blight epidemics. **Phytopathology**, St. Paul, v.98, n.1, p.38-44, 2008.

CASTRO, P.; SILVA, T.; OLIVEIRA, C. Utilização do fruto da palma forrageira na alimentação humana: fabricação de geleia. III Mostra de Iniciação Científica. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Guanambi, 2011.

CAVALCANTE, L.A.D. et al. Respostas de genótipos de palma forrageira a diferentes densidades de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.44, n.4, p.424-433, 2014.

CONFORTO C, et al. Characterization of fungal species associated with cladode brown spot on *Nopalea cochenillifera* in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**. Dec 1;155(4):1179-94. 2019.

CONFORTO, C et al. First report of *Colletotrichum siamense* and *C. fructicola* causing cladode brown spot in *Nopalea cochenillifera* in Brazil. **Journal of Plant Pathology**. 99, 812. 2017.

CONFORTO, C. et al. First Report of Cladode Brown Spot in Cactus Prickly Pear Caused by *Neofusicoccum batangarum* in Brazil. **Plant Disease**, v. 100, p.1238, 2016.

CUTRIM, F. A. Caracterização fisiológica de *Penicillium sclerotigenum* e influência da temperatura e período de molhamento sobre a podridão verde do inhame. 71f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade/Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2004.

DANTAS, S. F. A.; LIMA, G. F. C.; MOTA, E. P. Viabilidade econômica da produção de palma forrageira irrigada e adensada no semiárido potiguar. **Revista IPECEGE**, v. 3, n. 1, p. 59-74, 2017.

DIAZ, M.; ROSA, A.; TOUSSAINT, C.; GUERAUD, F.; SALVAYRE, A. Opuntia spp: characterization and benefits in chronic diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1-17.

DODD, J. C., Epidemiology of Colletotrichum gloeosporioides in the Tropics. In: BAILEY, J. A., JEGER, M. J. (Eds.), Colletotrichum: Biology, Pathology and Control. CAB International, p.308-325. 1992FEIJÓ, F. M. et al. First report of cladode and foot rots caused by *Pythium aphanidermatum* on cactus (*Nopalea cochenillifera*). **Plant Disease**, v. 100, n. 8, p. 1797-1797, 2016.

DUBE, H. C.; BILGRAMI, K. S. *Pestalotia* or *Pestalotiopsis*? **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, Deen Hang, v.29, p.33–54, 1965.

ELLIOT, J.A. Taxonomic characters of the genera *Alternaria* and *Macrosporium*. Press of the New era printing company; 1916.

FLORES-FLORES, R. et al. Identification of fungal species associated with cladode spot of prickly pear and their sensitivity to chitosan. **Journal of phytopathology**, v. 161, n. 7-8, p. 544-552, 2013.

FRAISSE, C. W., et al. AgClimate: a climate forecast information system for agricultural risk management in the southeastern USA. **Computers and Eletronics in Agriculture**, v. 53, n. 1, p. 13-27, 2006

Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Censo Agropecuário 2017. Disponível em https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html. Acesso: abril de 2018.

GABRIEL, M. F. et al. The major *Alternaria alternata* allergen, Alt a 1: A reliable and specific marker of fungal contamination in citrus fruits. **International Journal of Food Microbiology**, Vitoria, v. 257, n. 18, p. 26-30. 2017.

GHINI, R. et al. Diseases in tropical and plantation crops as affected by climate changes: current knowledge and perspectives. **Plant Pathology**, v.60, p.122–32. 2011.

GRUM-GRZHIMAYLO, A.A et al. On the diversity of fungi from soda soils. **Fungal diversity**. Jan 1;76(1):27-74. 2016

GUBA, E. F. *Monochaetia* and *Pestalotia* vs. *Truncatella*, *Pestalotiopsis* and *Pestalotia*. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 7, p. 74–76, 1956.

GUBA, E. F. **Monograph of *Pestalotia* and *Monochaetia***. Cambridge: Harvard University Press, 1961.

GUSHA, J.; et al. Nutritional composition and effective degradability of four forage trees grown for protein supplementation. **Online Journal of Animal Feed Research**, v. 3, n. 4, p. 170-175, 2013.

HOPKINS, K. E.; MCQUILKEN, M. P. Characteristics of *Pestalotiopsis* associated with hardy ornamental plants in the UK. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 106, n. 1, p. 77-85, 2000.

HYDE, K. D. et al. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera. **Fungal Diversity**, v. 67, n. 1, p. 21-125, 2014.

INDERBITZIN, P. et al. Lateral transfer of mating system in *Stemphylium*. Proceedings of the National Academy of Sciences. Aug 9;102(32):11390-5. 2005

ISMAIL, S. I; ZULPERI, D.; NORDDIN, S.; AHMAD-HAMDANI, S. First Report of *Neopestalotiopsis saprophytica* Causing Leaf Spot of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) in Malaysia. **Plant Disease**, v.101, n.10, p. 1821, 2017.

JAYAWARDENA, R. S.; LIU, M.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; ZHANG, W.; XING, Q.; HYDE, K. D.; NILTHONG, S.; LI, X. H.; YAN, J. *Neopestalotiopsis vitis* sp. nov. causing grapevine leaf spot in China. **Phytotaxa**, v.258, n.1, p.063–074, 2016.

JEEWON, R.; LIEW, E. C. Y.; SIMPSON, J. A.; HODGKISS, I. J.; HYDE, K. D. Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of *Pestalotiopsis* species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v.27, p372-383, 2003.

JOLY P. Le genre *Alternaria*; recherches physiologiques, biologiques et systematiques. 1964.

KENAGA, C. B. Plant disease concept, definitions, symptoms and classification. In: KENAGA, C. B. Principles of phytopathology. 2nd ed., **Balt Publishers**, p.12-31. 1994.

KOCMÁNKOVÁ E. et al. Impact of climate change on the occurrence and activity of harmful organisms. Plant **Protection Science**. 45(Special Issue). 2009;

KRUSCHEWSKY, M. C.; LUZ, E. D. M. N.; BEZERRA, J. L. O GÊNERO *Pestalotiopsis* (ASCOMYCOTA, 'COELOMYCETES') NO BRASIL. **Agrotrópica**, v.26, n.2, p.89-98, 2014.

LAWRENCE, C.B. et al. At Deaths Door: *Alternaria* Pathogenicity Mechanisms. **The Plant Pathology Journal**. 24(2):101-11. 2008;

LAWRENCE, D.P. et al. The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. **Mycologia**. May 1;105(3):530-46. 2013.

LEITE, R.M.V.B.C.; Amorim. L. Influência da temperatura e do período de molhamento no monociclo da mancha de *Alternaria* em girassol. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, n.2, p.193-2000, 2002.

LIMA FILHO, R.M. Caracterização isoenzimática, inoculações cruzadas de *Colletotrichum* e influência da temperatura no desenvolvimento da antracnose em maracujá. 54f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade/Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife 2003.

LIMA, G. S. A. et al. Development and validation of a standard area diagram set for assesment of *Alternaria* Spot on cladodes of the prickly pear cactus. **Journal of Plant Pathology**, v. 93, p. 691- 695, 2011.

LIMA, I. M. M.; GAMA, N. S. Registro de plantas hospedeiras (cactaceae) e de nova forma de disseminação de *Diaspis echinocacti* (Bouché) (Hemíptera: Diaspididae), cochonilha da palma forrageira, nos estados de Pernambuco e Alagoas. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 479 – 481, 2001

LOPES, E. B. et al. Cultivo da Palma Forrageira. In: LOPES, E. B. (Ed.) Palma forrageira: Cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino. João Pessoa: EMEPA/FAEPA. 2012. p. 21 – 60.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; GUO, L. D.; CHUKEATIROTE, E.; BAHKALI, A. H.; HYDE, K. D. *Pestalotiopsis*—morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. **Fungal Diversity**, Hong Kong, v. 50, n. 1, p. 167-187, 2011.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; HYDE, K. D.; GROENEWALD, J. Z.; XU, J.; CROUS, P. W. *Pestalotiopsis* revisited. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 79, p. 121– 186, 2014.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; LARIGNON, P.; HYDE, K. D.; AL-SADI, A. M.; LIU, Z. Y. Characterization of *Neopestalotiopsis*, *Pestalotiopsis* and *Truncatella* species associated with grapevine trunk diseases in France. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 55, n. 3, p. 380-390, 2016.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; WU1, S. P.; HYDE, K. D.; AL-SADI, A. M.; LIU, Z. Y. First report of sweet potato leaf spot caused by *Neopestalotiopsis ellipsospora* in Guizhou province, China. **Journal of Plant Pathology**, v.98, n.3, p.677-697, 2016b.

MAIA FG, et al. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum spp.* isolados de mangueira com sintomas de antracnose. **Bioscience Journal**. 27(2). 2011.

MBOUP M. et al. Genetic structure and local adaptation of European wheat yellow rust populations: the role of temperature-specific adaptation. **Evolutionary Applications**. Jun;5(4):341-52. 2012.

MCCALLUM BD, et al. A review of wheat leaf rust research and the development of resistant cultivars in Canada. **Canadian Journal of Plant Pathology**. Jan 2;38(1):1-8. 2016.

MISAGHI, I.J. Influence of environment and culture media on spore morphology of *Alternaria alternata*. **Phytopathology** 68, 29–34. 1978.

MORAIS D, Sache I, Suffert F, Laval V. Is the onset of septoria tritici blotch epidemics related to the local pool of ascospores?. **Plant Pathology**. Feb;65(2):250-60. 2016.

NAG RAJ, T. R. Redisposals and redescrptions in the *Monchaetia Seiridium*, *Pestalotia-Pestalotiopsis* complexes. I. The correct name for the type species of *Pestalotiopsis*. **Mycotaxon**, Ithaca, v.22, p.43–51, 1985.

NEVES, A. L. A.; PEREIRA, L. G. R.; SANTOS, R. D.; VOLTOLINI, T. V.; ARAÚJO, G. G. L. de; MORAES, S. A. de; ARAGÃO, A. S. L.; COSTA, C. T. F. Plantio e uso da palma forrageira na alimentação de bovinos no semiárido brasileiro. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2010.

NIU, X.-Q.; ZHU, H.; YU, F.-Y.; TANG, Q.-H.; SONG, W.-W.; LIU, L.; QIN, W.-Q. First Report of *Pestalotiopsis menezesiana* Causing Leaf Blight of Coconut in Hainan, China. **Plant Disease**, v.99, n.4, p. 554, 2015.

NUNES, C. S. Usos e aplicações da palma forrageira como uma grande fonte de economia para o semiárido nordestino. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 1, p. 58-66, 2011.

PADILHA JUNIOR, M. C.; DONATO, S. L. R.; SILVA, J. A.; DONATO, P. E. R.; SOUZA, E. S. Características morfométricas e rendimento da palma forrageira „Gigante“ sob diferentes adubações e configurações de plantio. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 11, n. 1, p. 67-72, 2016.

PRYOR, B.M, GILBERTSON, R.L. Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mt SSU rDNA sequences. **Mycological Research**. Nov 1;104(11):1312-21. 2000.

PRYOR, B.M. et al. *Undifilum*, a new genus for endophytic *Embellisia oxytropis* and parasitic *Helminthosporium bornmuelleri* on legumes. **Botany**. Feb;87(2):178-94. 2009.

ROCHA, J. E. S. Palma forrageira no Brasil: o estado da arte. EMBRAPA Caprinos e Ovinos. (Documentos, 106).. p40. 2012.

ROSADO, A. W. C.; MACHADO, A. R.; PEREIRA, O. L. Postharvest Stem-End Rot on Immature Coconut Caused by *Pestalotiopsis adusta* in Brazil. **Plant Disease**, v.99, n.7, p.1036, 2015.

ROYLE, D. J., BUTLER, D. R., Epidemiological Significance of Liquid Water in Crop Canopies and its Role in Disease Forecasting. In: AYRES, P. G., BODDY, L. (Eds.), **Water, Fungi and Plants**. Cambridge University Press, p.139-156. 1986.

SACCARDO, P.A. Sylloge Fungorum vol. 4. Padova, Italy. 1886.

SALEM, H.; SMITH, T. Feeding strategies to increase small ruminant production in dry environments. *Small ruminant research*. Jul 1;77(2-3):174-94. 2008.

SANTOS, D. C. E. et al. Usos e aplicações da palma forrageira. In: LOPES, E. B. (Ed.) **Palma forrageira: Cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no semiárido nordestino**. João Pessoa: EMEPA/FAEPA, p. 99 - 150, 2012.

SANTOS, D. C. et al. Desempenho produtivo de vacas 5/8 holando/zebu alimentadas com diferentes cultivares de palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 30, n. 1, p. 12 – 17, 2001.

SANTOS, D. C. et al. Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco. Recife: IPA, 48p. (IPA, Documento 30). 2006.

SANTOS, M. V. F. et al. Estudo comparativo de cultivares de palma forrageira “Gigante”, “Redonda” (*Opuntia ficus-indica* Mill) e “Miúda” (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dick) na produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 19, n. 6, p. 504 – 511, 1990.

SANTOS, M. V. F. et al. Estudo comparativo de cultivares de palma forrageira “Gigante”, “Redonda” (*Opuntia ficus-indica* Mill) e “Miúda” (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dick) na produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 19, n. 6, p. 504 – 511, 1997.

SECRETARIA DA AGRICULTURA DO ESTADO DE ALAGOAS (SEAGRI). Disponível em > www.agricultura.al.gov.br. Acessado em: novembro de 2018.

SHETTY, A. Cactus: a medicinal food. **Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 5, p. 530-536. 2012

SHTIENBERG, D.; Elad, Y. Incorporation of weather forecasting in integrated, biological-chemical management of *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 87, n.3, p.332–340, 1997.

SICILIANO, I. et al. Molecular phylogeny and characterization of secondary metabolite profile of plant pathogenic *Alternaria* species isolated from basil. **Food Microbiology**, v. 73, p. 264-274. 2018.

SILVA, C. C. F.; SANTOS, L. C. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. Revista Electrónica de Veterinária REDVET, v. 7, n. 10, p. 1-13, Out. 2006. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006/100609.pdf>>. Acesso em: 10 de dez. 2019.

SILVA, S.R. et al. Influência da resistência e do período de molhamento na infecção e desenvolvimento de lesões de ferrugem no feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.4, p.726-731, 2001.

SILVA, S.R. et al. Influência da resistência e do período de molhamento na infecção e desenvolvimento de lesões de ferrugem no feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, n.4, p.726-731, 2001.

SIMMONS E.G. *Helminthosporium allii* as type of a new genus. **Mycologia**. Mar 1;63(2):380-6, 1971.

SIMMONS E.G. *Macrospora Fuckel* (Pleosporales) and related anamorphs. **Sydowia**.:41:314-29, 1989

SIMMONS E.G. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium*, and *Ulocladium*. **Mycologia**. Jan 1;59(1):67-92, 1967.

SIMMONS EG. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge. *Alternaria* biology, **Plant diseases and metabolites**.1-35. 1992.

SIMMONS, E.G. *Alternaria: An Identification Manual*. 2007.

SIQUEIRA, M.C. The use of spineless cactus in the diets of cattle: Total and partial digestibility, fiber dynamics and ruminal parameters. **Animal feed science and technology**. p. 56-64. 2017.

SOARES, A. R. Infecção de goiabas por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* sob diferentes temperaturas e periodo de molhamento. **Tropical Plant Patology**, v.33, n.4, p.265- 272, 2008.

SOLARTE, F.; MUÑOZ, C. G.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; ÁLVAREZ, E. Diversity of *Neopestalotiopsis* and *Pestalotiopsis* spp., Causal Agents of Guava Scab in Colombia. *Plant Disease*. v.102, p.49-59, 2018.

SOUZA, A. E. F. et al. Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) no semiárido paraibano. **Revista Biotemas**, v. 23, n. 3, p. 11 – 20, 2010.

SOUZA, T. C. Productivity and nutrient concentration in spineless cactus under different fertilizations and plant densities. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. 12(4):p. 555-60.2017.

STEYAERT, R. L. Contribution à l'étude monographique de *Pestalotia* de Not. et *Monochaetia* Sacc. (*Truncatella* gen. nov. et *Pestalotiopsis* gen. nov.). **Bulletin du Jardin botanique de l'Etat, Bulletin van den Rijksplantentuin**, Bruxelles, p. 285- 347, 1949.

SUDENE. Ministério do Desenvolvimento Regional. 2017. Disponível em: <http://www.sudene.gov.br/planejamento-regional/delimitacao-do-semiarido>. Acesso em 03 de fev. 2019.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes e fungi imperfecti with acervuli and stromata**. Slough: CABI Publishing, 1980.

SWART, W. J.; SWART, V. R. An Overview of Research on Diseases of Cactus Pear in South Africa. **Journal of the Professional Association for Cactus Development**. v. 15, p. 115 – 120. 2003.

TANAKA, M. A. S. Transmissão planta-semente e semente-plântula do agente causal da ramulose do algodoeiro. In: MENTEN, J. O. M. (Ed.) **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**, p.171-178, 1995

URBANO, S.A. et al. Gérmen integral de milho em substituição ao milho na dieta de ovinos santa inês: características de carcaça e composição tecidual. **Acta Veterinaria Brasilica**. May 31;10(2):165-71. 2016.

VAN ZINDEREN BAKKER, E.M. *Cercospora scirpicola* (Sacc.) nov. comb. **Revue de Mycologi**. 1940;5:64-9. 1940

VASCONCELOS, A. G. V. et al. Micropropagação de palma forrageira cv. Miúda (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias, Recife**, v. 2, n. 1, p. 28-31, 2007.

VASCONCELOS, A. G. V.; LIRA, M. A.; CAVALCANTI, V. A. L. B.; SANTOS, M. V. F. Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha do carmim (*Dactylopius ceylonicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 5, p. 827-831, 2009.

VICTOR, M.M., et al. First use of cactus and cushcush as biocatalysts in the enantioselective reduction of β -keto esters. **Industrial Crops and Products**, v. 96, p. 126-131. doi:10.1016/j.indcrop.2016.11.048. 2017.

VIVAS, M. et al. Resistance to multiple foliar diseases in papaya genotypes in Brazil. **Crop Protection**, [s.l.], v. 71, p.138-143. 2015

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Ed.). **PCR protocols: a guide to methods and applications**. New York: Academy Press, 1990.

WILTSHIRE, S.P. The foundation species of *Alternaria* and *Macrosporium*. **Transactions of the British Mycological Society**. Nov 8;18(2):135-IN3. 1933.

WOUDENBERG, J.H et al. *Alternaria* redefined. **Studies in mycology** Jun 1;75:171-212. 2013

WOUDENBERG, J.H. et al. Large-spored *Alternaria* pathogens in section *Porri* disentangled. **Studies in mycology**. Sep 1;79:1-47. 2014

XU, J.; YANG, X.; LIN, Q. Chemistry and biology of *Pestalotiopsis*-derived natural products. **Fungal Diversity**, Hong Kong, v. 66, n. 1, p. 37-68, 2014.

ZHENG, Li et al. Identification of a Novel *Alternaria alternata* Strain Able to Hyperparasitize *Puccinia striiformis* f. sp. tritici, the Causal Agent of Wheat Stripe Rust. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 8, p.1-10. 2017

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Obtenção dos isolados

Cladódios de *N. cochenillifera* apresentando sintomas característicos de mancha marrom foram coletadas de plantios comerciais dos estados de Alagoas (cidade de Estrela de Alagoas) e Pernambuco (cidade de Bom Conselho e Lajedo) em março de 2015. Após lavagem dos cladódios, fragmentos da área de transição entre o tecido doente e o sadio foram obtidos e desinfestados usando álcool 70% durante 30 segundos e hipoclorito de sódio 1% por 1,5 minutos. Os fragmentos foram lavados em água destilada esterilizada (ADE) três vezes, secos em papel filtro esterilizados e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), onde permaneceram a 25 ° C por 48 h. Em seguida, um disco de BDA contendo crescimento micelial originado do tecido infectado foi transferido para novas placas, onde permaneceram a 25 ° C por 10 dias ou até a produção de estruturas reprodutivas pelo patógeno.

3.2- Sequenciamento e análise filogenética

O DNA total foi extraído de cada isolado seguindo o protocolo CTAB descrito por Doyle & Doyle (1987), que foi usado como modelo para amplificar (via PCR) a região ITS-rDNA e os genes, EF1- α e β -tub usando pares de iniciadores ITS1 / ITS4, 728F / EF2 e BT2A / BT2B, respectivamente (White et al. 1990; Glass; Donaldson 1995; Carbone; Kohn 1999). Os produtos de PCR foram sequenciados comercialmente pela Macrogen Inc.

As sequências nucleotídicas foram montadas com o software Codon Code Aligner v. 6.0.2 (www.codoncode.com), e o arranjo dos nucleotídeos em posições ambíguas foi corrigido através da comparação de sequências na direção senso e anti-senso. As sequências foram analisadas inicialmente com o algoritmo BLASTn (Altschul et al. 1990) e o banco de dados não redundante GenBank. Sequências de referência de várias espécies de *Neopestalotiopsis* foram obtidas no GenBank (Tabela 1) e usadas para reconstrução filogenética.

Alinhamentos múltiplos para sequências de nucleotídeos foram obtidos usando o algoritmo MUSCLE (Edgar 2004) no software MEGA v. 6 (Tamura et al. 2013). As filogenias da inferência bayesiana (BI) para os conjuntos de dados ITS, EF1- α e β -tub (individuais e interligados) foram reconstruídas no portal CIPRES (Miller et al. 2010) usando MrBayes v. 3.2.3 (Ronquist et al. 2012). O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado para cada região genômica usando MrModeltest v. 2.3 (Posada; Buckley 2004), de acordo com o *Akaike Information Criterion* (AIC). As análises foram realizadas para 10 milhões de

gerações, utilizando quatro cadeias e amostragens a cada 1.000 gerações, para um total de 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores foram descartadas como um estágio *burnning*. As probabilidades subsequentes (Rannala; Yang 1996) foram determinadas a partir de uma árvore consensual gerada com as 7.500 árvores restantes. As árvores foram visualizadas e editadas no FigTree v. 1.4 (ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) e no Inkscape (<https://inkscape.org/pt/>).

3.3- Caracterização morfológica

Os isolados foram cultivados em BDA e incubados a 25 ± 1 ° C por 10 dias e fotoperíodo de 12 horas sob luz negra. O tamanho e as características morfológicas dos esporos foram avaliados com o auxílio de um microscópio óptico (Olympus CKX41). As imagens foram obtidas usando uma câmera digital (Olympus IX2-SLP) conectada ao microscópio com uma ampliação de 400 x usando o software Cellsenses Standard (SAMSUNG SDC-415®), para determinar o comprimento e a largura dos conídios.

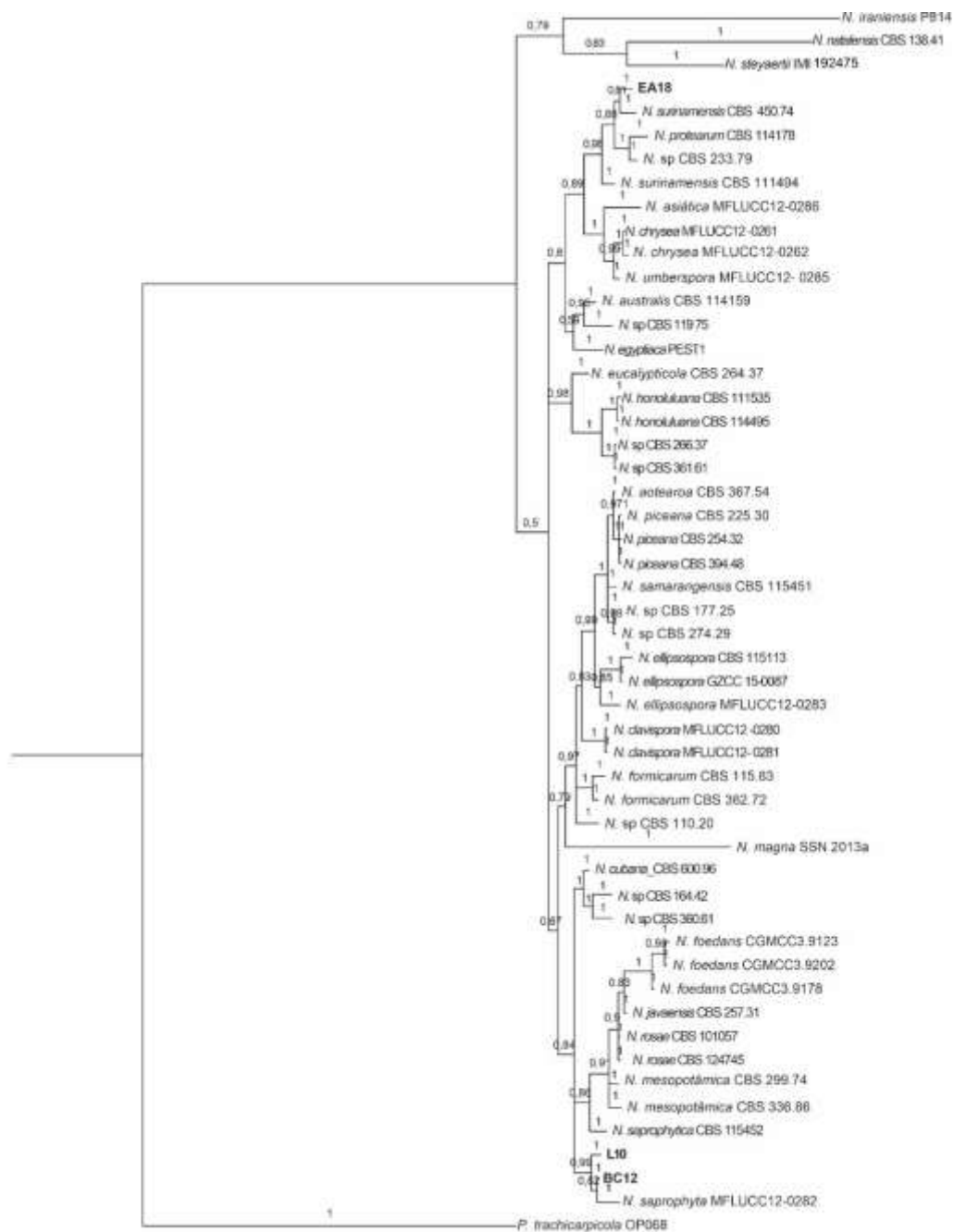
Testes de patogenicidade foram realizados em cladódios assintomáticos, de acordo com o protocolo descrito por Flores-Flores et al. (2013). Os cladódios foram acomodados individualmente em câmara úmida por 48h a 25 ± 1 ° C. Em seguida, o material vegetal inoculado foi incubado em 25 ± 1 ° C e fotoperíodo de 12 h por mais 10 dias para a observação da ocorrência de sintomas.

4- RESULTADOS

Foram obtidos três isolados associados à mancha marrom em *N. cochenillifera*, um proveniente de Alagoas (EA18) e dois de Pernambuco (BC12 e L10). Esses isolados foram preservados e depositados na Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos da Universidade Federal de Alagoas (COUFAL).

Na construção das árvores filogenéticas de Inferência Bayesiana para os conjuntos de dados individuais, utilizou-se o modelo evolutivo GTR+I+G para o alinhamento das sequências nucleotídicas de ITS e EF1- α e o HKY+G para β -tub. Enquanto que para as análises do conjunto de dados concatenados (ITS, EF1- α e β -tub) GTR+I+G foi o modelo de substituição selecionado. A espécie *Pestalotiopsis trachicarpicola* (OP068) foi usada como *outgroup*.

As análises baseadas nos dados concatenados (ITS, EF1- α e β -tub) revelaram que os isolados obtidos no presente estudo foram agrupados com as espécies *N. surinamensis* (CBS45074) e *N. saprophyta* (MFLUCC12 0282) (Figura 1).



Fonte: NETO,2021

Figura 1. Árvore filogenética de Inferência Bayesiana de isolados de *Neopestalotiopsis* baseada nas sequências parciais combinadas das regiões ITS, EF - 1 α e β -tub. *Pestalotiopsis trachicarpicola* foi usado como outgroup. Isolados em negrito corresponde aos isolados caracterizados no presente estudo.

A caracterização morfológica dos isolados de *Neopestalotiopsis* obtidos no presente estudo, através de análises microscópicas das estruturas dos fungos, esteve em consonância com a caracterização molecular, no entanto, a nível de gênero (Figura 1, Tabela 1).

Figura 2. Morfologia dos conídios de *Neopestalotiopsis* spp. Obtidos no presente estudo causando mancha marrom da palma miúda.



Fonte: NETO, 2021

Tabela 1. Características morfológicas das espécies de *Neopestalotiopsis* identificadas no presente estudo causando mancha marrom da palma miúda.

Espécies	Isolado	Descrição	Comprimento	Largura
<i>N. surinamensis</i>	EA18	Conídios com cinco células	7,33-13,03	2,08-4,00
<i>N. saprophyta</i>	BC12	sendo à apical e basal hialinas	9,41-17,71	2,27-3,69
<i>N. saprophyta</i>	L10	apresentando de dois a três apêndices as células medianas pigmentadas variando de marrom a castanho-escuro	8,32-13,00	2,41-3,55

Fonte: NETO, 2021

Todos os isolados foram patogênicos nos cladódios destacados da palma forrageira miúda, sendo observado lesões visíveis no décimo dia após as inoculações, que consistiam em manchas necróticas circulares de coloração marrom que com o progresso da doença se estendeu

de um lado para o outro dos cladódios. Nos tratamentos controle não foram observados sintomas (Figura 3).

Figura 3. Sintomas causados pelos isolados obtidos de *Neopestalotiopsis* obtidos no presente estudo.



Fonte: NETO, 2021

5- DISCUSSÃO

O uso de dados morfológicos para a identificação de espécies pertencentes ao gênero *Neopestalotiopsis* pode acarretar em equívocos e imprecisão no processo de identificação. De acordo com Maharachchikumbura et al. (2014), essas características podem separar apenas os gênero pertencentes ao complexo Pestalotioid (*Pestalotiopsis*, *Pseudopestalotiopsis* e *Neopestalotiopsis*) contudo, o uso de ferramentas moleculares com a amplificação e sequenciamento da regiões ITS e dos genes EF1- α e β -tub são fundamentais para o correto posicionamento taxonômico das espécies do gênero *Neopestalotiopsis* (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2016a; CHEN et al., 2018; SOLARTE et al., 2018).

Nesse estudo utilizou-se dados morfológicos e análises moleculares que permitiram identificar duas espécies de *Neopestalotiopsis*: *N. surinamensis* e *N. saprophyta* associadas a mancha marrom da palma forrageira miúda no Nordeste brasileiro, sendo este o primeiro relato dessas espécies infectando *Nopalea cochenillifera* no mundo.

O gênero *Neopestalotiopsis* possui 25 espécies descritas, relatadas em mais de 40 hospedeiros no mundo, como, *Vitis vinifera* (China e França), *Psidium guajava* (Colômbia) e *Cocos nucifera*, (Indonésia e Tailândia) (FARR; ROSSMAN, 2019; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2016a; JAYWARDENA et al. 2016; SOLARTE et al.,

2018; MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2014; HYDE et al., 2016). No Brasil, em *Virmia guianensis*, árvore de mata atlântica, em *Elaeis guineensis* (palma óleo), em *Syzygins samarangense* (jambuí), em *Acacia mearnsii* (acácia negra) e em *Psidium guajava* (goiabeira) (SILVÉRIO et al., 2016; QUADROS et al., 2015; LEITE et al., 2017; DUIN et al., 2017; SOUZA, 2017).

Neopestalotiopsis surinamensis foi descrita pela primeira vez no Suriname, e foi obtida a partir de solo sob plantio de *Elaeis guineensis* (Arecaceae), e apresenta características filogeneticamente próxima a *N. protearum*. No Brasil já foi relatada em *Wodyetia bifurcata*, conhecida como palmeira rabo de raposa e *Euterpe edulis* também chamada jicára, palmito-jicára, palmito-doce, palmitero e ripeira. A espécie *N. saprophyta*, foi descrita como saprofita em folhas de Magnólia sp. em Yunnan na China em 19 de março de 2002.

As espécies do gênero *Neopestalotiopsis* são importantes como fitopatógenos, e muitas das espécies pertencentes a este complexo foram nomeadas de acordo com sua associação com o hospedeiro e dados morfológicos, caracteres estes não confiáveis para distingui-las de forma confiável, para tanto, uso da filogenia multilocus para o correto posicionamento taxonômicos das espécies de *Neopestalotiopsis* é de grande importância, especialmente com o uso de dados combinados de ITS, β -tub e EF1- α , uma vez que melhoram a resolução na árvore filogenética, assim como realizado no presente estudo (MAHARACHCHIKUMBURA et al. 2011; MAHARACHCHIKUMBURA et al. 2013; MAHARACHCHIKUMBURA et al. 2016).

Na cultura da palma forrageira miúda, foram relatadas espécies de *Neopestalotiopsis*: *N. australis*, *N. protearum* e *Neopestalotiopsis* sp. foram relatadas entre os agentes causadores da mancha marrom no estado de Pernambuco (Conforto et al. 2019), no entanto, nenhum das espécies identificadas anteriormente foram obtidas no presente estudo.

Por fim, nossos resultados identificaram novos agentes etiológicos, *N. surinamensis* e *N. saprophyta*, causando mancha marrom da palma miúda e comprovando uma maior diversidade de espécies de *Neopestalotiopsis* associadas a doença no estado de Pernambuco e podemos ainda incluir *N. surinamensis* como único agente etiológico da mancha marrom da palma miúda no estado de Alagoas. Este estudo fornece dados importantes que podem ser úteis para identificar as melhores medidas de controle para um manejo adequado da mancha marrom da palma forrageira para o Nordeste brasileiro.

6- CONCLUSÃO

As espécies *N. surinamensis* e *N. saprophyta* estão associadas a mancha marrom da palma forrageira miúda no Nordeste brasileiro.

A espécie *N. surinamensis* é o único agente etiológico da mancha marrom no estado de Alagoas.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DUBE, H. C.; BILGRAMI, K. S. *Pestalotia* or *Pestalotiopsis*? **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, Deen Hang, v.29, p.33–54, 1965.

GUBA, E. F. *Monochaetia* and *Pestalotia* vs. *Truncatella*, *Pestalotiopsis* and *Pestalotia*. **Annals of Microbiology**, Milano, v. 7, p. 74–76, 1956.

GUBA, E. F. **Monograph of *Pestalotia* and *Monochaetia***. Cambridge: Harvard University Press, 1961.

HOPKINS, K. E.; MCQUILKEN, M. P. Characteristics of *Pestalotiopsis* associated with hardy ornamental plants in the UK. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 106, n. 1, p. 77-85, 2000.

ISMAIL, S. I; ZULPERI, D.; NORDDIN, S.; AHMAD-HAMDANI, S. First Report of *Neopestalotiopsis saprophytica* Causing Leaf Spot of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) in Malaysia. **Plant Disease**, v.101, n.10, p. 1821, 2017.

JAYAWARDENA, R. S.; LIU, M.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; ZHANG, W.; XING, Q.; HYDE, K. D.; NILTHONG, S.; LI, X. H.; YAN, J. *Neopestalotiopsis vitis* sp. nov. causing grapevine leaf spot in China. **Phytotaxa**, v.258, n.1, p.063–074, 2016.

JEEWON, R.; LIEW, E. C. Y.; SIMPSON, J. A.; HODGKISS, I. J.; HYDE, K. D.

Phylogenetic significance of morphological characters in the taxonomy of

Pestalotiopsis species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v.27, p372-383, 2003.

KRUSCHEWSKY, M. C.; LUZ, E. D. M. N.; BEZERRA, J. L. O GÊNERO *Pestalotiopsis* (ASCOMYCOTA, 'COELOMYCETES') NO BRASIL. **Agrotrópica**, v.26, n.2, p.89-98, 2014.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; GUO, L. D.; CHUKEATIROTE, E.; BAHKALI, A. H.; HYDE, K. D. *Pestalotiopsis*—morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. **Fungal Diversity**, Hong Kong, v. 50, n. 1, p. 167-187, 2011.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; HYDE, K. D.; GROENEWALD, J. Z.; XU, J.; CROUS, P. W. *Pestalotiopsis* revisited. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 79, p. 121– 186, 2014.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; LARIGNON, P.; HYDE, K. D.; AL-SADI, A. M.; LIU, Z. Y. Characterization of *Neopestalotiopsis*, *Pestalotiopsis* and *Truncatella* species associated with grapevine trunk diseases in France. **Phytopathologia Mediterranea**, Firenze, v. 55, n. 3, p. 380-390, 2016.

MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; WU1, S. P.; HYDE, K. D.; AL-SADI, A. M.; LIU, Z. Y. First report of sweet potato leaf spot caused by *Neopestalotiopsis ellipsospora* in Guizhou province, China. **Journal of Plant Pathology**, v.98, n.3, p.677-697, 2016b.

NAG RAJ, T. R. Redisposals and redescriptions in the *Monchaetia Seiridium*, *Pestalotia-Pestalotiopsis* complexes. I. The correct name for the type species of *Pestalotiopsis*. **Mycotaxon**, Ithaca, v.22, p.43–51, 1985.

NIU, X.-Q.; ZHU, H.; YU, F.-Y.; TANG, Q.-H.; SONG, W.-W.; LIU, L.; QIN, W.-Q. First Report of *Pestalotiopsis menezesiana* Causing Leaf Blight of Coconut in Hainan, China. **Plant Disease**, v.99, n.4, p. 554, 2015.

ROSADO, A. W. C.; MACHADO, A. R.; PEREIRA, O. L. Postharvest Stem-End Rot on Immature Coconut Caused by *Pestalotiopsis adusta* in Brazil. **Plant Disease**, v.99, n.7, p.1036, 2015.

SOLARTE, F.; MUÑOZ, C. G.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; ÁLVAREZ, E. Diversity of *Neopestalotiopsis* and *Pestalotiopsis* spp., Causal Agents of Guava Scab in Colombia. **Plant Disease**. v.102, p.49-59, 2018.

STEYAERT, R. L. Contribution à l'étude monographique de *Pestalotia* de Not. Et *Monochaetia* Sacc. (*Truncatella* gen. nov. et *Pestalotiopsis* gen. nov.). **Bulletin du Jardin botanique de l'Etat, /Bulletin van den Rijksplantentuin**, Bruxelles, p. 285- 347, 1949.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes e fungi imperfecti with acervuli and stromata**. Slough: CABI Publishing, 1980.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D. H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. (Ed.). **PCR protocols: a guide to methods and applications**. New York: Academy Press, 1990.

XU, J.; YANG, X.; LIN, Q. Chemistry and biology of *Pestalotiopsis*-derived natural products. **Fungal Diversity**, Hong Kong, v. 66, n. 1, p. 37-68, 2014.