



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

THAYS GABRIELLE LINS DE OLIVEIRA

**FUNGOS ENDOFÍTICOS E FITOPATOGÊNICOS EM FOLHAS DE ABOBRINHA
(*Cucurbita pepo* L.) E PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.), CULTIVADOS
UTILIZANDO SISTEMAS DE MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL EM
PERNAMBUCO**

**RECIFE
2024**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS**

THAYS GABRIELLE LINS DE OLIVEIRA

**FUNGOS ENDOFÍTICOS E FITOPATOGÊNICOS EM FOLHAS DE ABOBRINHA
(*Cucurbita pepo* L.) E PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.), CULTIVADOS
UTILIZANDO SISTEMAS DE MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL EM
PERNAMBUCO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia, Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Biologia de Fungos.

Área de Concentração: Micologia Básica e Aplicada.

Discente: Thays Gabrielle Lins de Oliveira.

Orientador: Prof. Dr. Gladstone Alves da Silva.

Coorientadores: Profa. Dra. Oliane Maria Correia Magalhães e Prof. Dr. Alexandre Reis Machado.

**RECIFE
2024**

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Oliveira, Thays Gabrielle Lins de.

Fungos endofíticos e fitopatogênicos em folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.), cultivados utilizando sistemas de manejo orgânico e convencional em Pernambuco / Thays Gabrielle Lins de Oliveira. - Recife, 2024. 170f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Pós-Graduação em Biologia de Fungos, 2024.

Orientação: Gladstone Alves da Silva.

Coorientação: Alexandre Reis Machado.

Coorientação: Oliane Maria Correia Magalhães.

Inclui referências e apêndices.

1. Cucurbitaceae; 2. Ecologia; 3. Endofitismo; 4. Fitopatógenos; 5. Solanaceae; 6. Taxonomia. I. Silva, Gladstone Alves da. II. Machado, Alexandre Reis. III. Magalhães, Oliane Maria Correia. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

THAYS GABRIELLE LINS DE OLIVEIRA

**FUNGOS ENDOFÍTICOS E FITOPATOGÊNICOS EM FOLHAS DE ABOBRINHA
(*Cucurbita pepo* L.) E PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.), CULTIVADOS
UTILIZANDO SISTEMAS DE MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL EM
PERNAMBUCO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutora em Biologia de Fungos.

Área de concentração: Micologia Básica e Aplicada.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gladstone Alves da Silva (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Neiva Tinti de Oliveira (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Ana Carla da Silva Santos (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Daniele Magna Azevedo de Assis (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Rejane Maria Ferreira da Silva (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus maiores exemplos de amor, fortaleza, sabedoria, coragem e valentia. Aos meus pais, Alderes Oliveira e Vânia Oliveira (*In memoriam*),

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por seu amor, graça e misericórdia. Tu és a fonte suprema de toda sabedoria. Toda a Glória seja a Deus que, por seu grandioso poder que atua em nós, é capaz de realizar infinitamente mais do que poderíamos pedir ou imaginar (Efésios 3:20).

Aos meus pais, Alderes Oliveira e Vânia Oliveira (*In memoriam*), pelo carinho, apoio e amor incondicional. Vocês são meu porto seguro, meus maiores exemplos, meu orgulho, minha inspiração. Vânia Oliveira (*In memoriam*), você deixou um legado lindo que carregarei no peito todos os dias da minha vida. ¡Estarás siempre en mi corazón! Amo vocês!

Ao meu irmão, Thiago Oliveira e minha avó Zuleide Lins, pelo carinho e apoio.

Ao meu sobrinho, Enzo Felipe, pelo amor, por cada sorriso, abraço e incentivo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gladstone Silva, por estar presente em cada etapa deste trabalho, pela confiança concedida, paciência e por cada conhecimento transmitido.

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Alexandre Machado e Prof^ª Dra. Oliane Magalhães, pela paciência e conhecimento transmitido.

Ao grupo de pesquisa de fungos endofíticos do Laboratório de Ecologia e Evolução de Microfungos, pelo companheirismo, amizade, parceria e ajuda nos trabalhos de bancada.

A Rejane Silva, pelo auxílio nas análises ecológicas.

Ao proprietário e funcionários da propriedade Rancho Bela Vista, por permitir o acesso às áreas de cultivo para a realização das coletas.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) e ao Prof. Dr. Antonio Felix, por permitir o acesso às casas de vegetação para realização dos testes de patogenicidade.

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Biologia de Fungos (PPGBF), pelos conhecimentos compartilhados.

Ao corpo discente do PPGBF, em especial a turma de doutorandos 2020.1, pela parceria e amizade.

Aos funcionários da Coleção de Culturas Micoteca URM, do Herbário URM e da secretária do PPGBF.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pelo suporte de infraestrutura que viabilizaram a execução do trabalho.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE IBPG-0823-2.03/20), pelo consentimento da bolsa de incentivo para realização deste trabalho.

RESUMO

Fungos endofíticos são capazes de habitar diferentes tecidos vegetais de forma assintomática e essa associação contribui para o desenvolvimento de atividades vitais em seus hospedeiros. Algumas linhagens de fungos se comportam como organismos oportunistas ou patógenos latentes. Fungos fitopatogênicos estão envolvidos em doenças de pré e pós-colheita de hortaliças economicamente importantes, como a abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) e o pimentão (*Capsicum annuum* L.), que representam 607.000 e 8.141.000 reais, respectivamente, para a economia de Pernambuco. Considerando a importância dessas culturas para o mercado brasileiro e que diferentes práticas agrícolas podem influenciar na estrutura das comunidades fúngicas, os objetivos deste estudo foram determinar a comunidade de fungos endofíticos em folhas de abobrinha e pimentão, verificando se há diferenças nas comunidades de fungos em função de diferentes tipos de cultivos (orgânico e convencional); identificar fungos fitopatogênicos associados às folhas das plantas estudadas, observando a relação entre as espécies de endófitos e de fungos fitopatogênicos encontradas. As coletas foram realizadas em uma propriedade agrícola localizada no município de Chã Grande, PE. Espécies endofíticas e potencialmente patogênicas foram estudadas por uma abordagem polifásica, incluindo morfologia e análises filogenéticas. No presente estudo, 786 isolados de endófitos representando 92 espécies foram obtidos de folhas de pimentão coletadas em áreas de plantio orgânico e convencional. Além disso, relatamos 190 isolados de endófitos representando 82 espécies isoladas de folhas de abobrinha coletadas em ambos os cultivos. A maioria dos táxons foram atribuídos principalmente ao filo Ascomycota. Pleosporales e Glomerellales foram as ordens mais abundantes em folhas de abobrinha e pimentão, respectivamente. *Cladosporium* sp. 2 foi a espécie mais frequente no sistema de cultivo orgânico e convencional da abobrinha. *Colletotrichum* sp. 15 e *Phyllosticta capitalensis* foram as espécies mais frequentes no sistema de cultivo orgânico e convencional do pimentão, respectivamente. Duas novas espécies de *Colletotrichum* isoladas de folhas saudáveis de *Capsicum annuum* foram descritas para a ciência e primeiras ocorrências para o Brasil foram notificadas. A diversidade e a riqueza de espécies de endófitos associados às folhas de abobrinha foram significativamente maiores no sistema de manejo orgânico, enquanto nas folhas do pimentão, a diversidade e a riqueza de espécies foram significativamente maiores no sistema de manejo convencional. As análises de coordenadas principais e a PERMANOVA revelaram que as comunidades endofíticas presentes nas folhas do pimentão podem ser caracterizadas por diferentes práticas agrícolas, porém o mesmo não ocorreu para as

comunidades presentes nas folhas de abobrinha. Alguns isolados podem ser utilizados como indicadores dos diferentes sistemas de cultivo. Vinte e duas espécies de fungos potencialmente patogênicas foram associadas a lesões em folhas de pimentão, enquanto que 25 foram associadas a lesões em folhas de abobrinha. A patogenicidade de *Colletotrichum plurivorum*, *Curvularia intermedia* e *Bipolaris bicolor* nas folhas de abobrinha e *Epicoccum andropogonearum* nas folhas do pimentão, foi confirmada pelo postulado de Koch. Nossos resultados indicam que, espécies consideradas fitopatogênicas podem colonizar tecidos foliares de forma assintomática e expressar estilo de vida não patogênico. Compreender as funções ecológicas dos fungos pode cooperar para o manejo adequado das culturas agrícolas.

Palavras-Chave: *Cucurbitaceae*; ecologia; endofitismo; fitopatógenos; *Solanaceae*; taxonomia.

ABSTRACT

Endophytic fungi are capable of inhabiting different plant tissues asymptotically and this association contributes to development of vital activities in their hosts. Some strains of fungi behave as opportunistic organisms or latent pathogens. Phytopathogenic fungi are involved in pre- and post-harvest diseases of economically important vegetables, such as zucchini (*Cucurbita pepo* L.) and bell pepper (*Capsicum annuum* L.), which represent 607,000 and 8,141,000 reais, respectively, for the economy of Pernambuco. Considering the importance of these crops for the Brazilian market and that different agricultural practices can influence the structure of fungal communities, the objectives of this study were to determine the community of endophytic fungi in zucchini and bell pepper leaves, checking whether there are differences in fungal communities depending on different types of crops (organic and conventional); identify phytopathogenic fungi associated with the leaves of the plants studied, observing the relationship between the species of endophytes and phytopathogenic fungi found. The collections were carried out on an agricultural property located in the municipality of Chã Grande, PE. Endophytic and potentially pathogenic species were studied using a polyphasic approach, including morphology and phylogenetic analyses. In the present study, 786 endophytes isolates representing 92 species were obtained from bell pepper leaves collected from organic and conventional planting areas. Furthermore, we report 190 endophytes isolates representing 82 species isolated from zucchini leaves collected in both cultivations. Most taxa have been assigned primarily to the phylum Ascomycota. Pleosporales and Glomerellales were the most abundant orders in zucchini and bell pepper leaves, respectively. *Cladosporium* sp. 2 was the most common species in the organic and conventional zucchini cultivation system. *Colletotrichum* sp. 15 and *Phyllosticta capitalensis* were the most frequent species in the organic and conventional bell pepper cultivation system, respectively. Two new species of *Colletotrichum* isolated from healthy leaves of *Capsicum annuum* have been described to science and first occurrences for Brazil were reported. The diversity and species richness of endophytes associated with zucchini leaves were significantly greater in the organic management system, while on the bell pepper leaves, diversity and species richness were significantly greater in the conventional management system. Principal coordinate analyzes and PERMANOVA revealed that the endophytic communities present in bell pepper leaves can be characterized by different agricultural practices, but the same did not occur for the communities present in zucchini leaves. Some isolates can be used as indicators of different cultivation systems. Twenty-two potentially pathogenic fungal species were associated with

lesions on bell pepper leaves, while 25 were associated with lesions on zucchini leaves. The pathogenicity of *Colletotrichum plurivorum*, *Curvularia intermedia* and *Bipolaris bicolor* on zucchini leaves and *Epicoccum andropogonearum* on bell pepper leaves was confirmed by Koch's postulate. Our results indicate that species considered phytopathogenic can colonize leaf tissues asymptotically and express a non-pathogenic lifestyle. Understanding the ecological functions of fungi can contribute to the appropriate management of agricultural crops.

Keywords: *Cucurbitaceae*; ecology; endophytism; phytopathogens; *Solanaceae*; taxonomy.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Principais mecanismos envolvidos na interação entre fungos endofíticos e seus hospedeiros vegetais: (a) equilíbrio antagônico representado pelas setas azul, (b) resistência representada pelas setas pretas e (c) os endófitos se transformam em patógenos (setas vermelhas)..... 24
- Figura 2** – Principais características de *Cucurbita pepo*: (A) Planta de hábito ereto, (B) Folhas, (C) Flor e (D) Fruto..... 37
- Figura 3** – Principais características de *Capsicum annuum*: (A) Arbusto, (B) Folha, (C) Flor, (D) Fruto e (E) sementes..... 40
- Figura 4** – Plantas de pimentão adultas com sintomas de murcha (A), crescimento micelial semelhante a algodão (B) e formação de microescleródios sobre o colo de planta infectada (C)..... 42
- Figura 5** – Lesões em frutos de pimentão com características de antracnose..... 43
- Figura 6** – Folhas de pimentão com áreas cloróticas na face superior (A), crescimento micelial branco pulverulento na face inferior (B) e na face superior (C), áreas de lesões necróticas (D)..... 44
- Figura 7** – Lesões da mancha de *Stemphylium* em folhas de pimentão (A) e no pedúnculo dos frutos (B)..... 45
- Figura 8** – Sintomas da podridão de *Sclerotinia* em hastes de plantas de pimentão (A), crescimento micelial e escleródios sobre (B) e no interior das hastes infectadas (C)..... 46
- Figura 9** – Diagrama de Venn mostrando o número de espécies isoladas de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), compartilhadas entre os sistemas de cultivo orgânico e convencional..... 58
- Figura 10** – Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') de fungos endofíticos isolados de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), cultivada em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (con) ($p < 0,05$)..... 59
- Figura 11** – Riqueza de espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), cultivada em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (con) ($p < 0,05$)..... 59
- Figura 12** – Análise de Coordenadas (componentes) Principais (PCoA) baseada na dissimilaridade de Bray-Curtis, mostrando a influência dos sistemas de cultivo convencional (1) e orgânico (2) na composição da comunidade de

| | |
|---|----|
| fungos endofíticos em folhas de abobrinha..... | 60 |
| Figura 13 – Curva de acumulação e extrapolação de espécies, baseada na Diversidade de Shannon, para fungos endofíticos recuperados de folhas de abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i>), cultivada em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (conv)..... | 61 |
| Figura 14 – Colônia em BDA (A); Peritécio (B); Peritécio e ascos (C); Asco (D); Ascósporos (E); Folha de abobrinha com sintomas de doença (F); Sintomas em folhas de abobrinha resultantes da inoculação com <i>Colletotrichum plurivorum</i> após sete dias (G); Folha controle (H). Barras de escala: B = 100 μm e C – E = 10 μm | 63 |
| Figura 15 – Teste de patogenicidade em casa de vegetação (A); Sintomas em folhas de abobrinha resultantes da inoculação com <i>Curvularia intermedia</i> após sete dias (B); Folha controle (C)..... | 63 |
| Figura 16 – Teste de patogenicidade em casa de vegetação (A); Sintomas em folhas de abobrinha resultantes da inoculação com <i>Bipolaris bicolor</i> após sete dias (B); Folha controle (C)..... | 64 |
| Figura 17 – Diagrama de Venn mostrando o número de espécies isoladas de folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>), compartilhadas entre os sistemas de cultivo orgânico e convencional..... | 70 |
| Figura 18 – Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') de fungos endofíticos isolados de folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>), cultivado em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (con) ($p < 0,05$)..... | 71 |
| Figura 19 – Riqueza de espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>), cultivado em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (con) ($p < 0,05$)..... | 71 |
| Figura 20 – Análise de Coordenadas (componentes) Principais (PCoA) baseada na dissimilaridade de Bray-Curtis, mostrando a influência dos sistemas de cultivo convencional (1) e orgânico (2) na composição da comunidade de fungos endofíticos em folhas de pimentão..... | 72 |
| Figura 21 – Curva de acumulação e extrapolação de espécies, baseada na Diversidade de Shannon, para fungos endofíticos recuperados de folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>), cultivado em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (conv)..... | 73 |

Figura 22 – Teste de patogenicidade em casa de vegetação, plantas de pimentão em câmara úmida (A); Sintomas em folhas de pimentão resultantes da inoculação com *Epicoccum andropogonearum* após sete dias (B); Folha controle (C)..... 75

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 – Agroquímicos registrados no Brasil para as culturas de abobrinha e pimentão - "Minor Crops"..... | 34 |
| Tabela 2 – Principais doenças fúngicas que acometem o cultivo da abobrinha..... | 38 |
| Tabela 3 – Principais informações sobre os locais de coleta realizadas em áreas de cultivo convencional e orgânico de abobrinha e pimentão no município de Chã Grande/PE..... | 47 |
| Tabela 4 – Classificação e frequência relativa de fungos endofíticos isolados de folhas de abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i>) mostradas em áreas de sistemas de cultivo orgânico e convencional em Chã Grande/Brasil. A identificação dos isolados fúngicos foi baseada na análise de sequências dos marcadores ITS, LSU, <i>gapdh</i> , <i>tub</i> , <i>tef</i> , <i>act</i> e <i>rpb2</i> , considerado o menor “e-value” e o maior percentual de identidade (Id%), segundo a plataforma NCBI do GenBank..... | 54 |
| Tabela 5 – Espécies endofíticas indicadoras do tipo de cultivo da abobrinha (IndVal \geq 25%, $p < 0,05$)..... | 60 |
| Tabela 6 – Ocorrência de fungos potencialmente patogênicos isolados de folhas de abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i>) com sintomas de doenças fúngicas, cultivada em sistemas de manejo orgânico e convencional..... | 62 |
| Tabela 7 – Classificação e frequência relativa de fungos endofíticos isolados de folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>) mostradas em áreas de sistemas de cultivo orgânico e convencional em Chã Grande/Brasil. A identificação dos isolados fúngicos foi baseada na análise de sequências dos marcadores ITS, LSU, <i>gapdh</i> , <i>tub</i> , <i>tef</i> , <i>act</i> , <i>rpb1</i> e <i>rpb2</i> , considerado o menor “e-value” e o maior percentual de identidade (Id%), segundo a plataforma NCBI do GenBank. Espécies em negrito foram descritas no estudo..... | 65 |
| Tabela 8 – Espécies endofíticas indicadoras do tipo de cultivo do pimentão (IndVal \geq 25%, $p < 0,05$)..... | 72 |
| Tabela 9 – Ocorrência de fungos potencialmente patogênicos isolados de folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>) com sintomas de doenças fúngicas, cultivado em sistemas de manejo orgânico e convencional..... | 74 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------------------------|--|
| % | Porcentagem |
| °C | Centígrados |
| µL | Microlitro |
| µm | Micrômetro |
| AC | Área convencional |
| <i>act</i> | Actin |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| AO | Área orgânica |
| BDA | Batata Dextrose Ágar |
| cm | Centímetros |
| con | Convencional |
| CNPO | Cadastro Nacional de Produtos Orgânicos |
| CSFI | Culturas com Suporte Fitossanitário Insuficiente |
| CTAB | Brometo de cetiltrimetilamônio |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| dNTPs | Desoxirribonucleotídeos Fosfatados |
| g | Gramas |
| <i>gapdh</i> | Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase |
| <i>H'</i> | Índice de diversidade de Shannon-Wiener |
| IBAMA | Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| Id | Identidade |
| IMETRO | Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia |
| IndVal | Indicator Value |
| ITS | Internal transcribed spacer |
| K ₂ SiO ₃ | Silicato de potássio |
| kcal | Quilocaloria |
| km ² | Quilômetro quadrado |
| L | Litro |
| LSU | Large subunit ribosomal |
| m | Metro |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |

| | |
|-------------|--|
| mg | Miligrama |
| mL | Mililitro |
| mm | Milímetro |
| NCBI | National Center for Biotechnology Information |
| org | Orgânico |
| PCR | Polymerase chain reaction |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| <i>rpb1</i> | RNA polymerase II large subunit Rpb1 |
| <i>rpb2</i> | RNA polymerase II |
| SisOrg | Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade Orgânica |
| <i>tef</i> | Translation elongation factor |
| <i>tub</i> | Tubulin |
| UFPE | Universidade Federal de Pernambuco |
| ZYMV | Zucchini yellow mosaic virus |

LISTA DE SÍMBOLOS

β Beta

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 19 |
| 2 | OBJETIVOS | 22 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL..... | 22 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 22 |
| 3 | FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 23 |
| 3.1 | FUNGOS ENDOFÍTICOS..... | 23 |
| 3.2 | TAXONOMIA FÚNGICA..... | 27 |
| 3.3 | FUNGOS FITOPATOGÊNICOS..... | 29 |
| 3.4 | SISTEMAS DE MANEJO AGRÍCOLA: ORGÂNICO E CONVENCIONAL. | 32 |
| 3.5 | ABOBRINHA (<i>Cucurbita pepo</i> L.)..... | 36 |
| 3.6 | PIMENTÃO (<i>Capsicum annuum</i> L.)..... | 39 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 47 |
| 4.1 | ÁREA DE COLETA..... | 47 |
| 4.2 | MATERIAL VEGETAL..... | 48 |
| 4.2.1 | Isolamento de fungos endofíticos | 48 |
| 4.2.2 | Isolamento de fungos fitopatogênicos | 49 |
| 4.3 | CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FUNGOS..... | 49 |
| 4.4 | CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR..... | 49 |
| 4.4.1 | Extração de DNA, amplificação (PCR) e sequenciamento..... | 49 |
| 4.5 | ANÁLISES FILOGENÉTICAS..... | 50 |
| 4.6 | ANÁLISES ECOLÓGICAS E ESTATÍSTICAS..... | 51 |
| 4.7 | TESTES DE PATOGENICIDADE..... | 51 |
| 5 | RESULTADOS | 53 |
| 5.1 | FUNGOS ENDOFÍTICOS DA ABOBRINHA (<i>Cucurbita pepo</i>)..... | 53 |
| 5.1.1 | Diversidade, riqueza e composição de espécies de fungos endofíticos associados a folhas de abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i>), cultivada em sistemas de manejo orgânico e convencional | 58 |
| 5.1.2 | Curva de acumulação de espécies e suficiência amostral de fungos endofíticos associados a folhas de abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i>), cultivada em sistemas de manejo orgânico e convencional | 61 |
| 5.1.3 | Fungos potencialmente patogênicos isolados de folhas de abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i>) com sintomas de doenças fúngicas | 61 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 5.1.3.1 | Teste de patogenicidade em folhas de abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i>)..... | 62 |
| 5.2 | FUNGOS ENDOFÍTICOS DO PIMENTÃO (<i>Capsicum annuum</i>)..... | 64 |
| 5.2.1 | Diversidade, riqueza e composição de espécies de fungos endofíticos associados a folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>), cultivado em sistemas de manejo orgânico e convencional..... | 69 |
| 5.2.2 | Curva de acumulação de espécies e suficiência amostral de fungos endofíticos associados a folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>), cultivado em sistemas de manejo orgânico e convencional..... | 73 |
| 5.2.3 | Fungos potencialmente patogênicos isolados de folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>) com sintomas de doenças fúngicas..... | 74 |
| 5.2.3.1 | Teste de patogenicidade em folhas de pimentão (<i>Capsicum annuum</i>)..... | 74 |
| 6 | DISCUSSÃO..... | 76 |
| 7 | CONCLUSÃO..... | 83 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 84 |
| | APÊNDICE A: ÁRVORES DE MÁXIMA VEROSSILHIMANÇA DAS ESPÉCIES ENDOFÍTICAS E POTENCIALMENTE FITOPATOGÊNICAS ISOLADAS DE FOLHAS DE ABOBRINHA E PIMENTÃO, CULTIVADOS EM SISTEMAS DE MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL..... | 107 |
| | APÊNDICE B: MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA “JOURNAL OF PLANT DISEASES AND PROTECTION”..... | 119 |
| | APÊNDICE C: Artigo aceito na revista Sydowia. Oliveira, T.G.L.; Silva, R.M.F.; Bezerra, J.D.P.; Magalhães, O.M.C.; Souza-Motta, C.M.; Silva, G.A. 2024. Two new endophytic species in the <i>Colletotrichum boninense</i> species complex isolated from leaves of <i>Capsicum annuum</i> in Brazil. Sydowia..... | 128 |
| | APÊNDICE D: MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA “CHECK LIST..... | 154 |

1 INTRODUÇÃO

O sistema orgânico de produção agrícola envolve a manutenção e a potencialização dos recursos naturais na reciclagem de energia e nutrientes de forma segura e sustentável, tanto de forma econômica quanto ecológica, de acordo com as interações dinâmicas entre o ecossistema, biodiversidade, meio ambiente e as comunidades rurais (Brasil, 2003; Muñoz *et al.*, 2016; Silva; Madi, 2021). No Brasil, as técnicas de produção empregadas no plano de manejo de sistemas orgânicos de produção são fundamentadas na normativa orgânica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de nº 46 (Brasil, 2011).

Em contraposição, o manejo convencional utiliza fertilizantes químicos sintéticos e pesticidas em suas práticas agrícolas. Apesar dos fertilizantes e pesticidas serem muitas vezes competentes no aumento da quantidade de nutrientes no solo e no combate às pragas agrícolas e doenças, respectivamente, esses produtos podem levar riscos à saúde dos consumidores, bem como causar ou contribuir para o agravamento de impactos ambientais e ocasionar distúrbios metabólicos nos vegetais (Parween *et al.*, 2014; Azarbad, 2022). Além disso, o manejo convencional pode afetar a diversidade, abundância, riqueza e uniformidade das comunidades endofíticas presentes em seus hospedeiros (Nettles *et al.*, 2016; Stuart *et al.*, 2018; Xia *et al.*, 2019).

Os fungos endofíticos representam um grupo polifilético de organismos que habitam os tecidos vivos de possivelmente todas as plantas, sem causar evidência de doença (Dastogeer *et al.*, 2017). Os endófitos podem atuar no melhoramento do crescimento e biomassa de seus hospedeiros, além de contribuírem para o aumento da produção de frutos (Xia *et al.*, 2019). Ademais, esses organismos podem ser utilizados de forma eficaz como agentes no biocontrole de doenças e pragas nas plantas (Rabiey *et al.*, 2019). Em hortaliças cultivadas no sistema de manejo convencional já foram relatados táxons de fungos endofíticos, tais como *Pichia guilliermondii*, *Trichoderma spirale*, *Fusarium proliferatum*, *Nigrospora* sp., *Aspergillus fumigatus* e espécies de *Colletotrichum*, e no manejo orgânico foram publicados registros de *Trichoderma atroviride*, espécies de *Fusarium*, *Periconia macrospinoso*, *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Cercospora malloti* e *Stemphylium lycopersici* (Xia *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020).

Algumas linhagens de fungos endofíticos também são reconhecidas na literatura por sua patogenicidade, sugerindo a hipótese de que os endófitos evoluíram a partir de fungos parasitas e/ou patógenos ocultos (Pillai, 2017; Strobel, 2018). Acredita-se que este processo

ocorra por um desequilíbrio nas condições interativas e adaptáveis existentes entre planta-entófito-ambiente (Brader *et al.*, 2017).

Os fitopatógenos podem prejudicar as produções e culturas de inúmeras plantações causando danos muitas vezes irreversíveis. Em fazendas comerciais de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) presentes em Sabah (Malásia), Shahriar *et al.* (2023) investigaram a etiologia da antracnose nos frutos e verificaram que os sintomas da doença eram causados por *Colletotrichum truncatum*. A antracnose é uma das doenças mais comuns do pimentão, afetando principalmente a qualidade do fruto pela presença de lesões circulares e necróticas, causando redução considerável na produtividade (Tariq *et al.*, 2017). Por outro lado, *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* é um dos patógenos mais devastadores encontrados na produção de cucurbitáceas, causando podridão da coroa e do pé da abobrinha (Pérez-Hernández *et al.*, 2020).

A abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) pertence à família *Cucurbitaceae*, originada nas Américas do Norte e Central. As cucurbitáceas são hortaliças que se desenvolvem acima do solo. Seus frutos são bem diversos, graças às variedades morfológicas, particularidades e formas das superfícies e seu padrão de cores (Bisognin, 2002; Verdejo-Lucas; Talavera, 2019; Xanthopoulou *et al.*, 2019). A abobrinha geralmente é uniformemente cilíndrica, colhida ainda imatura e pode produzir até três ciclos de cultivo por ano sob ambiente protegido (Paris, 2010; Verdejo-Lucas; Talavera, 2019). Depois da *Solanaceae*, à família *Cucurbitaceae* se destaca entre as culturas de hortaliças com elevada importância econômica, com as maiores produções no Brasil concentradas na região Centro-Sul (Carpes *et al.*, 2008; IBGE, 2017). De acordo com o IBGE, que realizou o Censo Agropecuário em 2017, a produtividade da abobrinha no Brasil chegou a 158.518 toneladas, destas 4.931 toneladas foram produzidas na região Nordeste e 717 em Pernambuco.

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) pertence à família *Solanaceae* e encontra-se entre as dez hortaliças mais comercializadas no mercado brasileiro, com destaque para a produção na região Sudeste, bastante difundida entre os pequenos e médios produtores (Albuquerque *et al.*, 2011; IBGE, 2017). No Brasil, a quantidade de pimentão produzida chegou a 224.286 toneladas. A região Nordeste (57.239 toneladas) se encontra em segundo lugar no ranking nacional e Pernambuco (8.460 toneladas) é o sétimo produtor entre as Unidades da Federação (IBGE, 2017). O pimentão pode ser produzido em campo aberto, principalmente sob condições climáticas de regiões tropicais e subtropicais, porém seu cultivo em ambientes protegidos tem se fortalecido por estar bem adaptado a esse tipo de plantio (Halász *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2017).

Tendo em vista a importância das culturas destacadas acima, e considerando a influência na comunidade fúngica, a depender do tipo de manejo no cultivo desses vegetais, esse trabalho tem como objetivo demonstrar o impacto que diferentes cultivos de abobrinha e pimentão (orgânico e convencional) apresentam na comunidade de fungos endofíticos e fitopatogênicos. O impacto dos agrotóxicos sobre a comunidade endofítica pode prejudicar, inclusive, o desenvolvimento do vegetal, já que muitas espécies de fungos atuam para o bem-estar da planta hospedeira. Além disso, será observada a comunidade de fungos potencialmente fitopatogênicos nos cultivos, o que também será determinante para entender como os agrotóxicos atuam na interação fungo endofítico - fungo patógeno - planta.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a comunidade de fungos endofíticos em folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.), verificando se há diferenças nas comunidades de fungos em função de diferentes tipos de cultivos (orgânico e convencional); identificar fungos fitopatogênicos associados às folhas das hortaliças estudadas, observando a relação entre as espécies de fungos endofíticos e de fungos fitopatogênicos encontradas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Caracterizar a partir de análises morfológicas e filogenéticas os fungos endofíticos presentes em folhas sadias de abobrinha e pimentão;
- II. Caracterizar a partir de análises morfológicas e filogenéticas os fungos causadores de doenças presentes em folhas de abobrinha e pimentão;
- III. Verificar a frequência de ocorrência dos fungos endofíticos isolados;
- IV. Comparar a diversidade e riqueza dos fungos endofíticos encontrados nas folhas das diferentes espécies vegetais nos diferentes sistemas de manejo;
- V. Verificar a similaridade das comunidades de fungos endofíticos encontrados de acordo com os diferentes sistemas de manejo;
- VI. Verificar a relação entre as espécies de fungos endofíticos e as espécies de fungos fitopatogênicos encontrados em folhas de abobrinha e pimentão;
- VII. Testar a patogenicidade de algumas das espécies fúngicas que forem encontradas associadas às folhas doentes e que ainda não foram relatadas na literatura como patógenas de folhas de abobrinha e pimentão;
- VIII. Descrever táxons novos e relatar novas ocorrências de fungos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS

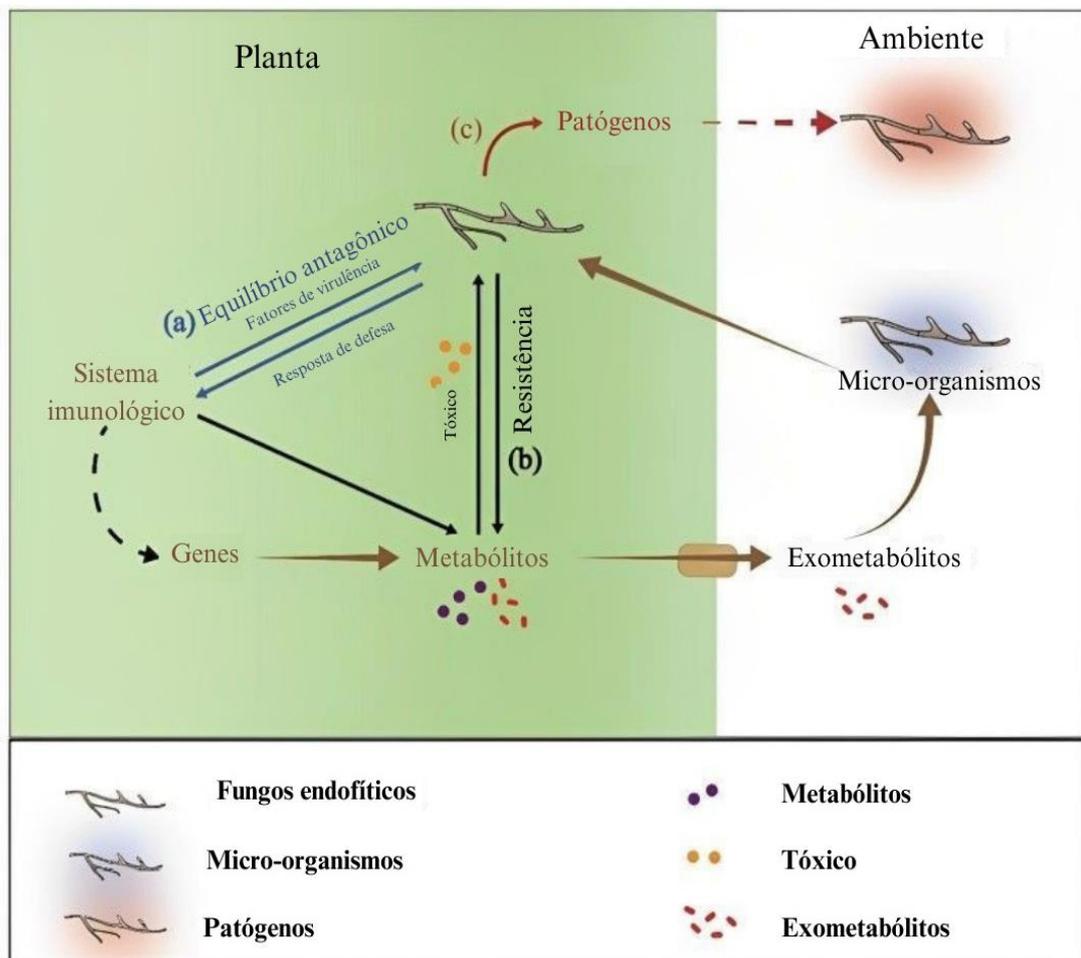
Originado das palavras gregas “endon” – dentro e “phyton” – planta, o termo endófito foi proposto por Bary (1866) para designar organismos que ocorrem dentro dos tecidos vegetais e, portanto, se refere ao estado ou estilo de vida no qual microrganismos, como fungos e bactérias se encontram colonizando o interior das plantas. Deste modo, os fungos endofíticos são organismos que habitam os espaços intra e/ou intercelular de diferentes tecidos vegetais de forma assintomática, ou seja, sem causar qualquer dano visível à estrutura de seus hospedeiros ao longo de pelo menos uma parte do seu ciclo de vida. Podem ser cosmopolitas, endêmicos ou habitar hospedeiros específicos (Schulz; Boyle, 2005; Rodriguez *et al.*, 2009; Harrison; Griffin, 2020).

Acredita-se que a coexistência desta parceria ocorreu a milhões de anos atrás, com base na descoberta de registros fósseis de endófitos que datam mais de 400 milhões de anos (Mengistu, 2020). Dentro da hipótese do “cenário verde” os fungos coevoluíram seguindo seus hospedeiros vegetais em suas adaptações para a transição e conquista do habitat terrestre (Naranjo-Ortiz; Gabaldón, 2019a). Com isso, as plantas teriam ganhado mais resistência ao ataque de organismos patogênicos, adquirindo melhores condições de crescimento e desenvolvendo estratégias em resposta à colonização fúngica (Fontana *et al.*, 2021). Alguns endófitos apresentam especificidade de hospedeiro e esta relação mostra a capacidade adaptativa durante a coevolução e coabitação destes organismos e seus respectivos hospedeiros vegetais, desenvolvendo ao longo dessa interação sistemas genéticos complementares (Aly; Debbab; Proksch, 2011).

O processo de colonização tecidual pelo endófito compreende, entre outras atividades, o reconhecimento do hospedeiro e a penetração no tecido vegetal. Neste processo são ativados sinais químicos, envolvendo o metabolismo de proteínas e enzimas de ambos os organismos. Os endófitos, precisando sobreviver dentro de um ambiente oxidativo, desativam as defesas da planta e secretam enzimas de resistência contra a quimiotaxia produzida pelo hospedeiro vegetal em resultado da detecção desses organismos em seus tecidos (Jia *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2019). Esse processo de estabilidade entre as respostas de defesa pressupõe a hipótese do equilíbrio antagônico (Schulz *et al.*, 1999; Yan *et al.*, 2019) entre a planta e a sobrevivência assintomática dos fungos endofíticos (Figura 1).

A comunicação entre fungo e planta é estabelecida com sucesso e o processo de interação simbiótica é constituído pela regulação e expressão dos genes, fenótipos e metabolismo dos hospedeiros (Yan *et al.*, 2019). Uma única planta pode abrigar diferentes assembleias de endófitos dentro de um tecido vegetal específico (nicho ecológico único) e a distribuição desses endófitos leva a hipótese de que esses táxons específicos reagem de maneiras distintas às casualidades ecológicas, além de permanecerem em diferentes cursos evolutivos (Harrison; Griffin, 2020).

Figura 1 – Principais mecanismos envolvidos na interação entre fungos endofíticos e seus hospedeiros vegetais: (a) equilíbrio antagonônico representado pelas setas azul, (b) resistência representada pelas setas pretas e (c) os endófitos se transformam em patógenos (setas vermelhas).



Fonte: Adaptada de Yan *et al.* (2019, p. 3332).

Quando essa interação flexível sofre alguma perturbação e assim é desestabilizada, seja na defesa da planta, mudanças ambientais ou no potencial de virulência dos endófitos, a colonização passa a ser patogênica e sintomática. Entretanto, nem todos os fungos têm a capacidade de atuar como patógenos (Yan *et al.*, 2019). Este tipo de interação pode ser

desestruturado por mudanças fisiológicas e interferências nas vias de sinalização encarregadas por esta associação dinâmica (Eaton; Cox; Scott, 2011) e pela necessidade de luz, pois a alta intensidade de luz induz a produção de H₂O₂ desencadeando a patogenicidade do endófito (Álvarez-Loayza *et al.*, 2011). Portanto, os patógenos podem viver dentro de seus hospedeiros por um período de tempo sem causar nenhum sintoma durante sua fase de latência (Hrycan *et al.*, 2020; Précigout *et al.*, 2020; YE *et al.*, 2021).

Esses endófitos são recrutados do próprio ambiente onde a planta reside e podem surgir da rizosfera, do ar e de excrementos e restos de animais e insetos, penetrando na superfície foliar, além das camadas externas dos sistemas radiculares (Yan *et al.*, 2019). O padrão de transmissão dos fungos endofíticos pode ocorrer de forma horizontal nos tecidos acima do solo entre diferentes hospedeiros envolvendo qualquer agente de dispersão, seja biótico ou abiótico, além dos esporos ou fragmentos de hifas circundantes no ambiente, oferecendo assim uma comunidade endofítica heterogênea. A transmissão também pode ocorrer de forma vertical durante a germinação das sementes quando os endófitos presentes na planta-mãe passam para seus descendentes durante seu desenvolvimento. Este tipo de transmissão é mais frequente em espécies de gramíneas (Yan *et al.*, 2019; Grabka *et al.*, 2022).

Um relatório desenvolvido pelo Royal Botanic Garden (RBG KEW, 2016) estimou que 391.000 espécies de plantas vasculares são conhecidas pela ciência e que 94,4% destas são plantas com flores. Em 2019, 1.942 espécies de plantas e 1.886 espécies de fungos foram registrados cientificamente (Antonelli *et al.*, 2020). Estima-se a existência de cerca de 2,5 milhões de espécies de fungos, o que representa aproximadamente 20% das espécies eucarióticas. Além disso, mais de 90% das espécies estimadas não são conhecidas. Levando em consideração os principais biomas existentes, a Amazônia e a Mata Atlântica na América do Sul, acolhem a maior diversidade fúngica do solo, patógenos e endófitos (Niskanen *et al.*, 2023).

Uma grande diversidade de fungos endofíticos pode ser encontrada em vários tecidos como raízes, folhas, sépalas, caules, flores, sementes e frutos de diferentes espécies de plantas vasculares e não vasculares residentes e distribuídas globalmente em regiões de clima polar, úmido e seco. Esses organismos consistem em membros de Ascomycota, Basidiomycota e fungos zigospóricos (Zhang *et al.*, 2013; Bezerra *et al.*, 2015; Yao *et al.*, 2017; Hanin; Fitriasari, 2019; Knapp *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Oliveira, T. *et al.*, 2020; Vidal *et al.*, 2020; Oita *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2023).

Os fatores que moldam a estrutura da comunidade, os padrões de distribuição e colonização dos fungos endofíticos podem ser influenciados por ambientes complexos e bastante heterogêneos, além de alguns aspectos, como a genética dos hospedeiros vegetais, idade e identidade da planta, estágio fenológico, tipo de tecido, clima, estação do ano, sazonalidade, diferentes altitudes e composição da paisagem (Bailey *et al.*, 2005; Hilariano *et al.*, 2011; Materatski *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020; Oliveira, R. *et al.*, 2020; Oita *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2023). Ainda, a maneira como essas plantas são cultivadas, seja em sistemas de cultivo orgânico ou convencional, pode influenciar significativamente a diversidade e abundância das espécies fúngicas endofíticas (Oliveira *et al.*, 2014a; Radić *et al.*, 2014; Xia *et al.*, 2019).

Os fungos endofíticos e sua interação com as plantas modulam diversos aspectos relacionados com a ecologia e fisiologia de seus hospedeiros por apresentarem inúmeras estratégias que influenciam atividades vitais para a planta, por exemplo, funcionando como mediadores na absorção do fósforo e conseqüentemente favorecendo o crescimento e a fertilidade das plantas (Hiruma *et al.*, 2016). Por outro lado, bactérias endógenas (endossimbióticas) presentes nos fungos endofíticos podem alterar a interação entre o fungo e o hospedeiro vegetal, aumentando a produção do fitohormônio ácido indol-3-acético pelo endófito, importante para o desenvolvimento da planta (Hoffman *et al.*, 2013).

Ademais, os fungos endofíticos podem induzir a tolerância a estresses bióticos e abióticos funcionando como intermediários entre as respostas das plantas perante as mudanças do ambiente (Baltruschat *et al.*, 2008; Hubbard; Germida; Vujanovic, 2014; Lata *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2021), podem produzir metabólitos com propriedades inseticidas úteis para o manejo de artrópodes (Berestetskiy; Hu, 2021), atuam contra possíveis ataques de fitopatógenos, produzindo moléculas e compostos fenólicos que induzem modificações na parede celular do vegetal (Mengistu, 2020), ou até mesmo como agentes de controle biológico e indutores no processo de resistência induzida a fitopatógenos (Yao *et al.*, 2017; Fontana *et al.*, 2021). Com esta peculiar relação os endófitos recebem proteção, nutrientes orgânicos, conquistam habilidades de competição e a possibilidade de transmissão para as futuras gerações de plantas hospedeiras (Mengistu, 2020; Grabka *et al.*, 2022).

Os endófitos utilizam mecanismos de efeito direto como a produção de antibióticos e a secreção de enzimas líticas na proteção de plantas contra patógenos. Além disso, utilizam efeitos indiretos relacionados a estimulação da produção de fitoalexinas (moléculas antimicrobianas) pelas plantas e efeitos ecológicos na ocupação espacial do nicho dos tecidos vegetais como auxílio na proteção contra patógenos (Gao; Dai; Liu, 2010). Por exemplo,

espécies endofíticas de *Epichloë* presentes em *Achnatherum sibiricum* amenizaram significativamente os danos causados pelo patógeno *Curvularia lunata*, bem como outros patógenos da Ordem Erysiphales (Shi *et al.*, 2020).

A função como biocontrolador de fitopatógenos pode ser explorada no manejo integrado de doenças de plantas, melhoramento a manutenção de sistemas agrícolas, nos quais o endófito pode ser utilizado de forma alternativa como bioinoculante, para reduzir a necessidade do uso de pesticidas sintéticos e conseqüentemente trazer benefício na produtividade das culturas (Orozco-Mosqueda *et al.*, 2021; Adeleke *et al.*, 2022). Segundo Chen *et al.* (2020), entender o papel ecológico dos endófitos pode trazer benefícios para as lavouras por meio da criação de estratégias que possibilitem a manutenção do habitat, principalmente para o gerenciamento de pragas nos cultivos.

Ao longo do tempo, os endófitos têm despertado a atenção da biotecnologia por serem organismos capazes de sintetizar diversas moléculas bioativas e produtos naturais que podem ser utilizados como recursos terapêuticos (Rajamanikyam *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2022). Esses novos compostos quimicamente diversos que incluem alcaloides, esteroides, terpenoides, compostos aromáticos e saponinas, por exemplo, atuam principalmente como fontes primárias promissoras para produtos farmacêuticos antibacterianos, antivirais, antiparasitários, imunomoduladores, antidiabéticos, antitumorais, antioxidantes e anti-inflamatórios (Fadiji; Babalola, 2020; Manganyi; Ateba, 2020; Adeleke; Babalola, 2021). Ademais, estudos que envolvem atividades antifúngicas podem nortear a identificação de novos compostos secundários naturais para a produção sustentável de novos agroquímicos (Deshmukh *et al.*, 2020).

3.2 TAXONOMIA FÚNGICA

A identificação polifásica dos fungos para delimitação de espécies inclui ferramentas de diagnóstico baseadas na fenotipagem, perfil fisiológico e proteico com a utilização da espectrometria de massa de tempo de voo de dessorção/ionização a laser assistida por matriz (MALDI-TOF), além de sequências de DNA ou reconstrução filogenética (Lücking *et al.*, 2020; Lücking *et al.*, 2021).

A análise fenotípica dos espécimes é uma ferramenta importante para a catalogação da diversidade fúngica (Lücking *et al.*, 2020; Lücking *et al.*, 2021). O diagnóstico das estruturas vegetativas e das características morfológicas sexuais e assexuais dos fungos demanda uma investigação cuidadosa por exames microscópicos (Lücking *et al.*, 2020). Alguns critérios

como a coerência genealógica, o isolamento reprodutivo e a distinção fenotípica são indispensáveis para a delimitação de espécies (Lücking *et al.*, 2020).

A falta de divergência fenotípica entre alguns táxons pode estar relacionada a evolução homoplásica e uma disjunção entre o momento da separação genealógica e fenotípica, levando assim o surgimento de táxons fenotipicamente crípticos (Lücking *et al.*, 2020). Com base no fenótipo, taxonomistas utilizam como ferramentas de identificação chaves dicotômicas tradicionais a chaves interativas computadorizadas, descrições originais de espécimes incluindo culturas e imagens para caracterizar grupos fúngicos (Lücking *et al.*, 2020).

Regras de nomenclatura são estabelecidas pelo Código Internacional de Nomenclatura para algas, fungos e plantas (<https://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php>) (Wang *et al.*, 2023). Com o avanço do sequenciamento do DNA, nomenclaturas duplas para um único fungo passaram para uma nova definição “um fungo, um nome”, combinando assim as formas sexuais e assexuais (Lücking *et al.*, 2020). Novos táxons precisam estar vinculados a uma numeração, ou seja, um identificador emitido por repositórios reconhecidos que funcionam como banco de dados, como o Index Fungorum (IF, <http://indexfungorum.org/Index.htm>), o MycoBank (MB, <https://www.mycobank.org/>) e o mais recente Fungal Names (FN, <https://nmdc.cn/fungalnames/>) (Wang *et al.*, 2023).

Táxons individuais podem ser identificados com marcadores de DNA, enquanto que a resolução da taxonomia de complexos de espécies pode requisitar abordagens filogenômicas (Lücking *et al.*, 2021). Sequências do espaçador transcrito interno (ITS) são utilizadas como o primeiro código de barras de DNA para identificação dos fungos devido ao seu alto grau de variabilidade interespecífica e regiões conservadoras, porém evoluções específicas dentro dos grupos fúngicos requer a implementação de códigos de barras de DNA secundários (alinhamento de sequências múltiplas) como alternativa para fornecer maior precisão nas análises (Cuadros-Orellana *et al.*, 2013; Lücking *et al.*, 2020; Zhou; Maio, 2022).

Novas abordagens moleculares como a metagenômica trouxe avanços substanciais para a taxonomia e conseqüentemente uma alternativa promissora para estudos do barcoding de DNA (Lücking *et al.*, 2020). Segundo Zhou e Maio (2022), a metagenômica facilitará a compreensão e a proteção das funções ecológicas dos fungos. Em uma escala genômica, menos de 1% das espécies fúngicas descritas, o que corresponde a cerca de mil espécies, foram sequenciadas por genoma (Zhou; Maio, 2022).

Algumas linhagens de fungos estão sendo representadas apenas por dados de sequência de sequenciamento de alto rendimento (metabarcodificação ambiental) para

registrar a diversidade de fungos em uma escala global (Lücking *et al.*, 2021). Métodos de metagenômica fúngica como a metagenômica direcionada e shotgun, utilizando amostras ambientais podem facilitar o conhecimento e o descobrimento de espécies não cultiváveis, observando a relação da composição e a avaliação da estrutura da comunidade e do conteúdo genético (Cuadros-Orellana *et al.*, 2013; Naranjo-Ortiz; Gabaldón, 2019b; Zhou; Maio, 2022).

Além da caracterização de comunidades microbianas, técnicas de sequenciamento de alto rendimento permitem estudos voltados para o manejo, melhoramento e controle de doenças, como também a seleção de microrganismos associados às funcionalidades ecológicas no comportamento fungo-planta em diferentes ambientes (Langa-Lomba *et al.*, 2023; Mesquita *et al.*, 2024).

A taxonomia dos fungos forma um clado monofilético hiperdiverso dividido em nove linhagens: Opisthokonta, Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blastocladiomycota, Zoopagomycota, Mucoromycota, Glomeromycota, Ascomycota e Basidiomycota, onde Ascomycota representa o maior filo fúngico com cerca de dois terços das espécies descritas (Naranjo-Ortiz; Gabaldón, 2019b). Segundo Naranjo-Ortiz e Gabaldón (2019b), estudos filogenômicos confirmaram a monofilia dos Ascomycota e Basidiomycota, como também organizaram o grupo dos fungos zigospóricos em um conjunto definido de linhagens filogenéticas.

3.3 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Fungos fitopatogênicos são organismos que causam danos ao invadir os tecidos do hospedeiro, perturbando suas principais funções vitais. Podem acarretar diminuição da qualidade e rendimento das culturas e conseqüentemente gerar graves perdas na produtividade das colheitas (Crous *et al.*, 2019; Jain *et al.*, 2019; Peng *et al.*, 2021). Esses patógenos adotam estilos de vida diferentes de acordo com sua interação trófica com o hospedeiro, levando em consideração o processo de invasão e colonização das células vegetais. Portanto, podem ser caracterizados como necrotróficos, quando causam a morte das células e disseminam a necrose durante a infecção; biotróficos, quando colonizam o tecido vivo; e hemibiotróficos, quando combina os estilos de vida biotrófico (crescimento somático) e necrotrófico (produção de esporos) (Doehlemann *et al.*, 2017; Précigout *et al.*, 2020).

Mais de 19.000 fungos são conhecidos como causadores das principais doenças, tais como podridão, murcha, tombamento, antracnose e ferrugem em plantas cultivadas mundialmente (Jain *et al.*, 2019). Evidências fósseis com cerca de 250 milhões de anos já

registravam as doenças que afetam as plantas e conseqüentemente a coevolução recíproca e a seleção mútua entre os patógenos e seus hospedeiros (Santini *et al.*, 2018; Peng *et al.*, 2021). Algumas cepas de fungos potencialmente patogênicas perdem ou reduzem a capacidade de causar doença e acabam ocupando o nicho vegetal, quando genes de patogenicidade são interrompidos (Idnurm; Howlett, 2001).

Um desequilíbrio na relação simbiótica entre os fungos endofíticos e seus hospedeiros vegetais produz redução da aptidão do vegetal e o aparecimento de sintomas de doenças, logo, a relação pode passar ao parasitismo (Yan *et al.*, 2019). A base dos estudos que modulam a compreensão dos principais fatores que determinam a mudança no estilo de vida do fungo endofítico para potencialmente patogênico estão voltados para fatores genéticos, bioquímicos e fisiológicos dos fungos, porém os resultados ainda não são bem esclarecidos (Kogel; Franken; Hüchelhoven, 2006; Tanaka *et al.*, 2006). Segundo Xu *et al.* (2016), padrões divergentes na expressão de secretomas envolvidos na quebra da parede celular vegetal e nos processos de oxirredução exibem diferenças relacionadas a interações mutualísticas e patogênicas dos fungos.

No processo de infecção e colonização, alguns patógenos secretam proteínas efetoras (pequenos peptídeos ricos em cisteína) apoplásticas e/ou intracelulares de virulência, tais como fitohormônios e pequenos RNAs para aniquilar ou resistir às principais defesas da planta, suprimir a imunidade inata do vegetal, estimular a morte celular e/ou manipular seus processos biológicos (Xu *et al.*, 2016; Tariqjaveed *et al.*, 2021; Peng *et al.*, 2021). Os patógenos utilizam estruturas como hifas invasoras e haustórios para excretar os efetores (Tariqjaveed *et al.*, 2021). Segundo Dodds (2010), proteínas efetoras altamente diversas contribuem para a abundância de hospedeiros e especiação do parasita, além disso, como modo de adaptação, às mesmas evoluem rapidamente. Outros compostos orgânicos como as proteínas G heterotriméricas (Meena *et al.*, 2019), enzimas de degradação da parede celular e cutícula, reguladores de crescimento e seus análogos que perturbam os níveis hormonais endógenos das plantas (Peng *et al.*, 2021) também são relevantes na regulação da patogenicidade dos fungos fitopatogênicos.

Os fungos fitopatogênicos podem utilizar mecanismos como a transferência horizontal de genes e a transferência horizontal de cromossomos para conquistarem novos hospedeiros, isso pode ser observado em cromossomos envolvidos na produção de toxinas específicas do hospedeiro que auxiliam cepas não patogênicas de *Alternaria* a se tornarem patogênicas e se adaptarem às novas variedades de plantas (Mehrabi *et al.*, 2011). As toxinas liberadas pelos fitopatógenos são compostos não enzimáticos de baixo peso molecular que provocam danos

muitas vezes irreversíveis e estão relacionadas a expressão dos principais sintomas como necrose, clorose, podridão, murchamento, cancro, manchas foliares e doenças vasculares (Andolfi *et al.*, 2011; Akpaninyang; Opara, 2017; Peng *et al.*, 2021).

Os patógenos fúngicos representam uma preocupante ameaça na redução quantitativa e qualitativa de produções agrícolas de culturas economicamente importantes que geram grandes rendimentos durante todo o ano, e o acometimento das plantas por fitopatógenos causam impactos sociais catastróficos e reduzem a segurança alimentar (Jain *et al.*, 2019; Savary *et al.*, 2019; Ristaino *et al.*, 2021). Por exemplo, epidemias de ferrugem da soja no Brasil e Paraguai causada pelo patógeno *Phakopsora pachyrhizi*, entre os anos de 2001 e 2003, causaram grandes prejuízos. Apenas em 2003, a doença foi registrada em 90% dos campos no território brasileiro e perdas de 2,2 milhões de toneladas métricas de grãos de soja foram projetadas, significando um prejuízo de 487,3 milhões de dólares (Yorinori *et al.*, 2005). Segundo dados catalogados pelo Consórcio Antiferrugem (2023), o Brasil registrou diminuição no número de ocorrências dessa doença na safra 2022/23 com 295 casos em comparação aos ciclos anteriores das safras 2020/21 e 2021/22 que registraram respectivamente, 385 e 573 casos.

Segundo Santini *et al.* (2018), a persistência a longo prazo e a estabilidade do ecossistema resultam de intensas pressões de seleção nas populações de patógenos e hospedeiros geradas durante as epidemias. Hampf *et al.* (2021), mapeando a distribuição espacial das principais doenças da soja e do milho no sul da Amazônia, observaram que a ferrugem do milho, antracnose e a mancha foliar estão entre as doenças mais severas das culturas de milho e soja, respectivamente. As doenças e pragas que afetam culturas de soja e milho podem acarretar perdas anuais de rendimento por volta de 3,75 milhões de toneladas nas safras e dois bilhões de dólares de desvantagem econômica.

Doenças fúngicas associadas à pré e pós-colheita podem causar destruição dos frutos e até mesmo a morte das plantas, acarretando, conseqüentemente, prejuízos na comercialização dos produtos. Por muitas vezes, para o controle dos fungos fitopatogênicos, os produtores utilizam defensivos agrícolas tóxicos que podem provocar sérios danos nos sistemas biológicos naturais e desencadear o desenvolvimento da resistência nos fungos (Hahn, 2014; Peng *et al.*, 2021). A busca por alternativas não poluentes e eficazes vêm ganhando ênfase em todo o mundo e o uso de antagonistas fúngicos como método viável na aplicação do controle biológico tem demonstrado sua importância para a construção de sistemas agrícolas sustentáveis (Thambugala *et al.*, 2020). Novas tecnologias, como a síntese de nanopartículas biorreduzidas estáveis, econômicas e ecologicamente corretas extraídas de extratos vegetais

são capazes de suprimir patógenos fúngicos e promover o crescimento das plantas (El-Baky; Amara, 2021).

3.4 SISTEMAS DE MANEJO AGRÍCOLA: ORGÂNICO E CONVENCIONAL

O sistema de manejo orgânico envolve práticas que promovem a conservação, sustentabilidade e biodiversidade, estimulando interações ecológicas benéficas, além de desempenhar um papel positivo na segurança alimentar global (Reganold; Wachter, 2016; Blundell *et al.*, 2019). Essas práticas incluem métodos de diversificação de culturas e a utilização de cobertura morta (Blundell *et al.*, 2019; Iqbal *et al.*, 2020).

Alimentos orgânicos detêm menos ou nenhum resíduo de insumos sintéticos, como biocidas e fertilizantes (Reganold; Wachter, 2016). A nutrição a base de alimentos orgânicos provoca um maior consumo de micronutrientes antioxidantes e compostos fenólicos, vitaminas C, ferro, substâncias supressoras de ações mutagênicas e menos nitrato, em contraste aos alimentos produzidos convencionalmente (Crinnion, 2010; Lairon, 2010; Kazimierczak *et al.*, 2019).

No Brasil, a produção e comercialização de produtos orgânicos passa por uma certificação compulsória estabelecida pela Lei Federal nº 10.831/2003, regulamentada pelo Decreto nº 6.323/2007 (MAPA, 2023). De acordo com a Lei Federal nº 10.831/2003 sancionada:

“Art. 1º Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente (Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, p. 1).”

Os produtos oriundos da agricultura orgânica são regulamentados e inspecionados por intermédio de auditorias pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro), nos quais determinam as instruções normativas, diretrizes e regulamentos técnicos necessários para a conversão de propriedades, produção, plano de manejo, práticas e a utilização de insumos permitidos nos sistemas orgânicos de produção (MAPA, 2023). Em 20 de junho de 2014, a

Instrução Normativa nº 18 instituiu o selo oficial do Sistema Brasileiro de Avaliação da Conformidade Orgânica (SisOrg), bem como estabeleceu as exigências para a sua utilização (MAPA, 2023).

Dados do Censo Agropecuário 2017 (IBGE, 2017) revelam que no Brasil existem 68.716 estabelecimentos agropecuários certificados para a produção orgânica, número que demonstrou um crescimento exponencial comparado ao Censo realizado em 2006. A relação das unidades de produção orgânica, bem como os produtos comercializados no Brasil e consequentemente a listagem dos órgãos fiscalizadores pode ser obtida desde 2011 pelo Cadastro Nacional de Produtos Orgânicos (CNPO) no site disponibilizado pelo MAPA (Vilela *et al.*, 2019).

Apesar da característica sustentável que evidencia a produção adequada de alta qualidade juntamente com a melhoria e utilização dos recursos naturais, a agricultura orgânica na maioria dos casos apresenta uma produtividade menor em consideração ao rendimento quando comparada à agricultura convencional. Porém, é um segmento do mercado de alimentos que vem crescendo rapidamente e ganhando adeptos, graças aos altos valores benéficos para a saúde humana e o meio ambiente (Reganold; Wachter, 2016; Shennan *et al.*, 2017; Blundell *et al.*, 2019; Azarbad, 2022).

A criação de tecnologias inovadoras gera sustentabilidade e opções limpas no campo da agricultura orgânica, por exemplo, a utilização de bioestimulantes a base de extrato de folha de *Eucalyptus camaldulensis* acrescido de silicato de potássio (K_2SiO_3) e *Trichoderma viride* (10^6 esporos/ml) + K_2SiO_3 (500 mg/L) provoca um aumento significativo na produtividade de frutos de abobrinha (Abd-Elkader *et al.*, 2022). Ademais, essas tecnologias enfatizam práticas de conservação do solo e da água (Reganold; Wachter, 2016), enriquecimento dos teores de carbono e nitrogênio (Blundell *et al.*, 2019; Lori *et al.*, 2022), além da utilização de variedades resistentes para o melhoramento vegetal, a exemplo, de *Cucurbita pepo* var. *cylindrica*, empregada como resistente à doença do oídio em culturas de abobrinha (Margaritopoulou *et al.*, 2022).

Métodos de diversificação de culturas são responsáveis pelo manejo natural de pragas e nutrientes dentro da agricultura orgânica (Shennan *et al.*, 2017; Blundell *et al.*, 2019). Melhorias nas técnicas de manejo orgânico impulsionam o aumento da diversidade, composição, riqueza, uniformidade e atividade microbiana nos solos (Azarbad, 2022; Lori *et al.*, 2022).

O sistema convencional de produção de alimentos, por sua vez, recorre a produtos químicos para a manutenção de culturas agrícolas, levando ao acúmulo de pesticidas no solo,

o que pode gerar impactos negativos no ecossistema como o desequilíbrio na diversidade biológica, contaminação de lençóis freáticos e a redução da capacidade e eficiência dos organismos em degradar os compostos químicos. Além disso, pode provocar o desenvolvimento de cepas resistentes (Azarbad, 2022; Khalil *et al.*, 2023). O impacto dessas pulverizações químicas necessita de ações de vigilância e controle.

A Lei dos Agrotóxicos nº 7.802, de 11 de julho de 1989, regulamentada pelo Decreto nº 4.074/2002, estabelece em todo território brasileiro os princípios e regras para produção, armazenamento, comércio e utilização de produtos e/ou agentes de processos físicos, químicos e biológicos que têm como finalidade alterar a composição da flora ou fauna. Órgãos competentes como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA e o MAPA são responsáveis pelas avaliações de riscos e impactos na saúde, meio ambiente e eficácia agrônômica, respectivamente, para a obtenção e emissão dos registros dos agroquímicos (MAPA, 2017).

As culturas de abobrinha e pimentão estão entre aquelas para as quais há um número reduzido de agrotóxicos e afins registrados para uso. Em função disso existe um baixo atendimento das demandas fitossanitárias para essas culturas, colocando-as assim como Culturas com Suporte Fitossanitário Insuficiente (CSFI), também conhecidas como "Minor Crops", estabelecida pela Instrução Normativa Conjunta nº 1, de 23 de fevereiro de 2010 (MAPA, 2017). Os principais produtos registrados e suas respectivas classes agrônômicas para a utilização nas culturas de abobrinha e pimentão estão listadas na tabela 1.

Tabela 1 – Agroquímicos registrados no Brasil para as culturas de abobrinha e pimentão - "Minor Crops".

| MARCA COMERCIAL | INGREDIENTE ATIVO | CLASSE AGRONÔMICA | CULTURAS |
|------------------------|--|--------------------------|---------------------|
| Fortuna 800 WP | Mancozebe | Acaricida, fungicida | Pimentão* |
| Redshield 750 | Óxido Cuproso | Fungicida | Pimentão* |
| Cobre Fersol | Oxicloreto de cobre | Fungicida | Pimentão |
| Applaud 250 | Buprofezin | Inseticida | Pimentão, abobrinha |
| Kasumin | Casugamicina | Bactericida | Pimentão, abobrinha |
| Ortus 50 SC | Fenpiroximato | Acaricida | Pimentão, abobrinha |
| Select 240 EC | Cletodim | Herbicida | Pimentão |
| Collis | Boscalida + cresoximetílico | Fungicida | Pimentão |
| Imunit | Alfa-cipermetrina + teflubenzurom | Inseticida | Pimentão, abobrinha |
| Infinito | Cloridrato de propamocarbe + fluopiucolida | Fungicida | Pimentão, abobrinha |
| Mythos | Pirimetanil | Fungicida | Pimentão, abobrinha |

Tabela 1 – Continuação.

| MARCA COMERCIAL | INGREDIENTE ATIVO | CLASSE AGRONÔMICA | CULTURAS |
|-----------------|---|------------------------|-----------------------|
| Oberon | Espiromesifeno | Inseticida e acaricida | Pimentão |
| Delegate | Espinetoram | Inseticida | Pimentão, abobrinha |
| Avatar | Indoxacarbe | Inseticida | Pimentão*, abobrinha* |
| Benevia | Ciantraniliprole | Inseticida | Pimentão, abobrinha |
| Rumo WG | Indoxacarbe | Inseticida | Pimentão, abobrinha |
| Kaiso 250 CS | Lambda-cialotrina | Inseticida | Pimentão, abobrinha |
| Tenaz 250 SC | Flutriafol | Fungicida | Pimentão, abobrinha |
| Kaligreen | Tetraconazol | Fungicida | Abobrinha |
| Forum | Dimetomorfe | Fungicida | Abobrinha |
| Orkestra SC | Fluxaproxade + piraclostrobina | Fungicida | Abobrinha |
| Consento | Fenamidona + Cloridrato de propamocarbe | Fungicida | Abobrinha |
| Nativo | Tebuconazol + trifloxistrobina | Fungicida | Abobrinha |
| Dicarzol 500 SP | Cloridrato de formetanato | Acaricida, inseticida | Abobrinha |
| Harpon WG | Cimoxanil + zoxamida | Fungicida | Abobrinha |
| Premio | Clorantraniliprole | Inseticida | Abobrinha |
| Defend WDG | Enxofre | Acaricida | Abobrinha |
| Amistar Top | Azoxistrobina + difenoconazol | Fungicida | Abobrinha |
| Revus | Mandipropamida | Fungicida | Abobrinha |
| Decis 25 EC | Deltametrina | Inseticida | Pimentão, abobrinha |
| Azamax | Azadiractina | Inseticida | Abobrinha* |

* Cultura com restrição de uso do agroquímico

Fonte: AGROFIT (https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons).

A utilização de agrotóxicos no Brasil se expande desde 1990. Em 2019 existiam cerca de 13.300 registros, dos quais 70% do que era consumido continha como ingrediente ativo o glifosato, 2,4-D, mancozebe, acefato, óleo mineral, atrazina, óleo vegetal, dicloreto, imidacloprido, oxicloreto de cobre e outros. Entre o período de 2015 e 2017 a região Centro-Oeste foi a maior consumidora de agroquímicos (Moraes, 2019). O consumo de alimentos com resíduos de agrotóxicos, ao longo do tempo, causa impactos sobre a saúde humana. Como exemplo, os ingredientes ativos 2,4-D e atrazina classificados como categoria 2 podem causar atividade biológica relacionada à desregulação endócrina, mancozebe (Grupo B - provável carcinógeno para humanos) e glifosato (Grupo 2A - provável cancerígeno) (Friedrich *et al.*, 2021). Na meta-análise realizada por Yan *et al.* (2016) foi verificada uma associação positiva entre a exposição a pesticidas e a doença de Alzheimer. Larsen, Gaines e Deschênes (2017) documentaram que níveis altíssimos de exposição residual a pesticidas durante a gestação acarretou em resultados adversos (5-9%) nos nascimentos no Vale de San Joaquim, na Califórnia. Porém, as consequências dessa exposição continuam incertas.

O princípio de aplicação de endófitos na agricultura viabiliza uma considerável rota alternativa para a redução dos custos de produção e sobrecarga do meio ambiente, aumento do rendimento e produtividade, bem como auxilia na diminuição dependente dos agroquímicos e redução do melhoramento genético. Portanto, os endófitos desempenham papéis significativos na regulação, desenvolvimento, adaptação e tolerância das plantas frente a estresses bióticos e abióticos em sistemas agrícolas (Chitnis *et al.*, 2020).

3.5 ABOBRINHA (*Cucurbita pepo* L.)

A abobrinha (*Cucurbita pepo* L.) pertence à família *Cucurbitaceae*, que é composta por 125 gêneros e 960 espécies, sendo muitas delas economicamente importantes (Verdejo-Lucas; Talavera, 2019). O gênero *Cucurbita* possui 32 espécies (Torezani *et al.*, 2017) e a abobrinha está relacionada ao grupo da subsp. *pepo* (Paris, 2010) que exibe um fruto de formato alongado, consumido quando imaturo. A espécie, no geral, possui grande variabilidade e cores únicas, sendo fenotipicamente a mais polimórfica do gênero (Heiden; Barbieri; Neitzke, 2007; Verdejo-Lucas; Talavera, 2019; Xanthopoulou *et al.*, 2019). É uma cultura com distribuição predominantemente tropical, porém bem adaptada a regiões temperadas, originária da América do Norte e Central (Verdejo-Lucas; Talavera, 2019; Xanthopoulou *et al.*, 2019).

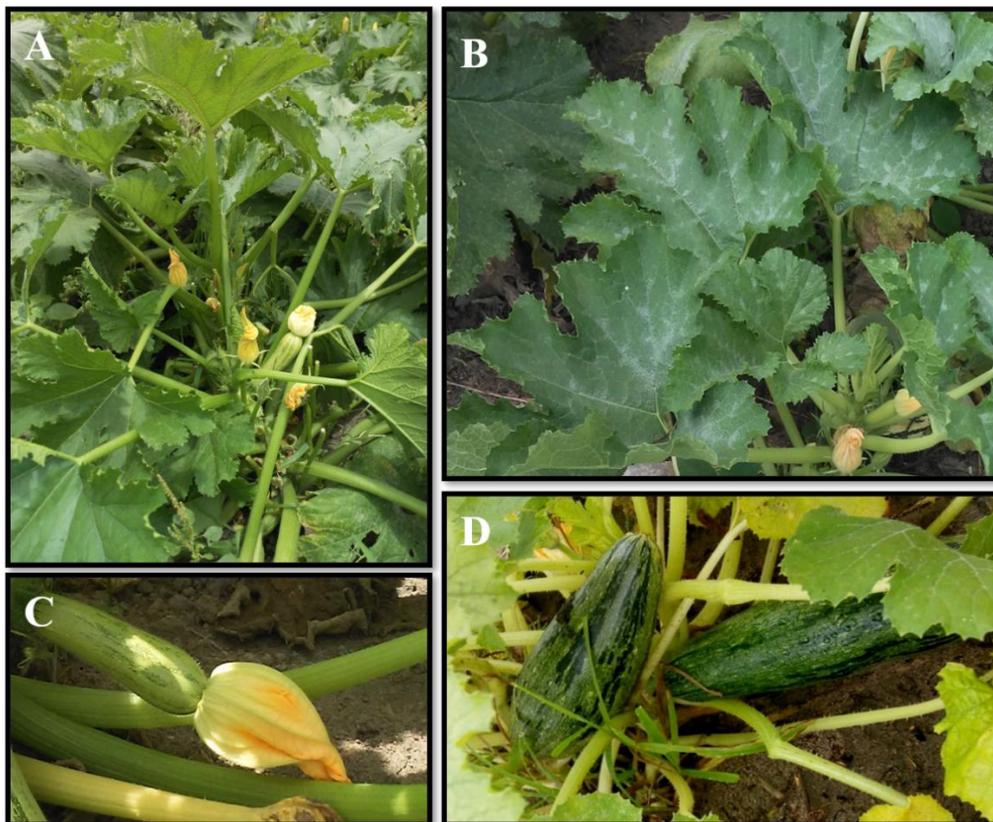
No Brasil, os principais estados produtores de abobrinha são Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro que juntos ultrapassam 102 mil toneladas das 158.518 toneladas produzidas em todo território brasileiro. Mais de 34.800 estabelecimentos agropecuários no Brasil desenvolvem esta atividade econômica que movimenta em torno de 133.284.000 reais gerados no valor da produção desta hortaliça (IBGE, 2017). O Nordeste é a quarta região mais produtora e Pernambuco sustenta a terceira posição na região, produzindo cerca de 717 toneladas, ficando atrás apenas dos estados da Bahia (2.639 toneladas) e do Ceará (944 toneladas).

A abobrinha exerce papel positivo na alimentação humana e animal com grande valor nutricional e baixo valor calórico (15 kcal/100g). Na sua composição, vários nutrientes são encontrados, tais como carboidratos (2,69g/100g), proteínas (1,14g/100g), vitaminas A, do complexo B, vitamina C e K, além dos principais minerais como cálcio, ferro, magnésio, fósforo, potássio, sódio, zinco, cobre, manganês e selênio (USDA database). Alguns ensaios demonstraram que componentes presentes nos frutos exibem atividades antígenotóxicas e

citotóxicas, além de processos antiproliferativos e pró-apoptóticos em relação a células de leucemia promielocítica humana (Martínez-Valdivieso *et al.*, 2017).

Cucurbita pepo expressa, como caracteres vegetativos, caule duro e marcadamente anguloso, hábito de crescimento ereto com hastes curtas (Figura 2.A) e folhas aculeadas com recorte geralmente profundo ou intermediário de coloração verde e manchas prateadas (Figura 2.B). As flores são amarelas e apresentam florescimento monoico (Figura 2.C). Os frutos são alongados com cerca de 20 cm de comprimento (Figura 2.D), extremidades afiladas e possui polpa branca ou creme, apresentam casca dura, muitas vezes com nervuras e desenvolvem pedúnculo anguloso com ou sem acúleos, além de sementes que variam de brancas a tons de marrom claro, com superfície lisa e notável película (Heiden; Barbieri; Neitzke, 2007; Figueira, 2008).

Figura 2 – Principais características de *Cucurbita pepo*: (A) Planta de hábito ereto, (B) Folhas, (C) Flor e (D) Fruto.



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

A cultura da abobrinha pode ser observada nos sistemas convencionais e orgânicos (Toscano *et al.*, 2021), sob ambiente protegido (Costa *et al.*, 2015; Nasser *et al.*, 2022), campo aberto (Nasser *et al.*, 2022) e hidropônico (Dantas *et al.*, 2022). Na União Europeia,

quase toda produção é realizada em estufas (Novas *et al.*, 2019). Os principais métodos culturais utilizados no cultivo da abobrinha por semeadura direta é a utilização de solos com textura média, ricos em matéria orgânica, úmidos, drenáveis e com pH entre 5,6 – 6,7. O ciclo é de período anual e geralmente para o plantio, agricultores utilizam espaçamentos entre fileiras (100-120 x 60-70 cm) em sulcos ou covas abertas de 15 a 20 cm de profundidade (Figueira, 2008; Ramos *et al.*, 2010). Temperaturas médias entre 18 °C – 27 °C são necessárias para o cultivo e a colheita ocorre entre 45-60 dias após o plantio (Figueira, 2008). No Brasil, em regiões menos frias, a abobrinha pode ser colhida até o mês de junho (Hora; Camargo; Buzanini, 2018). Temperaturas elevadas interferem no processo de polinização e durante o período outono-inverno a irrigação por aspersão ou gotejamento é essencial para a manutenção do cultivo (Figueira, 2008).

As viroses estão dentre as principais doenças que acometem as cucurbitáceas em geral. O vírus do mosaico amarelo da abobrinha (Zucchini yellow mosaic virus – ZYMV), por exemplo, causa deformações em folhas e frutos, reduz o desenvolvimento da planta e prejudica a produção (Lima, 2011). Alternativas de controle como a utilização de nanoestruturas de óxido de cobre (Derbalah *et al.*, 2022) e desinfetantes (Coutts; Kehoe; Jones, 2013) têm sido exploradas para o controle do ZYMV.

As doenças fúngicas mais comuns e relevantes que acometem o cultivo da abobrinha, juntamente com seus respectivos agentes etiológicos, principais sintomas e condições favoráveis para o desenvolvimento das patologias estão descritas na tabela 2.

Tabela 2 – Principais doenças fúngicas que acometem o cultivo da abobrinha.

| DOENÇA | AGENTE ETIOLÓGICO | SINTOMAS | CONDIÇÕES FAVORÁVEIS | REFERÊNCIAS |
|----------------|---|---|---|--------------------------------------|
| Antracnose | <i>Gloeosporium orbiculare</i> Sinônimo: <i>Colletotrichum orbiculare</i> | Lesões de coloração marrom escuras, levemente deprimidas. | Umidade; Temperaturas entre 19 °C e 24 °C | Dias e Terao (2006) |
| Mofo cinzento | <i>Botrytis cinerea</i> | Crescimento extenso de micélios e conídios cinzentos nos caules e frutos; lesões necróticas. | Umidade; Temperaturas frias | Cheon e Jeon (2013) |
| Oídio | <i>Podosphaera xanthii</i> | Lesões cloróticas nas superfícies das folhas; inibição da fotossíntese devido ao acúmulo de micélio branco nas folhas. | -- | Margaritopoulou <i>et al.</i> (2022) |
| Podridão negra | <i>Didymella bryoniae</i> | <i>Damping-off</i> em plântulas; manchas necróticas circulares nos cotilédones; necrose e cancro nos ramos; manchas grandes e circulares com halos cloróticos nas folhas. | Umidade elevada; Temperaturas entre 5 °C e 35 °C | Dias e Terao (2006) |

Tabela 2 – Continuação.

| DOENÇA | AGENTE ETIOLÓGICO | SINTOMAS | CONDIÇÕES FAVORÁVEIS | REFERÊNCIAS |
|-------------------------------|---|--|--|--|
| Podridão-por- <i>Fusarium</i> | <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>cucurbitae</i> | Lesões encharcadas com crescimento micelial cotonoso branco; fissuras; murcha, podridão e morte súbita do vegetal. | Elevada umidade relativa do ar; Temperatura cerca de 30 °C | Dias e Terao (2006); Khalil <i>et al.</i> (2023) |

Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

3.6 PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.)

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) pertence à família *Solanaceae* e é amplamente distribuído por toda América Latina. Foi introduzido no Brasil importado da Espanha e integrava o tipo Casca Dura (Blat; Costa, 2007; Lopes *et al.*, 2018). A composição e a quantidade de nutrientes existentes nesta hortaliça como as vitaminas A, B1, B2, C e E, e minerais como cálcio, ferro e fósforo demonstram seu valor nutricional e contribuem fazendo com que esta hortaliça permaneça entre as mais 10 consumidas no mercado brasileiro e mundial (Blat; Costa, 2007; Araújo Neto, 2009; Oliveira *et al.*, 2015; Anaya-Esparza *et al.*, 2021).

O gênero *Capsicum* é composto por pelo menos 32 espécies, das quais cinco (*C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens*) foram domesticadas e são utilizadas como base para a ampla comercialização (Parsons *et al.*, 2012). *Capsicum annuum* distingue-se por sua variabilidade e as demais espécies pela resistência a pragas e doenças (Lima; Lopes; Café Filho, 2004).

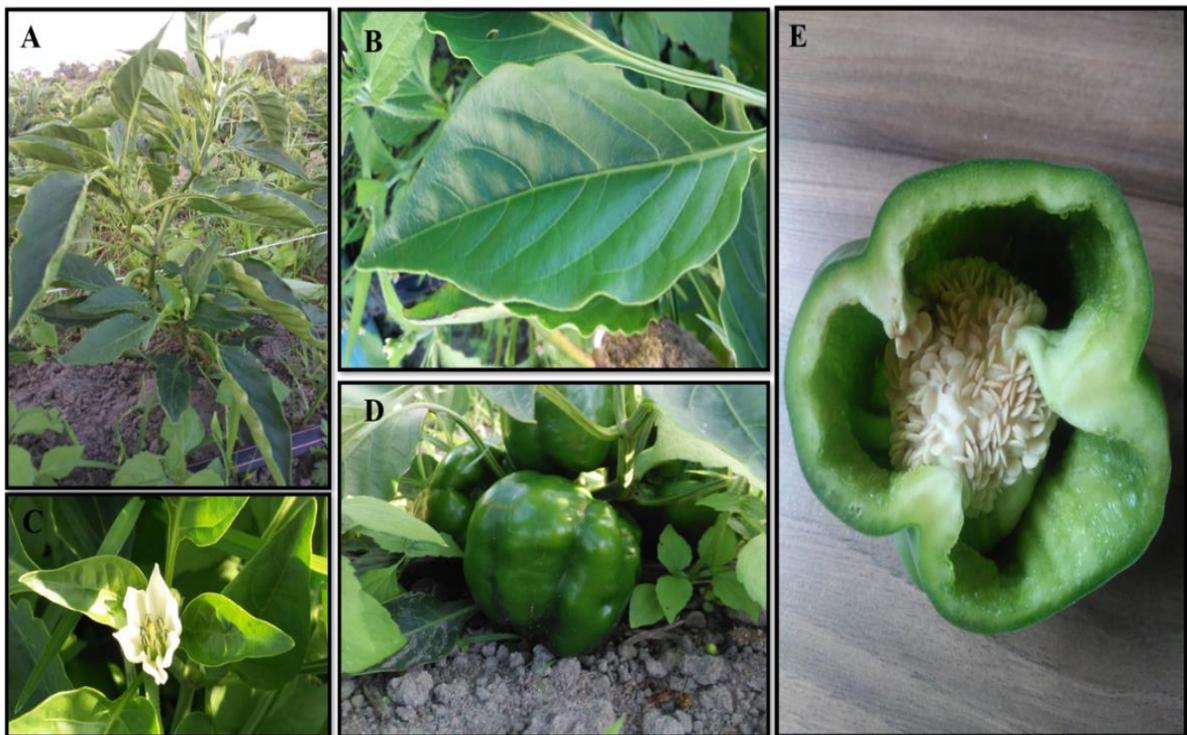
O pimentão pode ser comercializado tanto verde como maduro e comumente podemos encontrá-lo com diferentes variedades de tamanho, forma e coloração (verde, vermelho, amarelo, laranja, creme e roxo) dependendo de seus estágios de maturação (Araújo Neto, 2009; Aragão *et al.*, 2011; Lopes *et al.*, 2018; Anaya-Esparza *et al.*, 2021). Por ser uma cultura de período curto e que gera rápido retorno econômico para os pequenos e médios produtores (Lopes *et al.*, 2018), o papel socioeconômico desta cultura no Brasil apresenta grande significância para o setor agrícola, que em 2017 ocupava uma área de 11.188 hectares em todo território brasileiro (EMBRAPA hortaliças, 2019).

No Censo Agropecuário realizado pelo IBGE (2017), mais de 32.500 estabelecimentos com horticultura de pimentão foram analisados no país e juntos apresentaram uma produtividade média de 224.286 toneladas de pimentão, com destaque para as Regiões Sudeste e Nordeste que alcançaram 124.671 e 57.239 toneladas, respectivamente. A

distribuição do plantio dentro da Região Sudeste tem o Estado de São Paulo (60.176 toneladas) como maior produtor. Na Região Nordeste a ênfase vai para os Estados da Bahia (22.720 toneladas) e do Ceará (15.704 toneladas). Pernambuco ocupa a terceira posição, sendo responsável por uma produção de 8.460 toneladas de pimentão. O valor médio da venda deste fruto foi de 312.159.000 de reais (IBGE, 2017).

A planta do pimentão é do tipo arbustiva com 40 a 150 cm de altura (Figura 3.A). Suas raízes podem atingir 1 m de profundidade, as folhas exibem pecíolo comprido, apresentam o formato elíptico com terminações em ápice agudo, de coloração verde escuro, com bordos lisos e se posicionam de forma alternada no caule (Figura 3.B). As flores são pentâmeras, hermafroditas, solitárias, de coloração branca e bem pequenas, com aproximadamente 1 a 2 cm de diâmetro (Figura 3.C). O fruto constitui-se uma baga lisa e lustrosa por fora, com 2 a 4 lóculos (Figura 3.D). No interior do fruto encontramos as sementes de forma chata, arredondadas e de coloração palha aderidas a placenta central (Figura 3.E) (Blat; Costa, 2007; Martins Júnior, 2019).

Figura 3 – Principais características de *Capsicum annuum*: (A) Arbusto, (B) Folha, (C) Flor, (D) Fruto e (E) Fruto e sementes.



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Os frutos, sementes e folhas do pimentão carregam em sua composição um perfil fitoquímico (flavonoides, carotenoides, fenóis) que pode gerar propriedades importantes que são utilizadas nas indústrias farmacêuticas como antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, imunossupressoras e imunoestimulantes (Anaya-Esparza *et al.*, 2021).

No período de germinação, a planta necessita de temperaturas em torno de 25 °C e solos com baixo teor de umidade, porém uma boa irrigação e temperaturas entre 20 e 25 °C durante seu desenvolvimento e no período de floração são essenciais para o crescimento e frutificação. Os solos adequados para o cultivo demandam pH 5,5 a 6,8, de preferência ricos em matéria orgânica, bem arejados, profundos e arenosos (Blat; Costa, 2007).

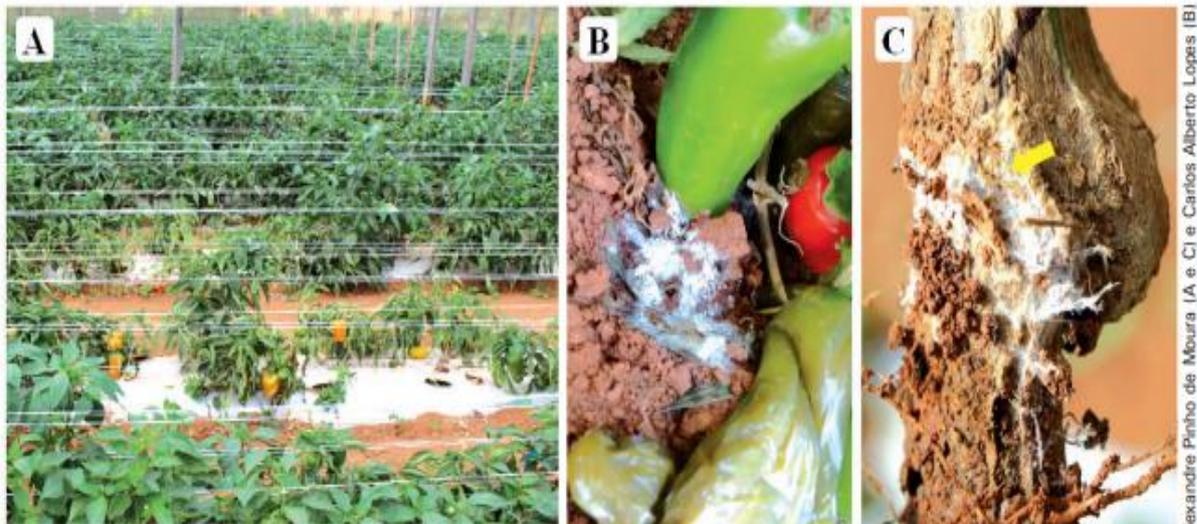
Com o objetivo de melhorar o cultivo, boas práticas agrícolas foram estabelecidas e regulamentadas na Instrução Normativa nº 40 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Norma Técnica Específica para a produção integrada do pimentão (EMBRAPA hortaliças, 2019). O cultivo do pimentão pode ocorrer tanto em campo aberto quanto em estufas (Blat; Costa, 2007), além de outros sistemas como o cultivo orgânico em ambiente protegido (Almeida *et al.*, 2021), cultivo convencional e direto (Oliveira *et al.*, 2015), cultivo hidropônico (Carvalho *et al.*, 2019) e semi-hidropônico (Santos *et al.*, 2019).

Por ser uma planta adaptada a regiões de clima tropical, é sensível a baixas temperaturas e geralmente o plantio é realizado na primavera-verão. Todavia, regiões de baixa altitude e com inverno ameno, além dos sistemas de cultivo protegido, que permitem controlar as condições ambientais proporcionando boa produtividade e frutos de qualidade, asseguram o plantio de pimentão em períodos de entressafra (Blat; Costa, 2007; Aragão *et al.*, 2011).

Para a produção das culturas do pimentão, geralmente é realizado o método de produção de mudas em sementeiras utilizando bandejas com substrato agrícola, como esterco bovino ou coprólitos de minhocas (fonte de nutrientes) e casca de arroz carbonizada como condicionante físico (Blat; Costa, 2007; Araújo Neto, 2009). As mudas são colocadas em estufas onde o ambiente é protegido, mas permite a passagem de luz e o controle da irrigação. Consequentemente, este método traz como vantagem a seleção de mudas mais vigorosas, menos danosas às raízes e um maior controle fitossanitário. As mudas geralmente ficam prontas para o transplante em campo cerca de 30 a 40 dias quando já apresentam 7 a 8 folhas definitivas. Após o transplante é necessário que o local de cultivo seja irrigado por aspersão ou gotejamento por pelo menos uma ou duas vezes por semana e a umidade precisa permanecer uniforme para evitar o acúmulo de água que pode contribuir para o aparecimento de doenças como a podridão do colo e da raiz (Blat; Costa, 2007).

Entre as doenças fúngicas que acometem o pimentão, a murcha de escleródio ou podridão de escleródio é provocada pelo fungo *Agroathelia rolfsii* (Basidiomycota), um patógeno que habita o solo e infecta numerosos hospedeiros de regiões agrícolas tropicais e subtropicais, que na forma de escleródio pode sobreviver por até cinco anos (Serra; Silva, 2005; Töfoli; Domingues, 2018). Plantas adultas doentes apresentam tamanho reduzido, murcha progressiva devido ao estrangulamento da região do colo (Figura 4.A) e folhas amarelcidas. Na fase de plântula pode ocorrer o tombamento. O patógeno apresenta crescimento semelhante ao algodão (Figura 4.B) nas lesões ao redor ou abaixo do colo das plantas e escleródios de 1 a 2 mm de diâmetro são formados sobre o micélio (Figura 4.C). Os frutos do pimentão podem ser infectados e apodrecer quando entram em contato com o solo contaminado (Pereira *et al.*, 2015; Töfoli; Domingues, 2018).

Figura 4 – Plantas de pimentão adultas com sintomas de murcha (A), crescimento micelial semelhante a algodão (B) e formação de microescleródios sobre o colo de planta infectada (C).



Fotos: Alexandre Pinho de Moura (A e C) e Carlos Alberto Lopes (B)

Fonte: Pereira *et al.* (2015, p. 41).

Coelho Netto, Ferreira e Noda (2013) descrevem que a murcha de escleródio é frequente em plantas da família *Solanaceae* na Amazônia e que o manejo da doença em pimentão pode ser favorecido pelo incremento de composto vegetal e a adição do controlador biológico *Trichoderma harzianum* ao solo.

A antracnose é a principal doença fúngica presente na cultura do pimentão. Lesões podem ocorrer de forma isolada ou em grupo e à medida que a doença progride podemos observar a formação de pequenos pontos pretos a olho nú, que correspondem às estruturas

reprodutivas do fungo (acérvulos) (Figura 5). Em situações de alta umidade, observa-se a formação de uma massa de coloração rósea ou alaranjada no centro das lesões, constituída pelos conídios do patógeno. Nas hastes afetadas as lesões são escuras em forma de estrias e as folhas apresentam manchas necróticas envoltas ou não por um halo amarelado (Pereira *et al.*, 2015; Töfoli; Domingues, 2018). Nas mudas a doença pode causar tombamento (Azevedo, 2006) e no período latente os sintomas podem aparecer na pós-colheita (Töfoli; Domingues, 2018).

Figura 5 – Lesões em frutos de pimentão com características de antracnose.



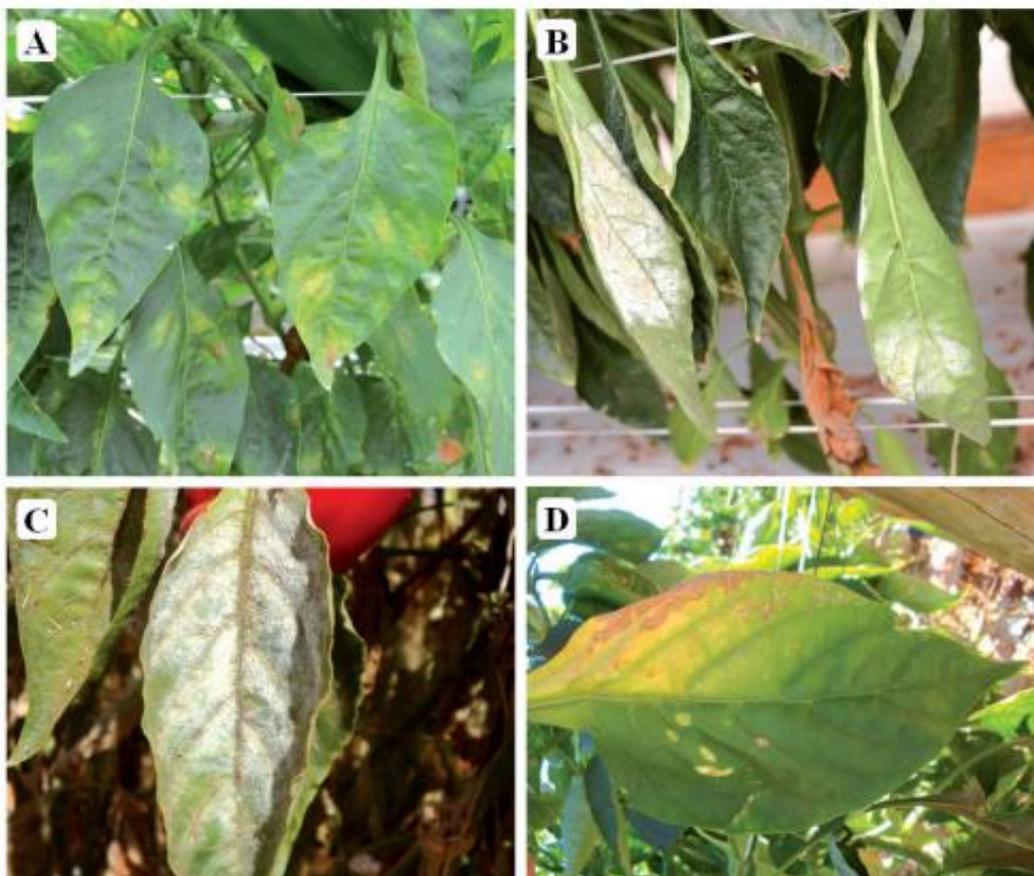
Fonte: Pereira *et al.* (2015, p. 33).

A doença é mais destrutiva em períodos chuvosos porque os esporos podem ser eficientemente dispersos e pode atingir todos os estádios de desenvolvimento da planta, aumentando a incidência e severidade da doença (Azevedo, 2006; Ferrari *et al.*, 2011; Töfoli *et al.*, 2015). Em condições favoráveis a antracnose pode provocar graves perdas econômicas que variam de 60% a 100% das culturas (Töfoli; Domingues, 2018). Estudos de melhoramento genético para o desenvolvimento de cultivares resistentes funcionam como fontes estratégicas para o controle da doença (Silva *et al.*, 2014; Giacomini *et al.*, 2020).

O principal agente etiológico da antracnose do pimentão é o *Colletotrichum gloeosporioides*, porém outras espécies do gênero podem ser isoladas como *C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. capsici*, *C. dematium*, *C. boninense* e *C. scovillei* (Ferrari *et al.*, 2011; Töfoli *et al.*, 2015; Töfoli; Domingues, 2018). No entanto, espécies fitopatogênicas de *Colletotrichum* também são capazes de colonizar plantas assintomaticamente e expressam estilos de vida não patogênicos (Vieira *et al.*, 2012; Arena; Bernal; Imperial, 2019).

O oídio do pimentão causado por *Leveillula taurica* (Lev.) Arn., em situações de alta incidência da doença, causa principalmente a desfolhagem das plantas que pode gerar perdas de até 80% na produção, dessa forma, os frutos sofrem diversas injúrias, como a queima pela radiação solar, e conseqüentemente acabam apresentando redução de tamanho (Pereira *et al.*, 2015, 2016). A doença não ocorre na fase juvenil da planta e ataca principalmente culturas de pimentão em ambientes protegidos (Blat *et al.*, 2005). O agente etiológico *Leveillula taurica*, diferentemente dos demais oídios, exhibe hábito de crescimento interno (Blat *et al.*, 2005). As folhas sofrem com pequenas áreas amareladas (áreas cloróticas) em sua face superior (Figura 6.A), onde podemos observar um crescimento branco pulverulento constituído de estruturas do patógeno, tais como micélio, conidióforos e conídios na face inferior (Figura 6.B). Vale salientar que em condições ambientais favoráveis o crescimento branco do patógeno pode ser observado de maneira intensa na parte superior das folhas (Figura 6.C). Com o avanço da doença podem surgir pequenas áreas necróticas (Figura 6.D) (Pereira *et al.*, 2015, 2016).

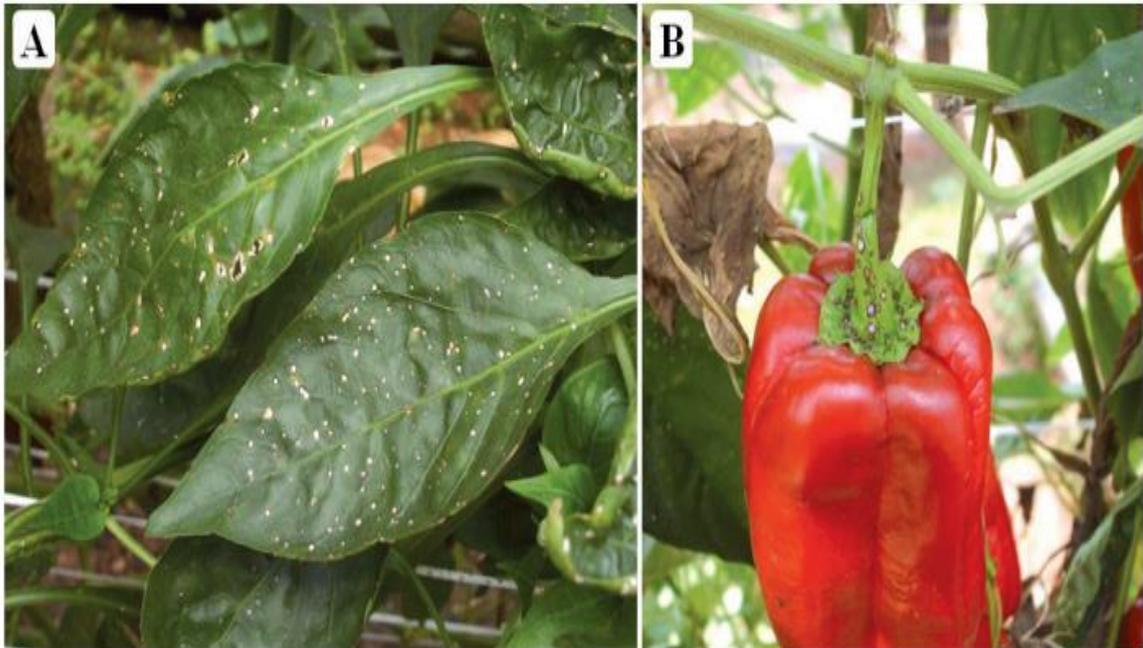
Figura 6 – Folhas de pimentão com áreas cloróticas na face superior (A), crescimento micelial branco pulverulento na face inferior (B) e na face superior (C), áreas de lesões necróticas (D).



Fonte: Pereira *et al.* (2016, p. 2).

A mancha de *Stemphylium* causa redução da área fotossintética provocando lesões nas folhas do pimentão (Figura 7.A) geralmente localizadas no terço médio das plantas, e na região do pedúnculo de flores e frutos (Figura 7.B), onde ocorre o aparecimento de pequenas pontuações escuras que ao longo do tempo se tornam lesões necróticas de 1 a 5 mm. Portanto, as folhas podem ficar amareladas e secar (Pereira *et al.*, 2015, 2016; Töfoli; Domingues, 2018).

Figura 7 – Lesões da mancha de *Stemphylium* em folhas de pimentão (A) e no pedúnculo dos frutos (B).



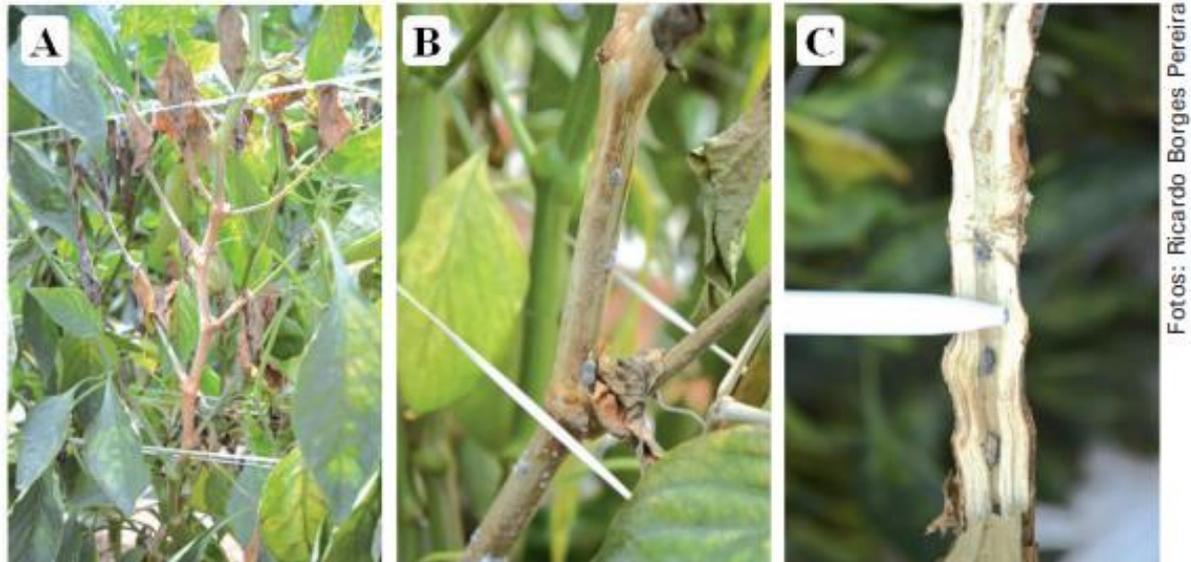
Fonte: Pereira *et al.* (2015, p. 17).

Essa doença provoca perdas durante a formação da planta em viveiros e raramente em plantas adultas, porém quando adultas ocorre na fase de florescimento e frutificação. A doença pode causar redução na produtividade e no tamanho dos frutos (Pereira *et al.*, 2015, 2016; Töfoli; Domingues, 2018). O agente etiológico *Stemphylium solani* também pode provocar doença em outros hospedeiros da família *Solanaceae* como o tomateiro (Domingues *et al.*, 2017; Melo *et al.*, 2019).

A podridão de *Sclerotinia* ou mofo branco é uma doença que geralmente surge em rebolteiras quando as plantas do pimentão começam a florescer e formar os frutos, porém pode afetar todas as partes da planta em qualquer estágio de desenvolvimento. As lesões aparecem como círculos concêntricos nas bifurcações dos ramos (Figura 8.A). À medida que o tempo passa, os ramos secam e a infecção causa uma necrose de coloração acinzentada nos caules, ademais ocorre a formação de estruturas negras de resistência (escleródios) que são

facilmente visualizadas na superfície e nas hastes ocas do tecido hospedeiro colonizado (Figura 8.B-C). As plantas do pimentão apresentam murcha progressiva e o apodrecimento do caule e dos frutos, ocorrendo a podridão mole de coloração clara (Pereira *et al.*, 2015, 2016; Töfoli; Domingues, 2018).

Figura 8 – Sintomas da podridão de *Sclerotinia* em hastes de plantas de pimentão (A), crescimento micelial e escleródios sobre (B) e no interior das hastes infectadas (C).



Fonte: Pereira *et al.* (2015, p. 37).

Os escleródios do patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* podem se manter viáveis por até 10 anos e serem prontamente disseminados pela movimentação do solo, escoamento da água, equipamentos utilizados nos cultivos e sementes contaminadas. Realizar o plantio do pimentão sobre a técnica de *mulching*, que envolve a cobertura do solo para evitar que os ramos e folhas fiquem em contato direto com a terra, funciona como alternativa para o controle efetivo da doença (Pereira *et al.*, 2015, 2016).

Novas tecnologias como sementes híbridas resistentes a doenças e novos sistemas de irrigação e aplicação de adubos vem ganhando a visibilidade dos produtores de pimentão (Aragão *et al.*, 2011). Por ser uma hortaliça sensível a pragas e doenças, estimativas realizadas em 2016 mostraram que a cultura do pimentão movimentou mais de 1.000 dólares por hectare com defensivos agrícolas (EMBRAPA hortaliças, 2019). Cultivos em casas de vegetação e estufas funcionam como alternativa para reduzir o ataque de patógenos e consequentemente a utilização de agroquímicos (Aragão *et al.*, 2011). Além disso, enxertos no pimentão com variedades de híbridos resistentes têm sido utilizados para vencer patógenos transmitidos pelo solo (Ragassi *et al.*, 2022).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE COLETA

As coletas foram realizadas durante a estação seca na propriedade Rancho Bela Vista, Chã Grande, Pernambuco, em três áreas de cultivo orgânico (Tabela 3) de pimentão (variedade Rubia), duas áreas de cultivo orgânico de abobrinha (variedade Alanis) e três áreas de cultivo convencional (Tabela 3) de abobrinha e pimentão. As áreas de cultivo orgânico e convencional apresentam cerca de 500 m de distância entre si. O município de Chã Grande, situado a 434 m de altitude, é composto pelos biomas da Caatinga e Mata Atlântica e se estende por uma área territorial de 84.787 km² (<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/cha-grande/panorama>). O clima é do tipo tropical chuvoso com verão seco, apresentando precipitação média anual de 1310 mm (Beltrão *et al.*, 2005).

Nas áreas de cultivo convencional em que ocorrem as coletas, o solo era preparado com esterco e após a primeira capina era realizada a adição dos fertilizantes. No cultivo convencional de abobrinha foram utilizados os produtos químicos Premio e Avatar, ambos inseticidas, e Nitrato de Cálcio como fertilizante. Entretanto, no cultivo convencional de pimentão foram utilizados os produtos Avatar e Decis, ambos inseticidas, Amistar Top com ação fungicida e Nitrato de Cálcio como fertilizante. As coletas foram realizadas no intervalo de 5 a 11 dias após a aplicação dos defensivos agrícolas nos cultivos.

Nos cultivos orgânicos de abobrinha e pimentão os solos eram preparados e forrados com compostagem e logo após a primeira capina era realizada a adição de torta de mamona. Para manutenção e tratamento dos cultivos foram utilizados calda bordalesa e Dipel (inseticida biológico que tem como ingrediente ativo a bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* cepa HD-1).

Tabela 3 – Principais informações sobre os locais de coleta realizadas em áreas de cultivo convencional e orgânico de abobrinha e pimentão no município de Chã Grande/PE.

| HORTALIÇAS | CULTIVOS* | COORDENADAS GEOGRÁFICAS | DATAS DAS COLETAS | TEMPO DE CULTIVO | SOLO ANTES DO PLANTIO | ALTITUDE |
|------------|-----------|------------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|----------|
| Abobrinha | 1° AC | 8°15'17,778" S, 35°29'46,984" W | 07/01/2021 | 65 dias | Terra em pousio | 479,002 |
| | 2° AC | 8°15'8,974" S, 35°29'38,125" W | 12/02/2021 | 64 dias | Havia berinjela | 473,8796 |
| | 3° AC | 8°15'13,022" S, 35°29'56,527" W | 18/03/2021 | 62 dias | Havia abobrinha | 499,2165 |

Tabela 3 – Continuação.

| HORTALIÇAS | CULTIVOS* | COORDENADAS GEOGRÁFICAS | DATAS DAS COLETAS | TEMPO DE CULTIVO | SOLO ANTES DO PLANTIO | ALTITUDE |
|------------|-----------|------------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|----------|
| Abobrinha | 1º AO | 8°15'23,224" S, 35°30'6,629" W | 14/03/2023 | 67 dias | Havia cenoura | 511,0981 |
| | 2º AO | 8°15'22,53" S, 35°30'5,121" W | 21/03/2023 | 66 dias | Havia coentro | 515,2849 |
| Pimentão | 1º AC | 8°15'17,683" S, 35°29'46,861" W | 29/02/2021 | 59 dias | Havia abobrinha | 487,5448 |
| | 2º AC | 8°15'11,016" S, 35°29'36,899" W | 09/09/2021 | 59 dias | Terra em pouso | 464,8798 |
| | 3º AC | 8°15'17,598" S, 35°29'42,787" W | 13/09/2022 | 63 dias | Havia abobrinha | 467,9996 |
| Pimentão | 1º AO | 8°15'23,372" S, 35°30'5,67" W | 01/12/2022 | 61 dias | Terra em pouso | 509,3138 |
| | 2º AO | 8°15'22,242" S, 35°30'5,301" W | 14/03/2023 | 59 dias | Havia coentro | 522,8104 |
| | 3º AO | 8°15'23,12" S, 35°30'5,512" W | 06/04/2023 | 59 dias | Havia coentro | 521,9471 |

*AC: Área convencional; AO: Área orgânica

Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

4.2 MATERIAL VEGETAL

Para cada coleta, foram delimitadas três parcelas em cada área de estudo. Em cada parcela foram escolhidos três espécimes de cada vegetal em três pontos aleatórios. Desses vegetais foram retiradas seis folhas sadias aleatoriamente (2 folhas de cada espécime), para o isolamento dos fungos endofíticos. Folhas com sintomas de doenças fúngicas foram retiradas para o isolamento dos fungos fitopatogênicos. Todo material foi acondicionado em sacos de papel devidamente etiquetados e transportados em isopor resfriado ao Laboratório de Ecologia e Evolução de Microfungos do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), para manipulação no tempo máximo de 24 horas.

4.2.1 Isolamento de fungos endofíticos

As folhas coletadas foram lavadas em água corrente para a remoção da poeira e outros resíduos, fragmentadas em discos de 5 mm de diâmetro, sendo posteriormente submetidas a técnica de desinfestação para eliminação dos microrganismos epifíticos. A técnica utilizada seguiu a metodologia descrita por Araújo *et al.* (2002) modificada, que consiste na imersão das folhas em etanol 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio (3% de cloro ativo) por 2 minutos e três lavagens em água destilada esterilizada. Após a desinfestação, seis discos

foram transferidos para placas de Petri, em triplicata, contendo Batata Dextrose Ágar (BDA) acrescido de cloranfenicol (50 mg/L), incubados em temperatura ambiente (28 ± 2 °C) e observados diariamente por até 15 dias quanto ao desenvolvimento das colônias fúngicas ao redor dos discos foliares. Para o controle da desinfestação da superfície foliar, foi inoculado 1 mL de água da última lavagem em placas de Petri contendo o meio BDA acrescido de cloranfenicol (50 mg/L), incubadas sob as mesmas condições. Os fungos foram isolados, purificados e armazenados em glicerol a 10% e óleo mineral para posterior identificação.

4.2.2 Isolamento de fungos fitopatogênicos

Os métodos de isolamento direto e indireto de fungos fitopatogênicos foram realizados de acordo com Alfenas *et al.* (2016). Para o isolamento direto, estruturas do patógeno (esporos, hifas, escleródios) foram transferidas diretamente do substrato (folhas) para placas de Petri, contendo meio BDA acrescido de cloranfenicol (50 mg/L), que foram incubadas em temperatura ambiente (28 ± 2 °C) por até 7 dias. No isolamento indireto uma parte do tecido lesionado do hospedeiro foi cortado e desinfetado, utilizando álcool 70% por 30 segundos, hipoclorito de sódio (3% de cloro ativo) por 2 minutos e três lavagens em água destilada esterilizada. Posteriormente, o tecido infectado foi transferido para placas de Petri contendo BDA acrescido de cloranfenicol (50 mg/L). Após o crescimento micelial, os fungos foram repicados para tubos com meio BDA e mantidos em temperatura ambiente (28 ± 2 °C). Os fungos foram purificados e armazenados em glicerol a 10% e óleo mineral para posterior identificação.

4.3 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FUNGOS

Para a identificação foram observadas características macroscópicas e microscópicas das colônias puras dos fungos endofíticos e potencialmente fitopatogênicos. A identificação e descrição de espécies foi realizada a partir de literaturas específicas (Ellis, 1971; Ellis, 1976; Carmichael *et al.*, 1980; Sutton, 1980; Domsch *et al.*, 2007).

4.4 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

4.4.1. Extração de DNA, amplificação (PCR) e sequenciamento

Para a extração de DNA, um representante de cada morfotipo foi selecionado. A biomassa dos fungos foi obtida a partir de culturas desenvolvidas em BDA por 7 dias. A extração do DNA genômico foi realizada, com o material previamente triturado, conforme Oliveira *et al.* (2016), que inclui homogeneização do material em tampão CTAB 2% e uma lavagem com clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e ressuspensão em 50 µL de água ultrapura.

Para amplificação por PCR, regiões de interesse, tais como parte da região espaçadora transcrita interna (ITS) do nrRNA, parte da subunidade grande do gene do nrRNA (LSU nrRNA), parte do fator de alongamento de tradução (*tef*), parte da subunidade *rpb1* da RNA polimerase II (*rpb1*), parte da subunidade *rpb2* da RNA polimerase II (*rpb2*), β-tubulina (*tub*), actina (*act*) e o gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (*gapdh*), foram selecionados de acordo com cada gênero. Os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes (dNTPs, cloreto de magnésio, Taq DNA polimerase e tampão de reação) foram os mesmos descritos por Oliveira *et al.* (2014b). Controles negativos, contendo todos os componentes, exceto DNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações.

Os produtos de PCR foram purificados utilizando a Exonuclease I (Thermo Fisher Scientific) juntamente com a Shrimp Alkaline Phosphatase (Cellco), sendo posteriormente encaminhados para sequenciamento na Plataforma Multiusuária de Sequenciamento e Expressão Gênica do Centro de Biociências da UFPE.

4.5 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

As sequências obtidas no estudo foram alinhadas com outras recuperadas do GenBank com o auxílio do programa MAFFT v.6 (Kato; Toh, 2010) e editadas no MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016). Análises de Inferência Bayesiana (1×10^7 gerações, com *burn-in* de 25% e duas execuções da Cadeia de Markov Monte Carlo) foram realizadas no MrBayes on XSEDE v.3.2.7a (Ronquist *et al.*, 2012) e as análises de máxima verossimilhança (1.000 replicações de bootstraps) foram realizadas no RAxML-HPC BlackBox v.8.2.12 (Stamatakis, 2014), ambos hospedados no portal CIPRES (Miller *et al.*, 2010). Para a análise de Inferência Bayesiana, o modelo de substituição nucleotídica foi estimado para cada gene separadamente usando MrModelTest v.2.3 (Nylander, 2004) e para a análise de máxima verossimilhança, GTRGAMMA + I como modelo ideal. As árvores obtidas foram visualizadas no FigTree v.1.4.0 (Rambaut, 2012).

4.6 ANÁLISES ECOLÓGICAS E ESTATÍSTICAS

A riqueza (S) e diversidade de Shannon-Wiener (H') de fungos endofíticos foram calculadas para todas as amostras. A riqueza de espécies foi definida como o número total de espécies de fungos endofíticos registrados nas folhas de pimentão e abobrinha em cada sistema de manejo. O índice de diversidade de espécies de Shannon foi calculado de acordo com a equação $H' = -\sum(P_i \ln(P_i))$, onde $P_i = n_i/N$, sendo n_i o número de isolados de fungos da espécie e N é o número total de isolados de fungos de todas as espécies, para fins estatísticos foram utilizados os valores de $\text{Exp}(H')$.

Para o método estimativo baseado na extrapolação da curva de acumulação, foi utilizado o iNEXT do pacote “vegan”. Para calcular o número estimado de espécies foi aplicado o índice Chao de primeira ordem (Chao 1) e o índice Jackknife de primeira ordem (Jackknife 1) utilizando a função “specpool” do pacote “vegan”.

Para verificar se a assembleia de fungos endofíticos difere entre os tipos de cultivos, foi realizada a análise de Permutação multivariada (PERMANOVA) baseada na distância de Bray-Curtis. Adicionalmente, foi realizada a análise de Coordenadas Principais (PCoA) para visualizar a distribuição das assembleias de fungos endofíticos entre os cultivos orgânicos e convencionais.

Para verificar possíveis associações entre espécies de fungos endofíticos e os tipos de cultivo, foi realizada a análise de espécie indicadora (Dufrene; Legendre, 1997). O valor de indicação (IndVal) foi calculado para cada espécie e a significância dos valores foi obtida pelo teste de Monte Carlo, sendo a espécie considerada indicadora quando apresentar $p < 0,05$ e IndVal maior ou igual a 25%. Todas as análises foram desenvolvidas utilizando o programa RStudio 3.5.1 (R CORE TEAM, 2016).

A frequência relativa (FR) de isolamento foi calculada pelo número de isolados de uma espécie dividido pelo número total de isolados (Bezerra *et al.*, 2013). Diagramas de Venn foram construídos para verificar as espécies compartilhadas e exclusivas entre os tipos de cultivos utilizando a ferramenta (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>).

4.7 TESTES DE PATOGENICIDADE

Alguns fungos, isolados como potencialmente fitopatógenos, foram submetidos a testes de patogenicidade. Foi selecionado um isolado representativo de cada espécie fúngica

para as inoculações. Para isso, plantas saudas de abobrinha (*Cucurbita pepo*) e pimentão (*Capsicum annuum*) foram previamente cultivadas em casa de vegetação.

Para o teste de patogenicidade dos fungos que não esporularam, discos de micélio de 6 mm de diâmetro, com sete dias de crescimento em meio BDA, foram depositados sobre ferimentos superficiais previamente realizados, com auxílio de uma agulha estéril, em três folhas por planta. Para o controle, os mesmos procedimentos foram efetuados, contudo, discos de BDA sem micélio foram utilizados.

Para o teste de patogenicidade usando os fungos que esporulavam, foi utilizada uma suspensão de conídios (1×10^6 esporos/mL). Foram depositados 50 μ L da suspensão sobre ferimentos superficiais previamente realizados, com auxílio de uma agulha estéril, em três folhas por planta. Para o controle, os mesmos procedimentos foram efetuados, contudo, água destilada esterilizada foi utilizada no lugar da suspensão de esporos.

Um total de cinco plantas foram inoculadas para cada isolado a ser testado e cinco serviram para o controle dos testes. Após as inoculações, as plantas foram mantidas em câmara úmida por até 24h. Após manifestação dos sintomas, quando ocorreram, fragmentos entre o tecido sintomático e sadio foram retirados para isolamento indireto e os isolados recuperados foram comparados aos originalmente inoculados para comprovação da patogenicidade.

5 RESULTADOS

5.1 FUNGOS ENDOFÍTICOS DA ABOBRINHA (*Cucurbita pepo*)

Um total de 190 isolados de fungos endofíticos cultiváveis foram obtidos de folhas de abobrinha coletadas em áreas de plantio orgânico e convencional. Destes, 123 foram isolados do sistema orgânico e 67 do sistema convencional. Os isolados estão distribuídos em 17 ordens distintas, sendo um deles *incertae sedis*, 43 gêneros e 82 espécies (Tabela 4).

A maioria dos endófitos encontrados pertencem ao filo Ascomycota. Pleosporales foi a ordem mais representativa, incluindo 13 gêneros (*Alternaria*, *Bipolaris*, *Corynespora*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Exserohilum*, *Neoroussoella*, *Paraconiothyrium*, *Pararoussoella*, *Periconia*, *Stagnosporopsis*, *Stemphylium* e *Xenoroussoella*). Esta também foi a ordem com maior abundância de isolados (n = 36), sendo a espécie *Stemphylium rombundicum* (n = 8) a mais abundante (Tabela 4). Glomerellales foi a segunda ordem mais abundante com 31 isolados, distribuídos entre as espécies *C. chrysophilum* (6), *Colletotrichum* sp. 1 (5), *Colletotrichum* sp. 22 (5), *C. plurivorum* (5), *C. fructicola* (2), *Colletotrichum* sp. 2 (2), *C. brasiliense* (1), *C. feijoicola* (1), *C. karstii* (1), *C. multiseptatum* (1), *Colletotrichum* sp. 3 (1) e *Colletotrichum* sp. 19 (1). Apenas uma espécie isolada como endófito (*Deconica* sp.) pertencente ao filo Basidiomycota. Fungos zigospóricos classificados no filo Mucoromycota representaram apenas 1,57% do total de endófitos encontrados, tendo *Mucor irregularis* e *Absidia* sp. como representantes (Tabela 4).

Os endófitos, *Colletotrichum* sp. 3, *Diaporthe* sp. 8, *Nigrospora* sp. e *Absidia* sp. foram identificados apenas pelas análises dos caracteres morfológicos devido aos problemas relacionados a amplificação das regiões gênicas de interesse (Tabela 4). Com base nos resultados de similaridade entre as sequências geradas no estudo e sequências depositadas na base de dados do GenBank (percentual de identidade $\leq 98,7\%$), limitando a busca por sequências de material tipo e excluindo sequências de amostras não cultivadas/ambientais, juntamente com os resultados das análises de máxima verossimilhança (Apêndice A), possíveis novas espécies foram encontradas (*Cladosporium* sp. 1, *Cladosporium* sp. 2, *Cladosporium* sp. 3, *Colletotrichum* sp. 1, *Colletotrichum* sp. 2, *Colletotrichum* sp. 19, *Deconica* sp., *Dimorphiseta* sp., *Periconia* sp. 2, *Pyricularia* sp. 1, *Pyricularia* sp. 2, *Amphisphaeria* sp., *Clathrosporium* sp., *Diaporthe* sp. 3, *Diaporthe* sp. 6, *Diaporthe* sp. 7, *Fusarium* sp., Magnaporthales, *Neopestalotiopsis* sp., *Ophioceras* sp. e *Pararoussoella* sp.) (Tabela 4).

Tabela 4 – Classificação e frequência relativa de fungos endofíticos isolados de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*) mostradas em áreas de sistemas de cultivo orgânico e convencional em Chã Grande/Brasil. A identificação dos isolados fúngicos foi baseada na análise de sequências dos marcadores ITS, LSU, *gapdh*, *tub*, *tef*, *act* e *rpb2*, considerado o menor “e-value” e o maior percentual de identidade (Id%), segundo a plataforma NCBI do GenBank.

| Filo | Ordem | Identificação | Isolados (n°) | Fr * (%) | Marcador | Cultivo* | NCBI | | | |
|------------|------------------------|------------------------------------|---------------|------------|------------|----------|-------------|----------------|-----------------|------------|
| | | | | | | | Strain | Código GenBank | Query Cover (%) | Id (%) |
| Ascomycota | Amphisphaeriales | <i>Amphisphaeria</i> sp. | 1 | 0,81 | ITS | O | - | - | 78 | 85,27 |
| | | <i>Neopestalotiopsis siciliana</i> | 1 | 0,81 | <i>tef</i> | O | AC46 | ON107273 | 99 | 99,54 |
| | | <i>Neopestalotiopsis</i> sp. | 4 | 3,25 | <i>tef</i> | O | - | - | 99 | 94,06 |
| | | <i>Pestalotiopsis</i> sp. | 1 | 0,81 | <i>tef</i> | O | - | - | 99 | 99,53 |
| | Botryosphaeriales | <i>Lasiodiplodia</i> sp. | 5 | 4,06 | ITS | O | - | - | 100 | 100 |
| | | <i>Phyllosticta capitalensis</i> | 4 | 3,25 | <i>act</i> | O | CPC 18848 | JF343647 | 96 | 100 |
| | Cladosporiales | <i>Cladosporium benschiae</i> | 3 | 4,47 | <i>tef</i> | C | COAD 2263 | MT680207 | 98 | 97,96 |
| | | <i>Cladosporium</i> sp. 1 | 4 | 5,97 | <i>tef</i> | C | - | - | 98 | 96,37 |
| | | <i>Cladosporium</i> sp. 2 | 9 | 13,43 | <i>tef</i> | C | - | - | 98 | 97,96 |
| | | | 12 | 9,75 | <i>tef</i> | O | - | - | 98 | 98,78 |
| | | <i>Cladosporium</i> sp. 3 | 1 | 0,81 | <i>tef</i> | O | - | - | 34 | 97,10 |
| | Eurotiales | <i>Aspergillus calidoustus</i> | 1 | 1,49 | <i>tub</i> | C | CBS 121601 | FJ624456 | 99 | 100 |
| | | <i>Aspergillus terreus</i> | 1 | 1,49 | <i>tub</i> | C | NRRL 255 | LC589356 | 95 | 99,16 |
| | | <i>Penicillium citrinum</i> | 1 | 0,81 | <i>tub</i> | O | CBS 139.45 | GU944545 | 94 | 100 |
| | | <i>Penicillium olsonii</i> | 1 | 0,81 | <i>tub</i> | O | CBS 232.60 | AY674445 | 94 | 98,51 |
| | Diaporthales | <i>Diaporthe delonicis</i> | 1 | 0,81 | <i>tub</i> | O | RHP 99 | MT212209 | 99 | 100 |
| | | <i>D. masirevicii</i> | 1 | 0,81 | <i>tub</i> | O | BRIP 57892a | KJ197257 | 99 | 98,73 |
| | | <i>D. myracrodruonis</i> | 5 | 4,06 | <i>tub</i> | O | URM 7972 | MK205291 | 96 | 98,71 |
| | | <i>D. pseudomangiferae</i> | 4 | 3,25 | <i>tef</i> | O | CBS 101339 | KC343907 | 99 | 100 |
| | | <i>Diaporthe</i> sp. 1 | 1 | 0,81 | <i>tub</i> | O | - | - | 98 | 96,65 |
| | | <i>Diaporthe</i> sp. 2 | 1 | 0,81 | <i>tub</i> | O | - | - | 99 | 91,09 |
| | | <i>Diaporthe</i> sp. 3 | 4 | 3,25 | ITS | O | - | - | 100 | 96,10 |
| | | <i>Diaporthe</i> sp. 4 | 2 | 1,62 | <i>tef</i> | O | - | - | 81 | 81,71 |
| | | <i>Diaporthe</i> sp. 5 | 2 | 1,62 | <i>tef</i> | O | - | - | 99 – 100 | 97,8 -98,4 |
| | | <i>Diaporthe</i> sp. 6 | 1 | 0,81 | <i>tef</i> | O | - | - | 94 | 94,62 |
| | <i>Diaporthe</i> sp. 7 | 2 | 1,62 | <i>tef</i> | O | - | - | 73 - 78 | 85,02 | |
| | <i>Diaporthe</i> sp. 8 | 3 | 2,43 | - | O | - | - | - | - | |

Tabela 4 – Continuação.

| Filo | Ordem | Identificação | Isolados (n°) | Fr * (%) | Marcador | Cultivo* | NCBI | | | | | |
|-------------------|-------|-----------------------------------|------------------|----------------------------|--------------|----------|------------|----------------|--------------------|---------------|-----|-------|
| | | | | | | | Strain | Código GenBank | Query Cover (%) | Id (%) | | |
| Glomerellales | | <i>Colletotrichum brasiliense</i> | 1 | 1,49 | ITS | C | CBS 128501 | MH864997 | 99 | 99,44 | | |
| | | <i>C. chrysophilum</i> | 4 | 5,97 | <i>gapdh</i> | C | CMM4268 | KX094183 | 100 | 99,55 - 100 | | |
| | | | 2 | 1,62 | <i>gapdh</i> | O | CMM4268 | KX094183 | 99 - 100 | 99,52 - 100 | | |
| | | <i>C. feijoicola</i> | 1 | 0,81 | <i>gapdh</i> | O | CBS 144633 | MK876475 | 97 | 100 | | |
| | | <i>C. fructicola</i> | 1 | 1,49 | <i>gapdh</i> | C | ICMP 18581 | JX010033 | 99 | 100 | | |
| | | | 1 | 0,81 | <i>gapdh</i> | O | ICMP 18581 | JX010033 | 100 | 100 | | |
| | | <i>C. karstii</i> | 1 | 0,81 | <i>gapdh</i> | O | CORCG6 | HM585391 | 97 | 99,48 | | |
| | | <i>C. multiseptatum</i> | 1 | 0,81 | <i>gapdh</i> | O | LC 13886 | MZ664099 | 99 | 98,21 | | |
| | | <i>C. plurivorum</i> | 3 | 4,47 | <i>gapdh</i> | C | CBS 125474 | MG600781 | 99 - 100 | 99,44 - 100 | | |
| | | | 2 | 1,62 | <i>gapdh</i> | O | CBS 125474 | MG600781 | 100 | 98,46 - 100 | | |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 1 | 5 | 7,46 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 99 | 97,19 | | |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 2 | 2 | 2,98 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 98 | 98,02 | | |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 3 | 1 | 0,81 | - | O | - | - | - | - | | |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 19 | 1 | 0,81 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 99 | 97,72 | | |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 22 | 5 | 4,06 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 100 | 99,50 - 99,53 | | |
| | | Helotiales | | <i>Clathrosporium</i> sp. | 1 | 0,81 | ITS | O | - | - | 98 | 84,09 |
| | | Hypocreales | | <i>Albifimbria viridis</i> | 6 | 4,87 | ITS | O | CBS 449.71 | MH860214 | 100 | 99,79 |
| | | <i>Dimorphiseta</i> sp. | 1 | 1,49 | ITS | C | - | - | 99 | 96,43 | | |
| | | <i>Fusarium weifangense</i> | 1 | 0,81 | <i>rpb2</i> | O | LC18333 | OQ125515 | 99 | 99,09 | | |
| | | <i>Fusarium</i> sp. | 1 | 0,81 | <i>rpb2</i> | O | - | - | 100 | 94,60 | | |
| | | <i>Gregatothecium humicola</i> | 1 | 0,81 | <i>tub</i> | O | CBS 205.96 | KU846432 | 99 | 98,28 | | |
| | | <i>Sarocladium terricola</i> | 1 | 1,49 | ITS | C | CBS 243.59 | MH857853 | 97 | 99,58 | | |
| | | <i>Xenomyrothecium tongaense</i> | 1 | 0,81 | ITS | O | CBS 598.80 | NR_154511 | 99 | 97,73 | | |
| Incertae sedis | | <i>Thyridium cornearis</i> | 2 | 1,62 | ITS | O | CBS 131711 | KJ573445 | 98 | 100 | | |
| Magnaporthales | | <i>Pyricularia</i> sp. 1 | 4 | 5,97 | ITS | C | - | - | 94 | 97,06 | | |
| | | <i>Pyricularia</i> sp. 2 | 1 | 1,49 | ITS | C | - | - | 96 | 96,15 | | |
| | | <i>Pyricularia oryzae</i> | 4 | 3,25 | ITS | O | CBS 365.52 | MH857082 | 100 | 99,56 | | |
| | | <i>Pyricularia urashimae</i> | 2 | 1,62 | ITS | O | CPC 29414 | NR_154361 | 100 | 99,79 | | |
| | | Magnaporthales sp. | 1 | 0,81 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 70 | 86,05 | | |
| | | <i>Ophioceras</i> sp. | 1 | 0,81 | ITS | O | - | - | 100 | 94,37 | | |
| Mycosphaerellales | | <i>Cercospora manoa</i> | 1 | 0,81 | ITS | O | ICMP 21762 | MK210542 | 100 | 100 | | |
| | | <i>Cercospora</i> sp. | 1 | 0,81 | ITS | O | - | - | 100 | 100 | | |

Tabela 4 – Continuação.

| Filo | Ordem | Identificação | Isolados (n°) | Fr * (%) | Marcador | Cultivo* | NCBI | | | | |
|------|----------------|---|------------------------------|-------------|-------------------|----------|----------------|-----------------------|--------------------|--------|-------|
| | | | | | | | Strain | Código GenBank | Query Cover (%) | Id (%) | |
| | Muyocopronales | <i>Muyocopron chromolaenicola</i> | 1 | 0,81 | ITS | O | MFLUCC 17-1470 | MT137778 | 99 | 99,80 | |
| | Pleosporales | <i>Alternaria burnsii</i> | 1 | 1,49 | <i>gapdh</i> | C | CBS 107.38 | JQ646305 | 97 | 100 | |
| | | <i>Bipolaris bicolor</i> | 1 | 1,49 | ITS | C | CBS 690.96 | KJ909762 | 100 | 99,23 | |
| | | <i>Bipolaris maydis</i> | 1 | 0,81 | <i>gapdh</i> | O | CBS 136.29 | LT715779 | 100 | 100 | |
| | | <i>Corynespora pseudocassiicola</i> | 2 | 2,98 | LSU | C | CPC 31708 | MH327830 | 100 | 99,52 | |
| | | <i>Curvularia affinis</i> | 2 | 2,98 | <i>gapdh</i> | C | CBS 154.34 | LT715785 | 100 | 98,94 | |
| | | <i>Curvularia intermedia</i> | 1 | 1,49 | <i>gapdh</i> | C | CBS 334.64 | LT715828 | 99 | 99,82 | |
| | | <i>Epicoccum andropogonearum</i> | 1 | 0,81 | ITS | O | BRIP 72450a | OK442369 | 100 | 100 | |
| | | <i>Exserohilum turcicum</i> | 2 | 2,98 | <i>gapdh</i> | C | CBS 690.71 | LT882581 | 100 | 99,18 | |
| | | <i>Neorousoella leucaenae</i> | 1 | 0,81 | ITS | O | MFLUCC 17-0927 | NR_165226 | 97 | 99,60 | |
| | | <i>Neorousoella</i> sp. | 2 | 1,62 | ITS | O | - | - | 100 | 99,61 | |
| | | <i>Paraconiothyrium</i> sp. | 1 | 0,81 | ITS | O | - | - | 100 | 99,22 | |
| | | <i>Pararousoella</i> sp. | 1 | 0,81 | ITS | O | - | - | 96 | 92,74 | |
| | | <i>Periconia</i> sp. 1 | 1 | 0,81 | ITS | O | - | - | 99 | 98,60 | |
| | | <i>Periconia</i> sp. 2 | 1 | 1,49 | ITS | C | - | - | 95 | 99,77 | |
| | | <i>Stagonosporopsis caricae</i> | 1 | 1,49 | ITS | C | CBS 282.76 | MH860977 | 99 | 100 | |
| | | | 6 | 4,87 | ITS | O | CBS 282.76 | MH860977 | 99 | 100 | |
| | | | 8 | 11,94 | <i>gapdh</i> /ITS | C | UMSI0010 | MK336865/ MK336819 | 99 | 100 | |
| | | | 3 | 2,43 | ITS | O | MFLUCC 17-1438 | MT214343 | 97 | 99,78 | |
| | | Trichosphaerales | <i>Gibellulopsis serrae</i> | 1 | 1,49 | ITS | C | CBS 290.30 | NR_164414 | 94 | 99,59 |
| | | | <i>Stachylidium pallidum</i> | 1 | 1,49 | ITS | C | DAOM 226658 | LR026838 | 93 | 98,50 |

Tabela 4 – Continuação.

| Filo | Ordem | Identificação | Isolados (n°) | Fr * (%) | Marcador | Cultivo* | NCBI | | | |
|---------------|-------------|--------------------------------|---------------|----------|------------|----------|---------------|----------------|-----------------|--------|
| | | | | | | | Strain | Código GenBank | Query Cover (%) | Id (%) |
| | Valsariales | <i>Myrmaecium rubricosum</i> | 1 | 0,81 | ITS | O | CBS 139069 | KP687884 | 100 | 100 |
| | Xylariales | <i>Nigrospora hainanensis</i> | 6 | 4,87 | <i>tef</i> | O | CGMCC3.18129 | KY019415 | 100 | 99,54 |
| | | <i>N. sacchari-officinarum</i> | 1 | 0,81 | <i>tef</i> | O | CGMCC 3.19335 | NR_165926 | 100 | 100 |
| | | <i>Nigrospora</i> sp. | 2 | 2,98 | - | C | - | - | - | - |
| Basidiomycota | Agaricales | <i>Deconica</i> sp. | 1 | 0,81 | ITS | O | - | - | 99 | 94,57 |
| Mucoromycota | Mucorales | <i>Absidia</i> sp. | 2 | - | - | C | - | - | - | - |
| | | <i>Mucor irregularis</i> | 1 | 1,49 | LSU | C | CBS 103.93 | NG_056285 | 100 | 99,40 |
| TOTAL | | | 190 | | | | | | | |

*C: Convencional; O: Orgânico; Fr: Frequência relativa

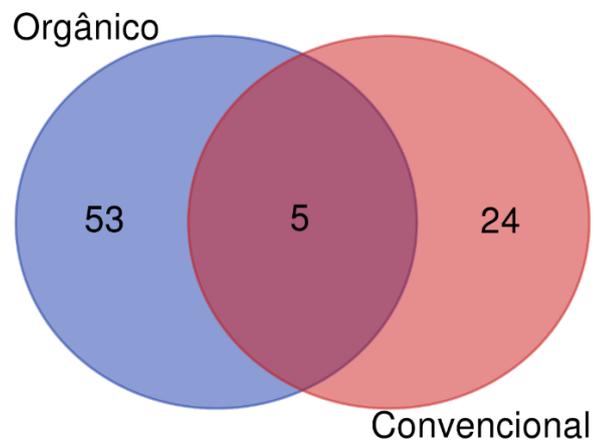
Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Stemphylium rombundicum, *Colletotrichum multiseptatum*, *Xenorousoella triseptata*, *Neorousoella leucaenae*, *Neopestalotiopsis siciliana*, *Muyocopron chromolaenicola*, *Fusarium weifangense* e *Diaporthe delonicis* são novas ocorrências para o Brasil (Tabela 4).

5.1.1 Diversidade, riqueza e composição de espécies de fungos endofíticos associados a folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), cultivada em sistemas de manejo orgânico e convencional

Entre as 82 espécies de fungos endofíticos encontradas nesta planta, 53 foram encontradas apenas em folhas coletadas no sistema de manejo orgânico, enquanto que 24 foram isoladas apenas em folhas coletadas no sistema de manejo convencional. *Colletotrichum chrysophilum*, *C. fructicola*, *C. plurivorum*, *Stagonosporopsis caricae* e *Cladosporium* sp. 2 foram isolados nos dois sistemas de cultivo (Figura 9).

Figura 9 – Diagrama de Venn mostrando o número de espécies isoladas de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), compartilhadas entre os sistemas de cultivo orgânico e convencional.



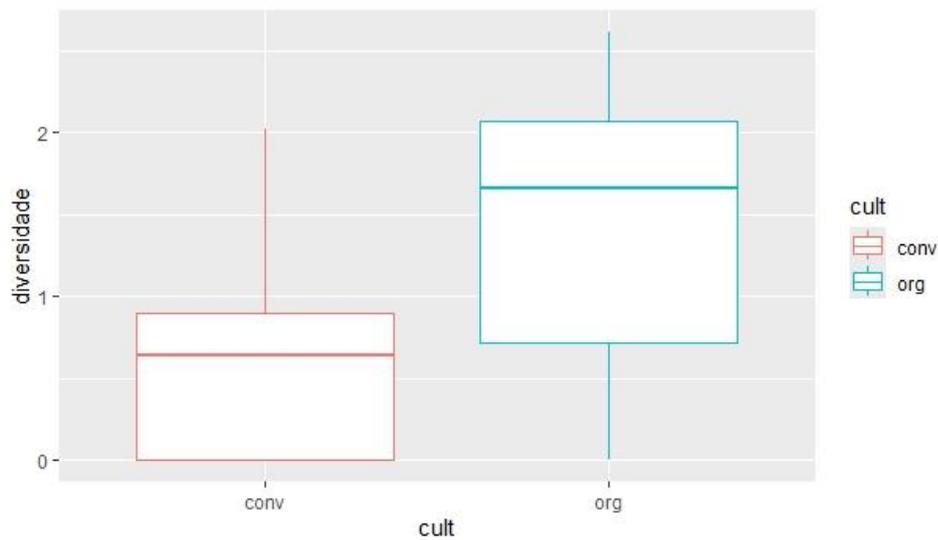
Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Cladosporium sp. 2 foi a espécie mais frequente no sistema convencional representando 13,43% dos isolados ($n = 9$), seguido de *Stemphylium rombundicum* e *Colletotrichum* sp. 1 com 11,94% ($n = 8$) e 7,46% ($n = 5$) dos isolados, respectivamente. *Cladosporium* sp. 2 também exibiu alta frequência, com 9,75% ($n = 12$) dos isolados no sistema orgânico, seguido de *Albifimbria viridis*, *Stagonosporopsis caricae* e *Nigrospora hainanensis*, cada um deles com seis isolados (4,87%) (Tabela 4). Trinta e seis espécies exibiram baixa frequência (0,81%) no sistema orgânico, enquanto que 15 exibiram baixa

frequência (1,49%) no sistema convencional, sendo menos comuns e ocorrendo apenas uma vez (Tabela 4).

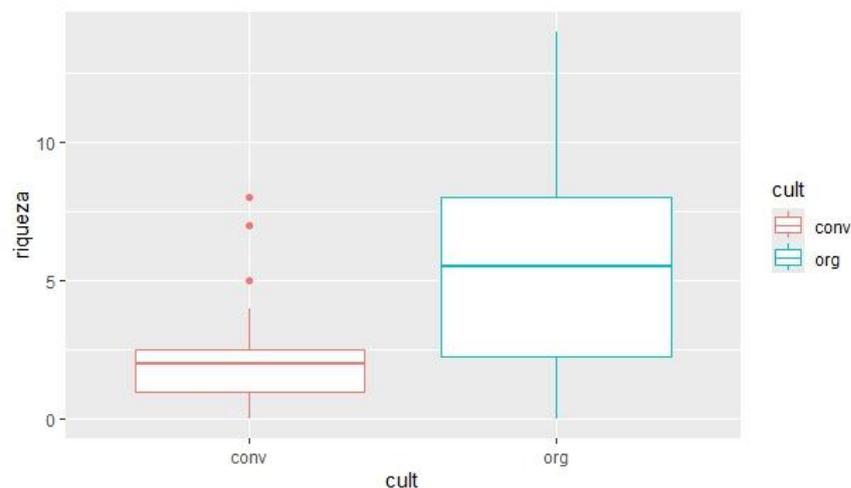
A diversidade ($H' = 1,35$ vs $H' = 0,59$) e a riqueza de espécies (5,66 vs 2,18) de fungos endofíticos associados às folhas de abobrinha cultivada no sistema de manejo orgânico foram significativamente maiores do que aquelas encontradas no sistema de manejo convencional. As análises de diversidade (Figura 10) e riqueza de espécies (Figura 11) revelaram diferenças estatísticas significativas entre os sistemas de cultivo.

Figura 10 – Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') de fungos endofíticos isolados de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), cultivada em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (con) ($p < 0,05$).



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

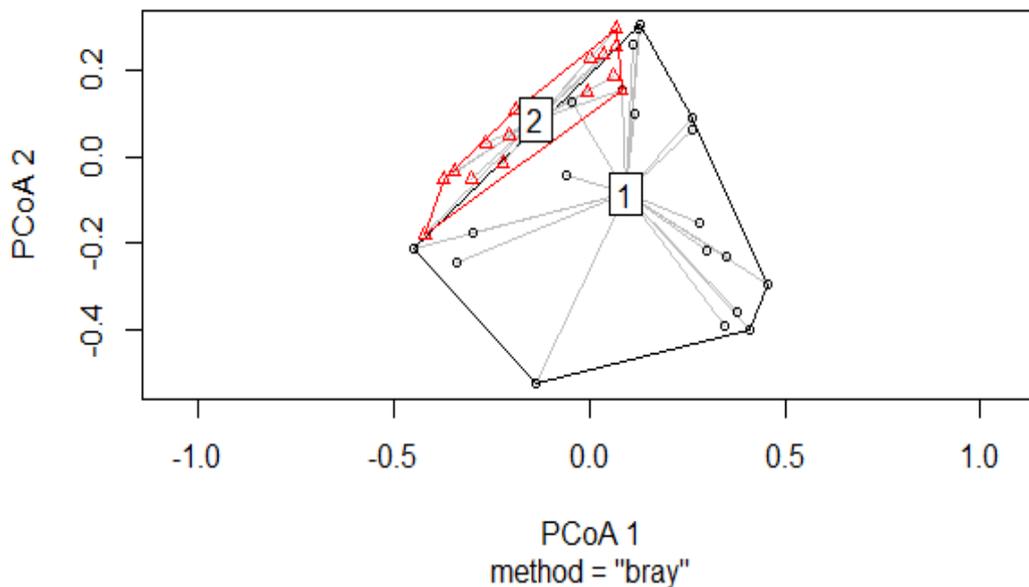
Figura 11 – Riqueza de espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), cultivada em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (con) ($p < 0,05$).



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Com base na Análise de Coordenadas Principais (PCoA), podemos observar a distribuição das comunidades de fungos endofíticos nos diferentes tipos de cultivo orgânico e convencional em folhas de abobrinha (Figura 12). A análise da PERMANOVA ($p = 0,39$) mostrou que a composição da comunidade não difere estatisticamente entre os sistemas de cultivo.

Figura 12 – Análise de Coordenadas (componentes) Principais (PCoA) baseada na dissimilaridade de Bray-Curtis, mostrando a influência dos sistemas de cultivo convencional (1) e orgânico (2) na composição da comunidade de fungos endofíticos em folhas de abobrinha.



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Diferentes indicadores de espécies para as áreas estudadas foram detectados; quatro espécies foram associadas ao cultivo orgânico de abobrinha: *Albifimbria viridis*, *Nigrospora hainanensis*, *Lasiodiplodia* sp. e *Pyricularia oryzae*. Enquanto, apenas uma foi associada ao cultivo convencional: *Stemphylium rombundicum* (Tabela 5).

Tabela 5 – Espécies endofíticas indicadoras do tipo de cultivo da abobrinha (IndVal $\geq 25\%$, $p < 0,05$).

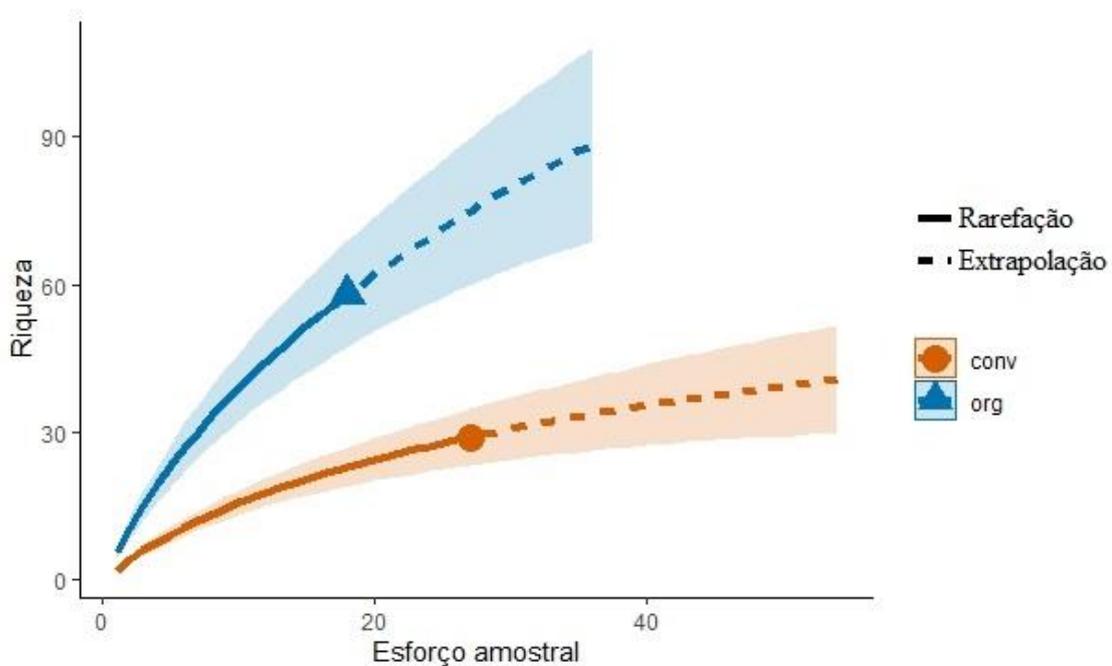
| TÁXON INDICADOR | CULTIVO ORGÂNICO | | CULTIVO CONVENCIONAL | |
|--------------------------------|------------------|-------|----------------------|-------|
| | IV | p | IV | p |
| <i>Albifimbria viridis</i> | 52,7 | 0,005 | | |
| <i>Nigrospora hainanensis</i> | 52,7 | 0,011 | | |
| <i>Lasiodiplodia</i> sp. | 47,1 | 0,027 | | |
| <i>Pyricularia oryzae</i> | 47,1 | 0,030 | | |
| <i>Stemphylium rombundicum</i> | | | 54,4 | 0,014 |

Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

5.1.2 Curva de acumulação de espécies e suficiência amostral de fungos endofíticos associados a folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), cultivada em sistemas de manejo orgânico e convencional

A curva de acumulação e extrapolação de espécies construída com base no índice Chao de primeira ordem (Chao 1) não atingiu o ponto de estabilização, contudo, o esforço amostral foi suficiente para recuperar 54,71% e 40,50% da riqueza esperada de fungos endofíticos em folhas de abobrinha cultivada em sistemas de manejo convencional e orgânico, respectivamente (Figura 13).

Figura 13 – Curva de acumulação e extrapolação de espécies, baseada na Diversidade de Shannon, para fungos endofíticos recuperados de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*), cultivada em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (conv).



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

5.1.3 Fungos potencialmente patogênicos isolados de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*) com sintomas de doenças fúngicas

Foram isoladas 25 espécies de fungos potencialmente patogênicos associados a lesões em folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*). Destas, 20 foram isoladas de folhas com sintomas de doença encontradas no sistema convencional, das quais duas (*Diaporthe* sp. e *Fusarium citri*) foram isoladas de folhas doentes encontradas no sistema orgânico e três (*Stagonosporopsis caricae*, *Fusarium* sp. 1 e *Fusarium* sp. 2) foram isoladas de folhas

doentes de ambos os cultivos. *Stagonosporopsis caricae* e *Fusarium ruthhalliae* foram as espécies que apresentaram maior ocorrência de isolamento no cultivo orgânico e convencional, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6 – Ocorrência de fungos potencialmente patogênicos isolados de folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*) com sintomas de doenças fúngicas, cultivada em sistemas de manejo orgânico e convencional.

| ESPÉCIES | TIPO DE ISOLAMENTO | OCORRÊNCIA (número de isolados) | |
|--------------------------------------|--------------------|---------------------------------|----------------------|
| | | CULTIVO ORGÂNICO | CULTIVO CONVENCIONAL |
| <i>Alternaria</i> sp. | Indireto | | 3 |
| <i>Alternaria jacinthicola</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Bipolaris bicolor</i> | Indireto | | 3 |
| <i>Colletotrichum chrysophilum</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Colletotrichum karstii</i> | Indireto | | 3 |
| <i>Colletotrichum plurivorum</i> | Indireto | | 4 |
| <i>Colletotrichum</i> sp. | Indireto | | 1 |
| <i>Curvularia intermedia</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Curvularia lunata</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Curvularia muehlenbeckiae</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Curvularia verruculosa</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Diaporthe miriciae</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Diaporthe</i> sp. | Direto | 2 | |
| <i>Epicoccum andropogonearum</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Epicoccum keratinophilum</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Exserohilum rostratum</i> | Indireto | | 5 |
| <i>Fusarium citri</i> | Direto e indireto | 6 | |
| <i>Fusarium ruthhalliae</i> | Indireto | | 8 |
| <i>Fusarium</i> sp. 1 | Direto e indireto | 9 | 4 |
| <i>Fusarium</i> sp. 2 | Indireto | 1 | 1 |
| <i>Neofusicoccum kwambonambiense</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Phyllosticta</i> sp. | Indireto | | 1 |
| <i>Pseudopithomyces</i> sp. | Indireto | | 2 |
| <i>Stagonosporopsis caricae</i> | Direto e indireto | 20 | 3 |
| <i>Stagonosporopsis</i> sp. | Indireto | | 2 |

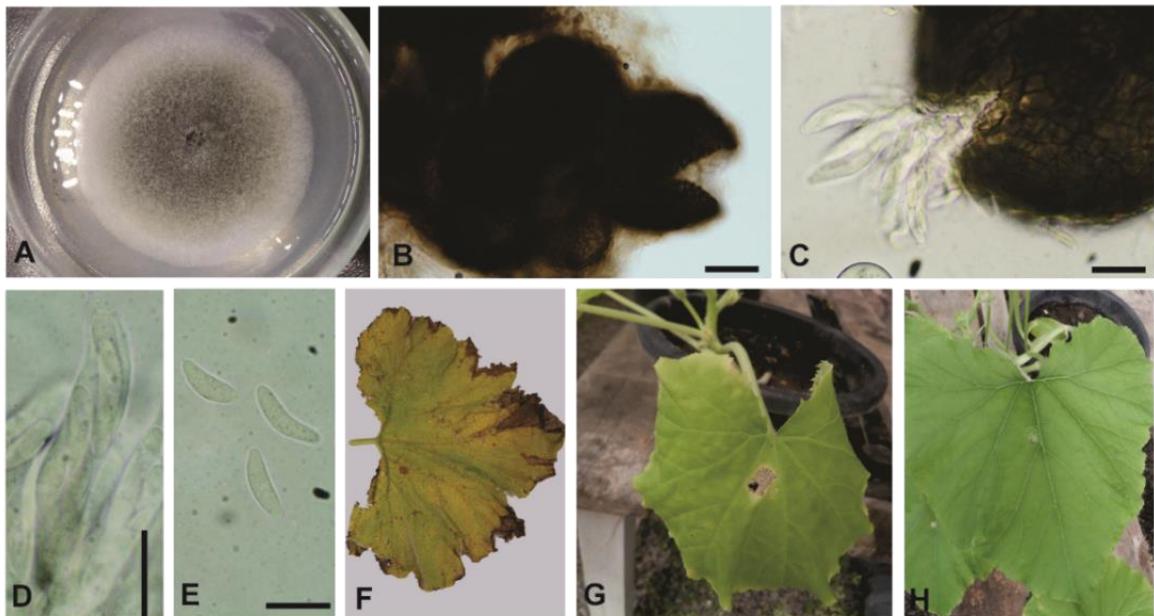
Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

5.1.3.1 Teste de patogenicidade em folhas de abobrinha (*Cucurbita pepo*)

As espécies *Colletotrichum plurivorum* (Figura 14 e Apêndice B), *Curvularia intermedia* (Figura 15) e *Bipolaris bicolor* (Figura 16), isoladas como potencialmente patogênicas em folhas de abobrinha, foram submetidas ao teste de patogenicidade pela metodologia do disco de micélio. Após sete dias, os sintomas da doença já eram evidentes nos pontos de inoculação; as plantas do controle permaneceram saudáveis. No isolamento indireto do tecido doente, foram recuperadas colônias com caracteres morfológicos idênticos aos do fungo inoculado, e o patógeno foi reisolado, confirmando a patogenicidade pelo postulado de

Koch. Até onde sabemos, este é o primeiro registro dessas espécies causando doença em folhas de *Cucurbita pepo* no Brasil.

Figura 14 – Colônia em BDA (A); Peritécio (B); Peritécio e ascos (C); Asco (D); Ascósporos (E); Folha de abobrinha com sintomas de doença (F); Sintomas em folhas de abobrinha resultantes da inoculação com *Colletotrichum plurivorum* após sete dias (G); Folha controle (H). Barras de escala: B = 100 μ m e C – E = 10 μ m.



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Figura 15 – Teste de patogenicidade em casa de vegetação (A); Sintomas em folhas de abobrinha resultantes da inoculação com *Curvularia intermedia* após sete dias (B); Folha controle (C).



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Figura 16 – Teste de patogenicidade em casa de vegetação (A); Sintomas em folhas de abobrinha resultantes da inoculação com *Bipolaris bicolor* após sete dias (B); Folha controle (C).



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Stagonosporopsis sp. isolado como potencialmente patogênico foi submetido ao teste de patogenicidade pelo método de suspensão de conídios, porém não causou doença em folhas de abobrinha.

5.2 FUNGOS ENDOFÍTICOS DO PIMENTÃO (*Capsicum annuum*)

Um total de 786 isolados de fungos endofíticos cultiváveis foram obtidos de folhas de pimentão coletadas em áreas de plantio orgânico e convencional. Destes, 404 foram isolados no sistema orgânico e 382 no sistema convencional. Os isolados estão distribuídos em 13 ordens distintas, sendo um deles *incertae sedis*, 36 gêneros e 92 espécies (Tabela 7).

A maioria dos endófitos encontrados pertencem ao filo Ascomycota. Pleosporales foi a ordem mais representativa, incluindo 14 gêneros. Glomerellales foi a ordem mais abundante com 419 isolados, distribuídos em 38 espécies do gênero *Colletotrichum* (Tabela 7). Duas novas espécies (*Colletotrichum capsicola* e *C. pernambucoense*) foram descritas para a ciência (Apêndice C) e a primeira ocorrência de *Allophoma brasiliensis* foi reportada em uma área agrícola inserida em um fragmento de Mata Atlântica brasileira (Apêndice D). *Colletotrichum multiseptatum*, *Stemphylium rombundicum*, *Epicoccum brahmanense* e *Fusarium ruthhalliae* são novas ocorrências para o Brasil (Tabela 7).

Tabela 7 – Classificação e frequência relativa de fungos endofíticos isolados de folhas de pimentão (*Capsicum annuum*) mostradas em áreas de sistemas de cultivo orgânico e convencional em Chã Grande/Brasil. A identificação dos isolados fúngicos foi baseada na análise de sequências dos marcadores ITS, LSU, *gapdh*, *tub*, *tef*, *act*, *rpb1* e *rpb2*, considerado o menor “e-value” e o maior percentual de identidade (Id%), segundo a plataforma NCBI do GenBank. Espécies em negrito foram descritas no estudo.

| Filo | Ordem | Identificação | Isolados (n°) | Fr * (%) | Marcador | Cultivo* | NCBI | | | | |
|----------------------|-------------------|---------------------------------|------------------------------|----------|--------------|--------------|------------|----------------|-----------------|------------|-------------|
| | | | | | | | Strain | Código GenBank | Query Cover (%) | Id (%) | |
| Ascomycota | Amphisphaeriales | <i>Neopestalotiopsis cubana</i> | 20 | 4,95 | <i>tef</i> | O | CBS 600.96 | KM199521 | 99 | 99,54 | |
| | | <i>N. pernambucana</i> | 1 | 0,24 | <i>tef</i> | O | URM 7148 | KU306739 | 99 | 100 | |
| | | <i>Pestalotiopsis</i> sp. | 1 | 0,26 | ITS | C | - | - | 99 | 99,23 | |
| | Botryosphaeriales | <i>Cophinforma</i> | <i>atrovirens</i> | 6 | 1,48 | ITS | O | CBS 124934 | NR_164291 | 100 | 100 |
| | | | <i>Lasiodiplodia</i> sp. 1 | 3 | 0,74 | ITS | O | - | - | 100 | 100 |
| | | <i>Phyllosticta</i> | <i>capitalensis</i> | 115 | 30,10 | <i>act</i> | C | CPC 18848 | JF343647 | 96 - 98 | 99,50 - 100 |
| | | | | 8 | 1,98 | <i>act</i> | O | CPC18848 | JF343647 | 96 | 99,47 |
| | | | <i>Phyllosticta</i> sp. 1 | 5 | 1,23 | - | O | - | - | - | - |
| | | | <i>Phyllosticta</i> sp. 2 | 70 | 17,32 | ITS | O | CPC18848 | JF343647 | 100 | 99,64 |
| | Cladosporiales | <i>Cladosporium</i> sp. | 1 | 13 | 3,40 | <i>tef</i> | C | - | - | 98 | 93,37 |
| | | | 3 | 1 | 0,24 | ITS | O | - | - | 100 | 100 |
| | | | 4 | 1 | 0,24 | ITS | O | - | - | 100 | 100 |
| | Diaporthales | <i>Diaporthe kongii</i> | | 1 | 0,26 | ITS | C | BRIP 54031 | NR_111616 | 97 | 99,39 |
| | | | | 1 | 0,24 | ITS | O | BRIP 54031 | NR_111616 | 97 | 99,09 |
| | | <i>Diaporthe</i> sp. | 1 | 1 | 0,26 | <i>tub</i> | C | - | - | 98 | 96,70 |
| | | | 2 | 1 | 0,24 | ITS | O | CBS 111553 | NR_145303 | 100 | 97,98 |
| | Eurotiales | <i>Penicillium oxalicum</i> | 1 | 0,24 | ITS | O | CBS 219.30 | MH855125 | 100 | 100 | |
| | Glomerellales | <i>C. brevisporum</i> | | 3 | 0,74 | <i>gapdh</i> | O | BCC 38876 | JN050227 | 99 | 98,31 |
| | | | <i>C. capsicicola</i> | 3 | 0,78 | <i>gapdh</i> | C | - | - | - | - |
| | | | <i>C. changpingense</i> | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | MFLUCC 15-0022 | KP852469 | 94 | 98,98 |
| | | | <i>C. chrysophilum</i> | 55 | 14,39 | <i>gapdh</i> | C | CMM4268 | KX094183 | 100 | 98,6 - 100 |
| | | | <i>C. cliviicola</i> | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | CBS 125375 | MG600795 | 100 | 99,01 |
| | | | <i>C. falcatum</i> | 1 | 0,26 | ITS | C | CBS 127945 | NR_144793 | 99 | 100 |
| <i>C. fructicola</i> | | | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | ICMP 18581 | JX010033 | 100 | 100 | |
| <i>C. gigasporum</i> | | | 2 | 0,52 | ITS | C | CBS 133266 | NR_145380 | 97 | 98,5 - 100 | |
| | | | 2 | 0,49 | ITS | O | CBS 133266 | NR_145380 | 98 | 99,79 | |
| <i>C. karstii</i> | | | 2 | 0,52 | <i>gapdh</i> | C | CORCG6 | HM585391 | 97 | 98,96 | |
| | | | 15 | 3,71 | <i>gapdh</i> | O | CORCG6 | HM585391 | 97 | 100 | |

Tabela 7 – Continuação.

| Filo | Ordem | Identificação | Isolados (n°) | Fr * (%) | Marcador | Cultivo* | NCBI | | | |
|------------------------------|-------|---------------------------------|------------------|-------------|--------------|----------|-------------|-------------------|--------------------|-------------|
| | | | | | | | Strain | Código GenBank | Query Cover (%) | Id (%) |
| Glomerellales | | <i>C. multiseptatum</i> | 3 | 0,78 | <i>gapdh</i> | C | LC 13886 | MZ664099 | 100 | 98,35 |
| | | <i>C. musicola</i> | 9 | 2,35 | <i>gapdh</i> | C | CBS 132885 | MG600798 | 98 - 100 | 99,50 - 100 |
| | | <i>C. orchidearum</i> | 3 | 0,78 | <i>gapdh</i> | C | CBS 135131 | MG600800 | 99 | 98,94 |
| | | <i>C. parsonsiae</i> | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | CBS 128525 | JQ005320 | 98 | 98,07 |
| | | <i>C. pernambucoense</i> | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | - | - | - | - |
| | | <i>C. plurivorum</i> | 29 | 7,59 | <i>gapdh</i> | C | CBS 125474 | MG600781 | 99 - 100 | 98,91 - 100 |
| | | | 14 | 3,46 | <i>gapdh</i> | O | CBS 125474 | MG600781 | 100 | 100 |
| | | <i>C. tropicale</i> | 1 | 0,24 | <i>gapdh</i> | O | CBS 124949 | JX010007 | 100 | 100 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 1 | 27 | 7,06 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 84 | 95,63 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 2 | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 96 | 97,23 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 3 | 2 | 0,52 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 100 | 96,53 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 4 | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 84 | 95,63 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 5 | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 88 | 95,20 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 6 | 1 | 0,26 | - | C | - | - | - | - |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 7 | 1 | 0,26 | - | C | - | - | - | - |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 8 | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 100 | 92,86 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 9 | 3 | 0,78 | - | C | - | - | - | - |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 10 | 2 | 0,52 | ITS | C | - | - | 99 - 100 | 99,6 - 99,8 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 11 | 1 | 0,24 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 100 | 95,69 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 12 | 33 | 8,16 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 100 | 96,51 |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 13 | 3 | 0,74 | - | O | - | - | - | - |
| | | <i>Colletotrichum</i> sp. 14 | 1 | 0,24 | - | O | - | - | - | - |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 15 | 89 | 22,02 | - | O | - | - | - | - | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 16 | 2 | 0,52 | ITS | C | - | - | 98 - 99 | 99,16 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 17 | 1 | 0,26 | ITS | C | - | - | 99 | 99,22 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 18 | 1 | 0,26 | ITS | C | - | - | 100 | 98,85 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 19 | 5 | 1,23 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 99 | 98,05 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 20 | 8 | 1,98 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 100 | 100 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 21 | 6 | 1,48 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 100 | 97,87 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 22 | 82 | 20,29 | <i>gapdh</i> | O | - | - | 100 | 99,55 | | |
| Hypocreales | | <i>Dimorphiseta</i> sp. | 1 | 0,24 | ITS | O | CBS 127345 | NR_154009 | 99 | 97,23 |
| | | <i>Fusarium lacertarum</i> | 1 | 0,26 | <i>rpb1</i> | C | NRRL 20423 | JX171467 | 100 | 100 |
| | | <i>Fusarium ruthhalliae</i> | 4 | 0,99 | <i>rpb2</i> | O | BRIP 72406h | OP627084 | 100 | 99,60 |
| | | <i>Fusarium</i> sp. 1 | 1 | 0,26 | - | C | - | - | - | - |

Tabela 7 – Continuação.

| Filo | Ordem | Identificação | Isolados (n°) | Fr * (%) | Marcador | Cultivo* | NCBI | | | |
|------|-------------------|--------------------------------------|---------------|----------|--------------|----------|-----------------|----------------|-----------------|------------|
| | | | | | | | Strain | Código GenBank | Query Cover (%) | Id (%) |
| | Hypocreales | <i>Fusarium</i> sp. 2 | 1 | 0,26 | ITS | C | - | | 92 | 100 |
| | | <i>Xepicula leucotricha</i> | 1 | 0,24 | ITS | O | CBS 256.57 | MH857712 | 100 | 99,81 |
| | Incertae sedis | | 1 | 0,26 | ITS | C | MFLUCC 16-0385 | KX655559 | 99 | 99,61 |
| | | <i>Leptospora thailandica</i> | | | | | | | | |
| | | Ascomycota sp. 1 | 1 | 0,24 | - | O | - | - | - | - |
| | | Ascomycota sp. 2 | 3 | 0,74 | - | O | - | - | - | - |
| | | Sordariomycetes | 1 | 0,26 | <i>tef</i> | C | - | - | 74 | 86,54 |
| | Magnaporthales | <i>Pyricularia oryzae</i> | 2 | 0,52 | ITS | C | CBS 365.52 | MH857082 | 100 | 99,58 |
| | Mycosphaerellales | <i>Cercospora</i> sp. | 9 | 2,35 | ITS | C | - | - | 100 | 100 |
| | Pleosporales | <i>Allophoma brasiliensis</i> | 1 | 0,26 | <i>rpb2</i> | C | URM 8563 | OP311927 | 92 | 100 |
| | | <i>Alternaria jacinthicola</i> | 3 | 0,78 | <i>gapdh</i> | C | CBS 133751 | KP124287 | 99 | 99,63 |
| | | <i>Alternaria</i> sp. 1 | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | YZU 161050 | OP352303 | 99 | 98,16 |
| | | <i>Alternaria</i> sp. 2 | 1 | 0,26 | ITS | C | - | - | 99 | 100 |
| | | | 1 | 0,24 | ITS | O | - | - | 100 | 100 |
| | | <i>Apiospora</i> sp. | 2 | 0,52 | ITS | C | - | - | 99 | 98,89 |
| | | <i>Boeremia</i> sp. | 4 | 1,04 | <i>tub</i> | C | CBS 200.37 | MW815124 | 100 | 97,21 |
| | | <i>Cumuliphoma indica</i> | 1 | 0,26 | ITS | C | CBS 654.77 | FJ427043 | 97 | 100 |
| | | <i>Curvularia verruculosa</i> | 1 | 0,26 | ITS | C | CBS 150.63 | MH858247 | 99 | 100 |
| | | <i>Ectophoma multirostrata</i> | 4 | 1,04 | <i>rpb2</i> | C | CBS 274.60 | LT623265 | 100 | 99,64 |
| | | <i>Epicoccum andropogonearum</i> | 5 | 1,30 | ITS | C | BRIP 72450a | OK442369 | 99 | 100 |
| | | <i>E. brahmanense</i> | 2 | 0,52 | <i>rpb2</i> | C | CBS 990.95 | MT018120 | 87 | 99,57 |
| | | <i>E. keratinophilum</i> | 2 | 0,52 | ITS | C | UTHSC: DI16-271 | LT592930 | 99 - 100 | 99,8 - 100 |
| | | <i>E. keratinophilum</i> | 1 | 0,24 | ITS | O | UTHSC DI16-271 | NR_158278 | 100 | 100 |
| | | <i>Exserohilum</i> sp. | 1 | 0,26 | <i>gapdh</i> | C | - | - | 99 | 87,02 |
| | | <i>Leptosphaerulina</i> sp. | 3 | 0,78 | ITS | C | - | - | 100 | 100 |
| | | | 1 | 0,24 | ITS | O | - | - | 100 | 100 |
| | | <i>Pararoussoella</i> sp. | 7 | 1,73 | ITS | O | - | - | 85 | 96,53 |
| | | <i>Remotididymella anthropophila</i> | 3 | 0,78 | ITS | C | UTHSC DI16-278 | NR_158279 | 99 | 99,56 |

Tabela 7 – Continuação.

| Filo | Ordem | Identificação | Isolados (n°) | Fr * (%) | Marcador | Cultivo* | NCBI | | | |
|--------------|-------------------|------------------------------------|------------------|-------------|-------------------|----------|--------------|-----------------------|--------------------|------------|
| | | | | | | | Strain | Código GenBank | Query Cover (%) | Id (%) |
| | Pleosporales | <i>Stagonosporopsis caricae</i> | 14 | 3,66 | ITS | C | CBS 282.76 | MH860977 | 99 | 99,80 |
| | | <i>Stemphylium rombundicum</i> | 19 | 4,97 | <i>gapdh</i> /ITS | C | UMSI0010 | MK336865/ MK336819 | 98 - 99 | 99 - 100 |
| | Trichosphaeriales | <i>Plectosphaerella</i> sp. | 1 | 0,26 | LSU | C | - | - | 100 | 99,80 |
| | Xylariales | <i>Hypomontagnella monticulosa</i> | 1 | 0,26 | ITS | C | MUCL 54604 | KY610404 | 100 | 98,43 |
| | | <i>Microdochium</i> sp. | 2 | 0,52 | ITS | C | - | - | 100 | 98,54 |
| | | <i>Nigrospora hainanensis</i> | 2 | 0,52 | <i>tef</i> | C | CGMCC3.18129 | KY019415 | 98 | 99,23 |
| | | <i>Nodulisporium verrucosum</i> | 1 | 0,24 | ITS | O | CGMCC3.18129 | NR_153480 | 100 | 100 |
| | | <i>Xylaria</i> sp. 1 | 1 | 0,26 | ITS | C | - | - | 99 | 99,07 |
| | | <i>Xylaria</i> sp. 2 | 2 | 0,52 | ITS | C | - | - | 100 | 99,80 |
| | | <i>Xylaria</i> sp. 3 | 2 | 0,52 | <i>rpb2</i> | C | - | - | 100 | 96,96 - 97 |
| Mucoromycota | Mucorales | <i>Mucor</i> sp. | 2 | 0,49 | LSU | O | - | - | 100 | 100 |
| TOTAL | | | 786 | | | | | | | |

*C: Convencional; O: Orgânico; Fr: Frequência relativa

Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Botryosphaerales foi a segunda ordem mais abundante com 207 isolados, distribuídos entre as espécies *Phyllosticta capitalensis* (123), *Phyllosticta* sp. 2 (70), *Cophinforma atrovirens* (6), *Phyllosticta* sp. 1 (5) e *Lasiodiplodia* sp. 1 (3). Fungos zigospóricos classificados no filo Mucoromycota (*Mucor* sp.), foram observados em apenas 0,25% do total de endófitos encontrados no pimentão (Tabela 7).

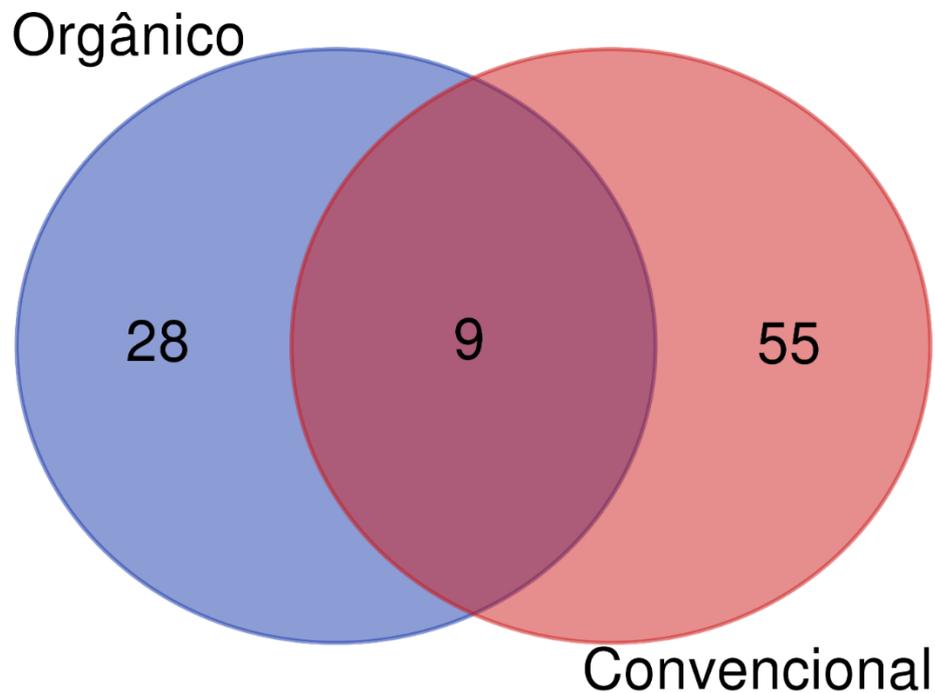
Os endófitos, *Phyllosticta* sp. 1, *Colletotrichum* sp. 6, *Colletotrichum* sp. 7, *Colletotrichum* sp. 9, *Colletotrichum* sp. 13, *Colletotrichum* sp. 14, *Colletotrichum* sp. 15, *Fusarium* sp. 1, Ascomycota sp. 1 e Ascomycota sp. 2 foram identificados apenas pelas análises dos caracteres morfológicos devido aos problemas relacionados a amplificação das regiões gênicas de interesse (Tabela 7).

Com base nos resultados de similaridade entre as sequências geradas no estudo e sequências depositadas na base de dados do GenBank (percentual de identidade $\leq 98,5\%$), limitando a busca por sequências de material tipo e excluindo sequências de amostras não cultivadas/ambientais, juntamente com os resultados das análises de máxima verossimilhança (Apêndice A), possíveis novas espécies (*Cladosporium* sp. 1, *Diaporthe* sp. 1, *Diaporthe* sp. 2, *Colletotrichum* sp. 1, *Colletotrichum* sp. 2, *Colletotrichum* sp. 3, *Colletotrichum* sp. 4, *Colletotrichum* sp. 5, *Colletotrichum* sp. 8, *Colletotrichum* sp. 11, *Colletotrichum* sp. 12, *Colletotrichum* sp. 19, *Colletotrichum* sp. 21, *Dimorphiseta* sp., Sordariomycetes, *Apiospora* sp., *Boeremia* sp., *Exserohilum* sp., *Pararousoella* sp., *Plectosphaerella* sp., *Microdochium* sp. e *Xylaria* sp. 3) foram encontradas (Tabela 7).

5.2.1 Diversidade, riqueza e composição de espécies de fungos endofíticos associados a folhas de pimentão (*Capsicum annuum*), cultivado em sistemas de manejo orgânico e convencional

Cinquenta e cinco espécies de fungos endofíticos foram encontradas apenas em folhas coletadas no sistema de manejo convencional, enquanto que 28 foram isoladas apenas em folhas coletadas no sistema de manejo orgânico. *Colletotrichum gigasporum*, *C. karstii*, *C. plurivorum*, *Diaporthe kongii*, *Epicoccum keratinophilum*, *Leptosphaerulina* sp., *Nigrospora hainanensis*, *Phyllosticta capitalensis* e *Alternaria* sp. 2 foram isoladas nos dois sistemas de cultivo (Figura 17).

Figura 17 – Diagrama de Venn mostrando o número de espécies isoladas de folhas de pimentão (*Capsicum annuum*), compartilhadas entre os sistemas de cultivo orgânico e convencional.

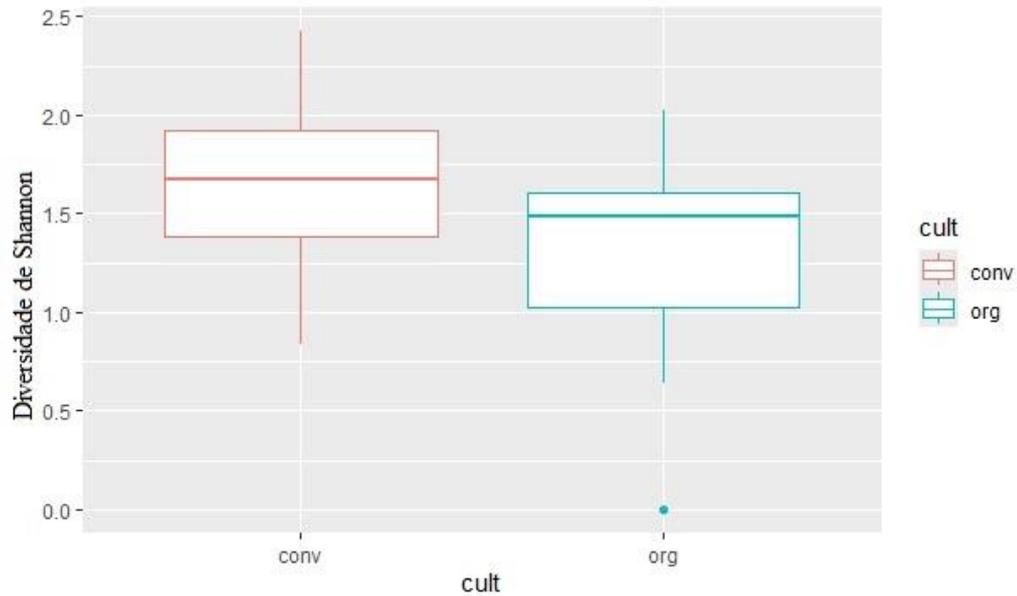


Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Phyllosticta capitalensis foi a espécie mais frequente no sistema convencional com 115 representantes (30,10%), seguido de *Colletotrichum chrysophilum* e *Colletotrichum plurivorum* com 55 (14,39%) e 29 (7,59%) representantes, respectivamente. Já no sistema orgânico, *Colletotrichum* sp. 15 foi a espécie mais frequente com 89 representantes (22,02%), seguido de *Colletotrichum* sp. 22 e *Phyllosticta* sp. 2 com 82 (20,29%) e 70 (17,32%) isolados, respectivamente (Tabela 7). Trinta e duas espécies exibiram baixa frequência (0,26%) no sistema convencional, enquanto que 16 exibiram baixa frequência (0,24%) no sistema orgânico, sendo menos comuns e ocorrendo uma única vez (Tabela 7).

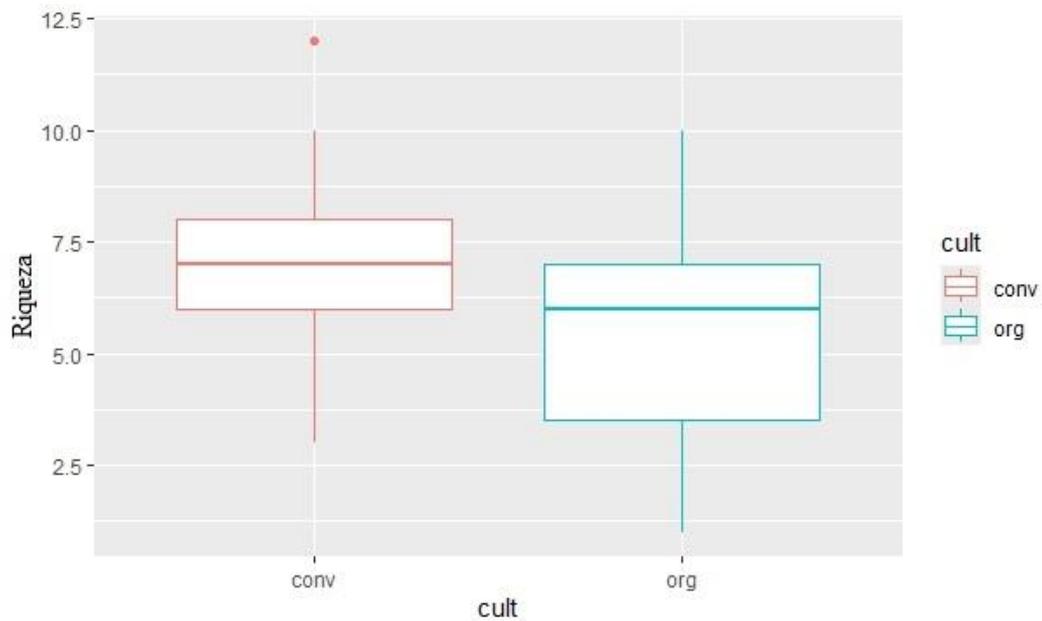
A diversidade ($H' = 1,63$ vs $H' = 1,26$) e a riqueza de espécies (6,74 vs 5,33) de fungos endofíticos associados às folhas de pimentão cultivado no sistema de manejo convencional foram significativamente maiores do que aquelas encontradas no sistema de manejo orgânico. As análises de diversidade (Figura 18) e riqueza de espécies (Figura 19) revelaram diferenças estatísticas significativas entre os sistemas de cultivo.

Figura 18 – Índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') de fungos endofíticos isolados de folhas de pimentão (*Capsicum annuum*), cultivado em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (con) ($p < 0,05$).



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Figura 19 – Riqueza de espécies de fungos endofíticos isolados de folhas de pimentão (*Capsicum annuum*), cultivado em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (con) ($p < 0,05$).

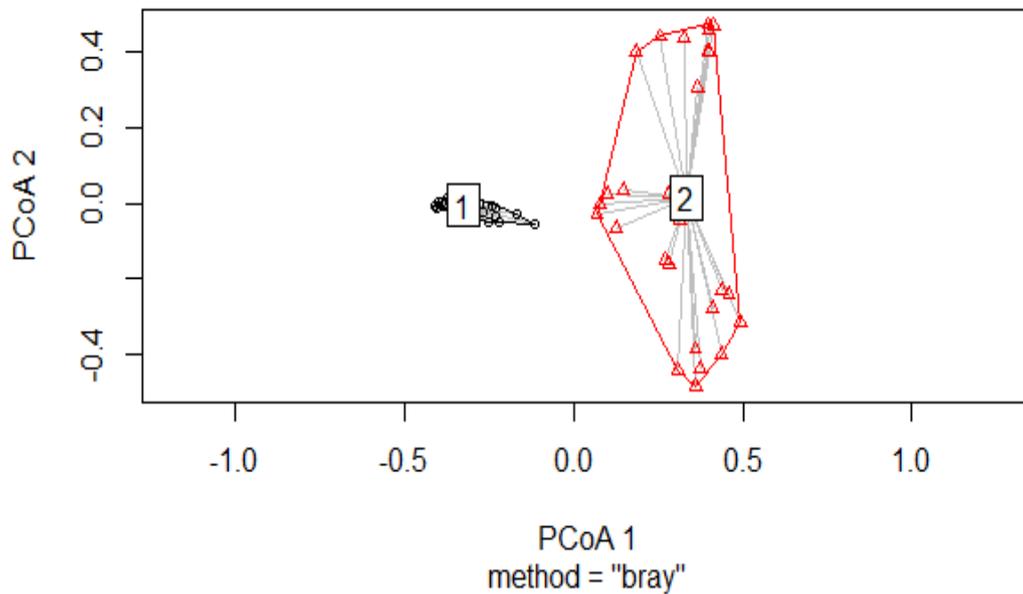


Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Com base na Análise de Coordenadas Principais (PCoA), podemos observar a distribuição das comunidades de fungos endofíticos nos diferentes tipos de cultivo orgânico e convencional em folhas de pimentão (Figura 20). A análise da PERMANOVA ($p = 0,02$) mostrou que a composição da comunidade difere estatisticamente entre os sistemas de cultivo,

revelando que a composição da comunidade de fungos endofíticos em folhas de pimentão pode ser modulada por diferentes práticas agrícolas.

Figura 20 – Análise de Coordenadas (componentes) Principais (PCoA) baseada na dissimilaridade de Bray-Curtis, mostrando a influência dos sistemas de cultivo convencional (1) e orgânico (2) na composição da comunidade de fungos endofíticos em folhas de pimentão.



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Diferentes indicadores de espécies foram detectados para as áreas estudadas; nove espécies foram associadas ao cultivo orgânico do pimentão: *Colletotrichum* sp. 22, *Phyllosticta* sp. 2, *Colletotrichum* sp. 15, *Colletotrichum karstii*, *Colletotrichum* sp. 12, *Colletotrichum* sp. 20, *Colletotrichum* sp. 21, *Cophinforma atrovirens* e *Neopestalotiopsis cubana*. Enquanto oito foram associadas ao cultivo convencional: *Colletotrichum chrysophilum*, *Phyllosticta capitalensis*, *Colletotrichum* sp. 1, *Stemphylium rombundicum*, *Cercospora* sp., *Cladosporium* sp. 1, *Colletotrichum musicola* e *Epicoccum andropogonearum* (Tabela 8).

Tabela 8 – Espécies endofíticas indicadoras do tipo de cultivo do pimentão (IndVal \geq 25%, $p < 0,05$).

| TÁXON INDICADOR | CULTIVO ORGÂNICO | | CULTIVO CONVENCIONAL | |
|-------------------------------|------------------|-------|----------------------|-----|
| | IV | p | IV | p |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 22 | 86,1 | 0,001 | | |
| <i>Phyllosticta</i> sp. 2 | 69,4 | 0,001 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 15 | 60,9 | 0,001 | | |
| <i>Colletotrichum karstii</i> | 60 | 0,003 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 12 | 54,4 | 0,011 | | |

Tabela 8 – Continuação.

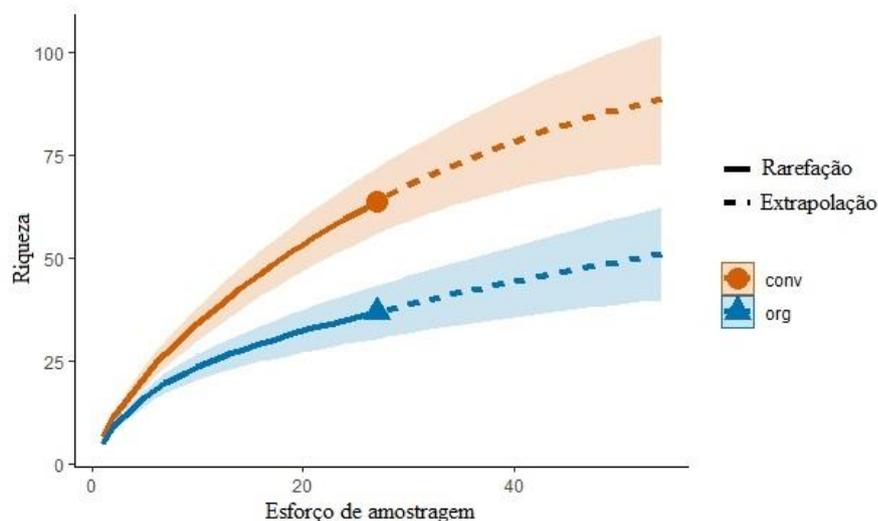
| TÁXON INDICADOR | CULTIVO ORGÂNICO | | CULTIVO CONVENCIONAL | |
|------------------------------------|------------------|----------|----------------------|----------|
| | IV | <i>p</i> | IV | <i>p</i> |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 20 | 47,1 | 0,019 | | |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 21 | 47,1 | 0,029 | | |
| <i>Cophinforma atrovirens</i> | 47,1 | 0,024 | | |
| <i>Neopestalotiopsis cubana</i> | 47,1 | 0,019 | | |
| <i>Colletotrichum chrysophilum</i> | | | 90,3 | 0,001 |
| <i>Phyllosticta capitalensis</i> | | | 89,2 | 0,001 |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 1 | | | 66,7 | 0,001 |
| <i>Stemphylium rombudicum</i> | | | 54,4 | 0,007 |
| <i>Cercospora</i> sp. | | | 50,9 | 0,014 |
| <i>Cladosporium</i> sp. 1 | | | 50,9 | 0,013 |
| <i>Colletotrichum musicola</i> | | | 47,1 | 0,027 |
| <i>Epicoccum andropogonearum</i> | | | 43,0 | 0,050 |

Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

5.2.2 Curva de acumulação de espécies e suficiência amostral de fungos endofíticos associados a folhas de pimentão (*Capsicum annuum*), cultivado em sistemas de manejo orgânico e convencional

A curva de acumulação e extrapolação de espécies construída com base no índice Jackknife de primeira ordem (Jackknife 1) não atingiu um ponto de estabilização, contudo, o esforço amostral foi suficiente para recuperar 64% e 71% da riqueza esperada de fungos endofíticos em folhas de pimentão cultivado em sistemas de manejo convencional e orgânico, respectivamente (Figura 21).

Figura 21 – Curva de acumulação e extrapolação de espécies, baseada na Diversidade de Shannon, para fungos endofíticos recuperados de folhas de pimentão (*Capsicum annuum*), cultivado em sistemas de manejo orgânico (org) e convencional (conv).



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

5.2.3 Fungos potencialmente patogênicos isolados de folhas de pimentão (*Capsicum annuum*) com sintomas de doenças fúngicas

Foram isoladas 22 espécies de fungos potencialmente patogênicos associados a lesões em folhas de pimentão (*Capsicum annuum*). Destas, 11 foram isoladas de folhas com sintomas de doença encontradas no sistema convencional, sete foram isoladas de folhas doentes encontradas no sistema orgânico e quatro (*Colletotrichum karstii*, *Colletotrichum* sp., *Cumuliphoma indica* e *Stagonosporopsis caricae*) foram isoladas de folhas doentes de ambos os cultivos. *Stagonosporopsis caricae* e *Colletotrichum* sp. 20 foram as espécies que apresentaram maior ocorrência de isolamento no cultivo convencional e orgânico, respectivamente (Tabela 9).

Tabela 9 – Ocorrência de fungos potencialmente patogênicos isolados de folhas de pimentão (*Capsicum annuum*) com sintomas de doenças fúngicas, cultivado em sistemas de manejo orgânico e convencional.

| ESPÉCIES | TIPO DE ISOLAMENTO | OCORRÊNCIA (número de isolados) | |
|--------------------------------------|--------------------|---------------------------------|----------------------|
| | | CULTIVO ORGÂNICO | CULTIVO CONVENCIONAL |
| <i>Cladosporium</i> sp. | Indireto | | 1 |
| <i>Colletotrichum chrysophilum</i> | Indireto | | 11 |
| <i>Colletotrichum karstii</i> | Indireto | 1 | 3 |
| <i>Colletotrichum</i> sp. | Indireto | 6 | 1 |
| <i>Colletotrichum</i> sp. 20 | Direto e indireto | 8 | |
| <i>Cumuliphoma indica</i> | Direto e Indireto | 1 | 1 |
| <i>Curvularia intermedia</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Diaporthe masirevicii</i> | Indireto | | 5 |
| <i>Ectophoma</i> sp. | Indireto | | 1 |
| <i>Ectophoma multirostrata</i> | Indireto | 1 | |
| <i>Epicoccum andropogonearum</i> | Indireto | | 1 |
| <i>Fusarium</i> sp. | Indireto | 3 | |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | Indireto | 1 | |
| <i>Fusarium paranaense</i> | Indireto | 1 | |
| <i>Fusarium ruthhalliae</i> | Indireto | 5 | |
| <i>Leptosphaerulina</i> sp. 1 | Direto e indireto | | 7 |
| <i>Nigrospora</i> sp. | Direto | 1 | |
| <i>Periconia</i> sp. 1 | Direto | | 1 |
| <i>Periconia</i> sp. 2 | Direto | | 1 |
| <i>Phyllosticta capitalensis</i> | Indireto | | 2 |
| <i>Remotididymella anthropophila</i> | Direto | | 1 |
| <i>Stagonosporopsis caricae</i> | Direto e indireto | 4 | 14 |

Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

5.2.3.1 Teste de patogenicidade em folhas de pimentão (*Capsicum annuum*)

A espécie *Epicoccum andropogonearum* (Figura 22), isolada como potencialmente patogênica em folhas de pimentão, foi submetida ao teste de patogenicidade pela metodologia do disco de micélio. Após sete dias, os sintomas da doença já eram evidentes nos pontos de inoculação; as plantas do controle permaneceram saudáveis. No isolamento indireto do tecido doente, foram recuperadas colônias com caracteres morfológicos idênticos aos do fungo inoculado, e o patógeno foi reisolado, confirmando a patogenicidade pelo postulado de Koch. Até onde sabemos, este é o primeiro registro da espécie causando doença em folhas de *Capsicum annuum* no Brasil.

Figura 22 – Teste de patogenicidade em casa de vegetação, plantas de pimentão em câmara úmida (A); Sintomas em folhas de pimentão resultantes da inoculação com *Epicoccum andropogonearum* após sete dias (B); Folha controle (C).



Fonte: Oliveira, T.G.L. (2024).

Colletotrichum karstii e *Colletotrichum chrysophilum* isoladas como potencialmente patogênicas foram submetidas ao teste de patogenicidade pelo método de suspensão de conídios, porém não causaram doença em folhas de pimentão.

6 DISCUSSÃO

Estudos sobre a diversidade de fungos endofíticos encontrados em diferentes biomas e sobre o potencial desses fungos para a produção de compostos bioativos com aplicações biotecnológicas, têm sido bastante explorados nos últimos anos (Pádua *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Oliveira, R. *et al.*, 2020; Oliveira, T. *et al.*, 2020; Jagannath *et al.*, 2021; Oita *et al.*, 2021; Ferro *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2023). Porém, estudos que envolvem a compreensão da diversidade fúngica, riqueza e as principais funções ecológicas das comunidades fúngicas endofíticas em diferentes tipos de cultivo de hortaliças, frutas e grãos são escassos (Oliveira *et al.*, 2014a; Radić *et al.*, 2014; Stuart *et al.*, 2018; Xia *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2020). Xia *et al.* (2019) destacaram a relevância da interação entre fungos endofíticos e seus hospedeiros vegetais, sinalizando a ocorrência de endófitos significativamente importantes para a melhoria da produção dos frutos, crescimento e biomassa da parte aérea das plantas do tomateiro, possibilitando novos estudos para a aplicação desses fungos na produção agrícola sustentável.

Um grande número de isolados foi encontrado em folhas de abobrinha ($n = 190$) e pimentão ($n = 786$) cultivadas em sistemas de manejo orgânico e convencional. Os endófitos das folhas de abobrinha foram distribuídos em 82 espécies, das quais 21 são prováveis novidades taxonômicas. Ademais, os endófitos das folhas de pimentão foram distribuídos em 92 espécies, das quais 22 são prováveis novidades taxonômicas com um total de duas espécies já descritas ao longo do desenvolvimento deste estudo.

O coeficiente de dissimilaridade de Bray-Curtis utilizado na análise da PERMANOVA emprega dados quantitativos de abundância de espécies para examinar se diferentes tipos de cultivo podem influenciar na composição da comunidade endofítica (Dastogeer *et al.*, 2017). Os resultados do presente estudo mostraram que diferentes sistemas agrícolas podem influenciar a diversidade e a riqueza de espécies, hospedar comunidades endofíticas distintas e as espécies recuperadas podem ser diferentes de acordo com as hortaliças estudadas.

A diversidade e a riqueza de espécies de fungos endofíticos associados às folhas de abobrinha foram significativamente maiores no sistema de manejo orgânico, porém a distribuição das comunidades de fungos endofíticos não difere estatisticamente entre as práticas agrícolas. Resultados semelhantes foram obtidos por Radić *et al.* (2014) que observaram maiores índices de Shannon e abundância em vinhedos orgânicos. Suas análises mostraram que as práticas agrícolas não afetaram a composição das comunidades de endófitos radiculares presentes nos vinhedos.

No estudo realizado por Xia *et al.* (2019), diferentes culturas de hortaliças economicamente importantes como o milho, tomate, pimenta e melancia abrigaram numerosos táxons e a diversidade e abundância das espécies endofíticas relatadas foram significativamente maiores nos campos orgânicos comparado com aqueles manejados convencionalmente. Isto também reflete as descobertas de Onlamun; Boonthavee; Brooks (2023) estudando fungos endofíticos cultiváveis em plantações orgânicas de chá. Segundo os autores, uma razão atribuída a isto é que os agroquímicos dispuseram maior impacto nas comunidades de fungos endofíticos presentes nas raízes e folhas jovens de *Camellia sinensis*. No entanto, Oliveira *et al.* (2014a) e Chen *et al.* (2020) não observaram influência das práticas agrícolas orgânicas e convencionais na comunidade endofítica presente em culturas de café e crucíferas, respectivamente.

Essas diferenças existentes nas comunidades endofíticas entre os sistemas de cultivo podem ser atribuídas a práticas agrícolas que degradam os benefícios da simbiose endofítica, como a aplicação de tratamentos químicos sintéticos para a manutenção prolongada das culturas utilizadas na agricultura convencional. Os agroquímicos afetam negativamente o microbioma do solo e das plantas, causando efeitos não intencionais e significativos em organismos não-alvo, provocando competições quando espécies fúngicas concorrentes são suprimidas, e um desequilíbrio ecológico quando ocorre o aumento da frequência de alguns gêneros em detrimento de outros (Nettles *et al.*, 2016; Stuart *et al.*, 2018; Chang *et al.*, 2023).

Curiosamente, a diferença significativa entre a diversidade e a riqueza de espécies de fungos endofíticos associados às folhas do pimentão cultivado no sistema de manejo convencional foi maior quando comparada ao orgânico. Além disso, houve diferença estatística em relação à estrutura das comunidades de fungos endofíticos distribuídas entre os sistemas de cultivo. Apesar da aplicação de produtos químicos com ação fungicida (Amistar Top) na cultura do pimentão, o impacto da perturbação química não afetou a comunidade endofítica, indicando um sistema rico em espécies. Este resultado concorda com estudos anteriores como os de Nettles *et al.* (2016) e Win; Matsumura; Fukuda (2021), onde tratamentos de sementes do milho e plantas de chá com pesticidas não influenciaram a estrutura da comunidade endofítica foliar, respectivamente. Segundo Win; Matsumura; Fukuda (2021), sistemas agrícolas manejados sob tratamentos químicos, mantêm as plantas nutridas e menos susceptíveis ao ataque de pragas e doenças.

Há poucos relatos sobre a associação de fungos endofíticos em abobrinha e pimentão. No entanto, El-Hasan *et al.* (2022) evidenciam a presença dos endófitos *Macrophomina phaseolina*, *Aspergillus* sp., *Aspergillus foveolatus*, *Albifimbria terrestris*, *Penicillium*

oxalicum, *Cylindrobasidium evolvens*, *Myrothecium cinctum* e *Purpureocillium lilacinum* em raízes do pimentão coletadas em regiões de solos variáveis no Quênia (Nyandarua, Kilifi e Kiambu).

Espécies do filo Ascomycota foram as mais comumente encontradas nos sistemas de cultivo orgânico e convencional da abobrinha e do pimentão. A dominância de grupos taxonômicos do filo Ascomycota na diversidade de fungos endofíticos é consistente com estudos anteriores relacionados a culturas de vinhas (Radić *et al.*, 2014), café (Oliveira *et al.*, 2014a), milho, tomate, pimenta, melancia (Xia *et al.*, 2019), repolho chinês, rabanete, repolho branco (Chen *et al.*, 2020) e cenoura (Abdelrazek *et al.*, 2020), desenvolvidas em sistemas de manejo orgânico e convencional. Ademais, as espécies mais frequentemente encontradas no estudo foram distribuídas nas ordens Botryosphaerales, Cladosporiales, Glomerellales, Hypocreales, Pleosporales e Hypocreales. Estas ordens são representadas por gêneros usualmente registrados como endófitos e patógenos associados a hospedeiros vegetais das famílias *Cucurbitaceae* e *Solanaceae* (Arena; Bernal; Imperial, 2019; Marin-Felix *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2020; Bessadat *et al.*, 2022; Biswas *et al.*, 2023).

Novas ocorrências para o Brasil foram descobertas no presente estudo. Táxons isolados como endófitos de folhas de *Cucurbita pepo* foram registrados em outros hospedeiros e substratos: *Neorousoella leucaenae* foi catalogada em vagens em decomposição de *Leucaena* sp. e *Pterocarpus* sp. na Tailândia (Jayasiri *et al.*, 2019). *Muyocopron chromolaenicola* foi encontrado em caules mortos de *Chromolaena odorata* na Tailândia (Mapook *et al.*, 2020). *Xenorousoella triseptata* foi mencionada em caules mortos de *C. odorata* na Tailândia (Mapook *et al.*, 2020), galhos mortos presos a *Anomianthus dulcis* e *Desmos chinensis* também na Tailândia (de Silva *et al.*, 2022) e no solo na Coreia do Sul (Ryu *et al.*, 2022). *Neopestalotiopsis siciliana* foi registrada em hastes lesionadas de *Persea americana* na Itália (Fiorenza *et al.*, 2022). *Diaporthe delonicis* foi encontrado em vagens de sementes secas de *Delonix regia* e associado à mancha foliar de *Pteris grandifolia*, ambos na Tailândia (Perera *et al.*, 2020; Seifollahi *et al.*, 2023) e *Fusarium weifangense* foi isolado a partir de tecidos sintomáticos de crosta de trigo na China (Han *et al.*, 2023).

Stemphylium rombundicum e *Colletotrichum multiseptatum*, ambos isolados como endófitos de folhas de *Cucurbita pepo* e *Capsicum annuum*, foram registrados por Marin-Felix *et al.* (2019) causando lesões em frutos de *Solanum lycopersicum* (*Solanaceae*) na Austrália e em colmo morto de uma *Poaceae* na China (Liu *et al.*, 2022), respectivamente.

Allophoma brasiliensis isolada como endófito em folhas de *Capsicum annuum* em área agrícola inserida em um fragmento de Mata Atlântica brasileira, foi reportada como novo

registro de distribuição geográfica. A primeira ocorrência da espécie, isolada de moscas de morcego (*Trichobius* sp.), ocorreu no Parque Nacional do Catimbau, localizado no domínio da Caatinga (Carvalho *et al.*, 2022).

Epicoccum brahmanense e *Fusarium ruthhalliae*, ambos isolados como endófitos de folhas de *Capsicum annuum*, também são primeiras ocorrências para o Brasil. *Epicoccum brahmanense* foi isolado do solo em uma floresta tropical na Papua Nova Guiné (Hou *et al.*, 2020). *Fusarium ruthhalliae* também isolado como potencialmente patogênico de folhas de abobrinha e pimentão, foi registrado por Tan; Shivas (2022) na inflorescência de *Sorghum plumosum* na Austrália.

Entre os endófitos identificados, *Cladosporium* sp. 2 foi a espécie mais frequentemente isolada de folhas de abobrinha no sistema convencional (13,43%) e orgânico (9,75%). Espécies de *Cladosporium* foram relatadas como endófitos em culturas de crucíferas como *Brassica rapa*, *B. oleracea* e *Raphanus sativus* cultivadas em sistemas de manejo orgânico e convencional (Chen *et al.*, 2020). Oliveira *et al.* (2014a) também relataram táxons de *Cladosporium* em folhas maduras e saudáveis de *Coffea arabica* em ambos os tipos de cultivo, porém com menor frequência no sistema orgânico. Onlamun; Boonthavee; Brooks (2023) relataram *Cladosporium* sp. apenas no sistema orgânico de plantas de chá (*Camellia sinensis*). O gênero *Cladosporium* (*Cladosporiaceae*) compreende três complexos de espécies que representam táxons com alta adaptabilidade ecológica, estabelecendo interações endofíticas, sapróbias e patogênicas com diferentes linhagens de plantas, além de causar micoses e reações alérgicas nos seres humanos (Salvatore; Andolfi; Nicoletti, 2021; Lee *et al.*, 2023). Além disso, é um gênero bastante explorado pela capacidade de extração de metabólitos secundários (Salvatore; Andolfi; Nicoletti, 2021). Cepas de *Cladosporium* apresentam grande potencial como fertilizante microbiano, atuando na promoção do crescimento de plantas para produção sustentável de cultivares (Yang *et al.*, 2023).

No presente estudo, *Phyllosticta capitalensis* (*Phyllostictaceae*) foi a espécie endofítica mais frequentemente isolada de folhas de pimentão no sistema convencional (30,10%), contudo no estudo realizado por Oliveira *et al.* (2014a), *P. capitalensis* foi a terceira mais frequente no café convencional e a mais frequente no café orgânico. A ocorrência desta espécie endofítica é relatada em uma ampla variedade de plantas hospedeiras (Pádua *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2023), inclusive outras espécies como *P. citricarpa*, estão relacionadas a patogenicidade, causando manchas pretas nos *Citrus* (Wang *et al.*, 2020; Buijs *et al.*, 2021). Os endófitos, *P. capitalensis* e *P. paracapitalensis*, mostraram potenciais efeitos antagônicos contra *P. citricarpa* e podem ser utilizados para o controle

biológico desta doença economicamente importante para a cultura dos citros (Tran *et al.*, 2019). Seis complexos foram introduzidos por Norphanphoun *et al.* (2020) para resolver a identificação taxonômica das espécies de *Phyllosticta* devido às sobreposições de caracteres morfológicos e associações de hospedeiros existentes no grupo.

Colletotrichum sp. 15 foi a espécie mais frequentemente (22,02%) isolada de folhas de pimentão no sistema orgânico, o que também pode ser visto no estudo realizado por Oliveira *et al.* (2014a) e Chen *et al.* (2020) que revelaram a dominância de *Colletotrichum* em culturas de café, repolho chinês, rabanete e repolho branco, cultivadas em sistemas de manejo orgânico e convencional. O gênero *Colletotrichum* (*Glomerellaceae*) é classificado em 14 complexos monofiléticos que incluem táxons com estilos de vida endofítico, sapróbio, fitopatogênico e alguns patógenos oportunistas dos seres humanos (Jayawardena *et al.*, 2021, Bhunjun *et al.*, 2021). Cepas endofíticas de *Colletotrichum* já demonstraram competências valiosas para o desenvolvimento de espécies vegetais de importância econômica, atuando no aumento do crescimento, produção, biocontrole e na indução de resistência a patógenos (Díaz-González *et al.*, 2020; Casas *et al.*, 2021).

Ponderando o fato de que a curva de acumulação e extrapolação de espécies não atingiu o ponto de estabilização para a riqueza esperada de fungos endofíticos em folhas de abobrinha e pimentão cultivada em sistemas de manejo convencional e orgânico, novas coletas são necessárias para avaliar e recuperar a riqueza de endófitos nestes vegetais.

Espécies de fungos endofíticos podem ser utilizadas como bioindicadores dos sistemas de manejo agrícola e essa característica pode ser atribuída às diferenças no contexto ambiental e mudanças fisiológicas do hospedeiro, contribuindo assim para a distribuição das espécies (Silva *et al.*, 2023). No estudo realizado por Camatti-Sartori *et al.* (2005), *Sporobolomyces roseus*, isolado apenas de folhas de *Malus domestica*, e o gênero *Pichia*, isolado apenas dos frutos, podem ser utilizados, respectivamente, como indicadores para pomares orgânicos e sistemas integrados de produção de macieira. Abdelrazek *et al.* (2020), estudando endófitos radiculares de *Daucus carota* subsp. *sativus*, observaram que os gêneros *Alternaria*, *Fusarium*, *Plectosphaerella* e *Rhizoctonia* estão correlacionados ao manejo orgânico da cenoura. De acordo com Silva *et al.* (2023), a preferência dos táxons pode estar relacionada às circunstâncias favoráveis que cada ambiente pode proporcionar para o desenvolvimento e o papel ecológico funcional desses isolados. Os fungos são excelentes bioindicadores por apresentar distribuição onipresente e alta sensibilidade às mudanças ambientais (Warnasuriya *et al.*, 2023).

Transições entre características endofíticas e patogênicas estão presentes ao longo da evolução dos Ascomycota (Arnold *et al.*, 2009). Provavelmente, espécies fitopatogênicas são capazes de colonizar plantas assintomaticamente e permanecerem como patógenos latentes. No presente estudo, *Colletotrichum plurivorum*, *Curvularia intermedia* e *Bipolaris bicolor* foram isoladas como endófitos e como potencialmente patogênicas, provocando sintomas de doença quando inoculadas em folhas de abobrinha. Até onde sabemos, esse é o primeiro registro dessas espécies causando doença em folhas de *Cucurbita pepo* no Brasil. O mesmo ocorreu para *Colletotrichum chrysophilum*, *C. karstii*, *Epicoccum andropogonearum* e *Stagonosporopsis caricae*, porém não foram submetidas ao teste de patogenicidade. Essas espécies já foram mencionadas como agentes patogênicos, causando antracnose e manchas foliares em *Cucurbitaceae*, incluindo *Citrullus lanatus* (Guo *et al.*, 2022) e *Sechium edule* (Zhang *et al.*, 2023) na China, em *Fragaria × ananassa* no Brasil (Soares *et al.*, 2021), *Carica papaya* no México (Pacheco-Esteva *et al.*, 2022), em plantas de importância econômica como a seringueira (Liang *et al.*, 2019), gramas (Tan *et al.*, 2022) e gramíneas relevantes para produção pecuária em pastagens como é o caso do *Lolium multiflorum* (Li J; Li M; Gao, 2019). No entanto, existem relatos desses isolados colonizando tecidos vegetais saudáveis (Vieira *et al.*, 2017; Sukarno *et al.*, 2021; Ferro *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2023).

Epicoccum andropogonearum, isolado como potencialmente patogênico, provocou sintomas de doença quando inoculado em folhas de pimentão. Até onde sabemos, esse é o primeiro registro da espécie causando doença em folhas de *Capsicum annuum* no Brasil. Além disso, é o primeiro registro da espécie no Brasil associada a folhas saudáveis de *C. annuum*. *Epicoccum andropogonearum* foi publicada por Tan *et al.* (2022), causando mancha foliar em *Cymbopogon refractus* e *Hyparrhenia hirta* (*Poaceae*) na Austrália. Outro relato foi realizado por Riera (2023) em raízes do milho no Equador.

Colletotrichum chrysophilum, *C. karstii*, *Colletotrichum* sp. 20, *Cumuliphoma indica*, *Ectophoma multirostrata*, *Epicoccum andropogonearum*, *Fusarium ruthhalliae*, *Phyllosticta capitalensis*, *Remotididymella anthropophila* e *Stagonosporopsis caricae* foram isolados tanto como endófitos, quanto como potencialmente patogênicos em folhas de pimentão, porém não foram submetidas ao teste de patogenicidade. Relatos mostram que essas espécies podem estar relacionadas a patogenicidade de várias doenças em diferentes espécies de plantas, como também expressam estilo de vida não patogênico (Marin-Felix *et al.*, 2019; Pádua *et al.*, 2019; Hongsanan *et al.*, 2020; Hou *et al.*, 2020; Jeong *et al.*, 2022; Tan; Shivas, 2022; An *et al.*, 2023; Cruz-Lagunas *et al.*, 2023; Talhinhos; Baroncelli, 2023).

Conhecer e investigar espécies patogênicas de culturas de importância econômica, pode facilitar o desenvolvimento de métodos de gestão ecológica, bem como melhorar a produtividade e o desempenho das culturas. Azarbad (2022) discute a utilidade de abordagens complexas baseadas em microbiomas nas práticas agrícolas como recurso para aumentar a produtividade sustentável, minimizando os prejuízos ambientais e conservando a biodiversidade.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo, fornecemos a primeira estimativa da diversidade dos fungos endofíticos em folhas de *Cucurbita pepo* e *Capsicum annuum* cultivados em sistemas de manejo orgânico e convencional em Pernambuco, bem como exploramos a relação entre endófitos e patógenos associados a esses hospedeiros. Desse modo, conclui-se que:

- Os sistemas de manejo influenciam a riqueza e diversidade dos fungos endofíticos, com maior riqueza observada no manejo orgânico da abobrinha e no manejo convencional do pimentão.
- A estrutura e composição das comunidades endofíticas presentes nas folhas do pimentão é influenciada por diferentes práticas agrícolas.
- Diferentes práticas agrícolas não influenciam a estrutura das comunidades endofíticas presentes nas folhas de abobrinha.
- *Cladosporium* sp. 2 é a espécie mais frequente no sistema de cultivo orgânico e convencional da abobrinha.
- *Colletotrichum* sp. 15 e *Phyllosticta capitalensis* são as espécies mais frequentes no sistema de cultivo orgânico e convencional do pimentão, respectivamente.
- Diferentes endófitos apresentam potencial como espécies indicadoras para os diferentes tipos de manejo de abobrinha e pimentão.
- Folhas de abobrinha e pimentão são fontes de novidades taxonômicas e novas ocorrências para o Brasil.
- *Colletotrichum plurivorum*, *Curvularia intermedia* e *Bipolaris bicolor* são espécies patogênicas a folhas de abobrinha e *Epicoccum andropogonearum* a folhas do pimentão.
- Espécies consideradas fitopatogênicas também estão relacionadas a colonização assintomática dos tecidos vegetais.

Estudos futuros envolvendo aplicações e melhoria da agricultura com base nas interações endófito-hospedeiro são importantes e devem ser realizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-ELKADER, D. Y.; MOHAMED, A. A.; FELEAFEL, M. N.; AL-HUQAIL, A. A.; SALEM, M. Z. M.; ALI, H. M.; HASSAN, H. S. **Photosynthetic pigments and biochemical response of zucchini (*Cucurbita pepo* L.) to plant-derived extracts, microbial, and potassium silicate as biostimulants under greenhouse conditions.** *Frontiers in Plant Science*, v. 13, 879545, 2022.

ABDELRAZEK, S.; CHOUDHARI, S.; THIMMAPURAM, J.; SIMÃO, F.; COLLEY, M.; MENGISTE, T.; HOAGLAND, L. **Changes in the core endophytic mycobiome of carrot taproots in response to crop management and genotype.** *Scientific Reports*, v. 10, 13685, 2020.

ADELEKE, B. S.; AYILARA, M. S.; AKINOLA, S. A. BABALOLA, O. O. **Biocontrol mechanisms of endophytic fungi.** *Egypt Journal of Biological Pest Control*, v. 32, n. 46, 2022.

ADELEKE, B. S.; BABALOLA, O. O. **Pharmacological Potential of Fungal Endophytes Associated with Medicinal Plants: A Review.** *Journal of fungi*, v. 7, n. 2, 147, 2021.

AKPANINYANG, F. E.; OPARA E. U. **The Influence of Toxins in Disease Symptom Initiation in Plants: A Review.** *Journal of Agriculture and Sustainability*, v. 10, n. 1, p. 29-52, 2017.

ALBUQUERQUE, F. S.; SILVA, E. F. F.; SOUZA, A. E. R.; ROLIM, M. M. **Lixiviação de potássio em um cultivo de pimentão sob lâminas de irrigação e doses de potássio.** *Revista Caatinga*, v. 24, n. 3, p. 135-144, 2011.

ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; MAFIA, R. G.; GONÇALVES, R. C. **Isolamento de Fungos Fitopatogênicos.** In: Alfenas, A. C.; Mafía, R. G. (ed). *Métodos em fitopatologia*, Viçosa: Editora UFV, 2016.

ALMEIDA, M. P.; SILVA, J. R. S.; ARAÚJO, E. S.; ALMEIDA, A. S.; MOREIRA, J. G. V. **Produção orgânica de cultivares de pimentão sob ambiente protegido.** *Enciclopédia Biosfera*, v. 18, n. 35, p. 192-199, 2021.

ÁLVAREZ-LOAYZA, P.; WHITE, J. F. JR.; TORRES, M. S.; BALSLEV, H.; KRISTIANSEN, T.; SVENNING, J. C.; GIL, N. **Light converts endosymbiotic fungus to pathogen, influencing seedling survival and niche-space filling of a common tropical tree, *Iriartea deltoidea*.** *PloS one*, v. 6, n. 1, e16386, 2011.

ALY, A. H.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. **Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 90, n. 6, p. 1829-1845, 2011.

AN, X-X.; SANG, W-J.; LI, H-X.; YANG, J-M.; LEI, X-M. **First report of *Cumuliphoma indica* causing leaf spot on tobacco in China.** *Journal of Plant Pathology*, v. 105, p. 331-332, 2023.

ANAYA-ESPARZA, L. M.; MORA, Z. V.; VÁZQUEZ-PAULINO, O.; ASCENCIO, F.; VILLARRUEL-LÓPEZ, A. **Bell Peppers (*Capsicum annum* L.) Losses and Wastes: Source for Food and Pharmaceutical Applications**. *Molecules*, v. 26, n. 17, 5341, 2021.

ANDOLFI, A.; MUGNAI, L.; LUQUE, J.; SURICO, G.; CIMMINO, A.; EVIDENTE, A. **Phytotoxins produced by fungi associated with grapevine trunk diseases**. *Toxins*, v. 3, n. 12, p. 1569-1605, 2011.

ANTONELLI, A.; FRY, C.; SMITH, R. J.; SIMMONDS, M. S. J.; KERSEY, P. J.; PRITCHARD, H. W.; ABBO, M. S.; ACEDO, C.; ADAMS, J.; AINSWORTH, A. M.; ALLKIN, B.; ANNECKE, W.; BACHMAN, S. P.; BACON, K.; BÁRRIOS, S.; BARSTOW, C.; BATTISON, A.; BELL, E.; BENSUSAN, K.; BIDARTONDO, M. I.; BLACKHALL-MILES, R. J.; BORRELL, J. S.; BREARLEY, F. Q.; BREMAN, E.; BREWER, R. F. A.; BRODIE, J.; CÁMARA-LERET, R.; CAMPOSTRINI FORZZA, R.; CANNON, P.; CARINE, M.; CARRETERO, J.; CAVAGNARO, T. R.; CAZAR, M.-E.; CHAPMAN, T.; CHEEK, M.; CLUBBE, C.; COCKEL, C.; COLLEMARE, J.; COOPER, A.; COPELAND, A. I.; CORCORAN, M.; COUCH, C.; COWELL, C.; CROUS, P.; DA SILVA, M.; DALLE, G.; DAS, D.; DAVID, J. C.; DAVIES, L.; DAVIES, N.; DE CANHA, M. N.; DE LIRIO, E. J.; DEMISSEW, S.; DIAZGRANADOS, M.; DICKIE, J.; DINES, T.; DOUGLAS, B.; DRÖGE, G.; DULLOO, M. E.; FANG, R.; FARLOW, A.; FARRAR, K.; FAY, M. F.; FELIX, J.; FOREST, F.; FORREST, L. L.; FULCHER, T.; GAFFOROV, Y.; GARDINER, L. M.; GÂTEBLÉ, G.; GAYA, E.; GESLIN, B.; GONÇALVES, S. C.; GORE, C. J. N.; GOVAERTS, R.; GOWDA, B.; GRACE, O. M.; GRALL, A.; HAELEWATERS, D.; HALLEY, J. M.; HAMILTON, M. A.; HAZRA, A.; HELLER, T.; HOLLINGSWORTH, P. M.; HOLSTEIN, N.; HOWES, M.-J. R.; HUGHES, M.; HUNTER, D.; HUTCHINSON, N.; HYDE, K.; IGANCI, J.; JONES, M.; KELLY, L. J.; KIRK, P.; KOCH, H.; KRISAI-GREILHUBER, I.; LALL, N.; LANGAT, M. K.; LEAMAN, D. J.; LEÃO, T. C.; LEE, M. A.; LEITCH, I. J.; LEON, C.; LETTICE, E.; LEWIS, G. P.; LI, L.; LINDON, H.; LIU, J. S.; LIU, U.; LLEWELLYN, T.; LOONEY, B.; LOVETT, J. C.; ŁUCZAJ, Ł.; LULEKAL, E.; MAGGASSOUBA, S.; MALÉCOT, V.; MARTIN, C.; MASERA, O. R.; MATTANA, E.; MAXTED, N.; MBA, C.; MCGINN, K. J.; METHERINGHAM, C.; MILES, S.; MILLER, J.; MILLIKEN, W.; MOAT, J.; MOORE, P. G. P.; MORIM, M. P.; MUELLER, G. M.; MUMINJANOV, H.; NEGRÃO, R.; NIC LUGHADHA, E.; NICOLSON, N.; NISKANEN, T.; NONO WOMDIM, R.; NOORANI, A.; OBREZA, M.; O'DONNELL, K.; O'HANLON, R.; ONANA, J.-M.; ONDO, I.; PADULOSI, S.; PATON, A.; PEARCE, T.; PÉREZ ESCOBAR, O. A.; PIERONI, A.; PIRONON, S.; PRESCOTT, T. A. K.; QI, Y. D.; QIN, H.; QUAVE, C. L.; RAJAOVELONA, L.; RAZANAJATOVO, H.; REICH, P. B.; RIANAWATI, E.; RICH, T. C. G.; RICHARDS, S. L.; RIVERS, M. C.; ROSS, A.; RUMSEY, F.; RYAN, M.; RYAN, P.; SAGALA, S.; SANCHEZ, M. D.; SHARROCK, S.; SHRESTHA, K. K.; SIM, J.; SIRAKAYA, A.; SJÖMAN, H.; SMIDT, E. C.; SMITH, D.; SMITH, P.; SMITH, S. R.; SOFO, A.; SPENCE, N.; STANWORTH, A.; STARA, K.; STEVENSON, P. C.; STROH, P.; SUZ, L. M.; TAMBAM, B. B.; TATSIS, E. C.; TAYLOR, I.; THIERS, B.; THORMANN, I.; TRIVEDI, C.; TWILLEY, D.; TWYFORD, A. D.; ULIAN, T.; UTTERIDGE, T.; VAGLICA, V.; VÁSQUEZ-LONDOÑO, C.; VICTOR, J.; VIRUEL, J.; WALKER, B. E.; WALKER, K.; WALSH, A.; WAY, M.; WILBRAHAM, J.; WILKIN, P.; WILKINSON, T.; WILLIAMS, C.; WINTERTON, D.; WONG, K. M.; WOODFIELD-PASCOE, N.; WOODMAN, J.; WYATT, L.; WYNBERG, R.; ZHANG, B. **G. State of the World's Plants and Fungi 2020**. Royal Botanic Gardens, Kew, 2020.

ARAGÃO, V. F.; FERNANDES, P. D.; GOMES FILHO, R. R.; SANTOS NETO, A. M.; CARVALHO, C. M.; FEITOSA, H. O. **Efeito de diferentes lâminas de irrigação e níveis de nitrogênio na fase vegetativa do pimentão em ambiente protegido.** Revista Brasileira de Agricultura Irrigada, v. 5, n. 4, p. 361-375, 2011.

ARAÚJO NETO, S. E.; AZEVEDO, J. M. A.; GALVÃO, R. O.; OLIVEIRA, E. B. L.; FERREIRA, R. L. F. **Produção de muda orgânica de pimentão com diferentes substratos.** Ciência Rural, v. 39, n. 5, p. 1408-1413, 2009.

ARAÚJO, W. L.; LIMA, A. O. S.; AZEVEDO, J. L.; MARCON, J.; SOBRAL, J. K.; LACAVA, P. T. **Manual: Isolamento de microorganismos endofíticos.** Piracicaba: ESALQ, 2002.

ARENA, E. A. A.; BERNAL, M. B. R.; IMPERIAL, J. T. **Antibacterial activities of endophytic fungi from *Capsicum annuum* L. (Siling labuyo) leaves and fruits.** BU R&D Journal, v. 22, n. 1, p. 60-69, 2019.

ARNOLD, A. E.; MIADLIKOWSKA, J.; HIGGINS, K. L.; SARVATE, S. D.; GUGGER, P.; WAY, A.; HOFSTETTER, V.; KAUFF, F.; LUTZONI, F. **Hyperdiverse fungal endophytes and endolichenic fungi elucidate the evolution of major ecological modes in the Ascomycota.** Systematic Biology, v. 58, p. 283-297, 2009.

AZARBAD, H. **Conventional vs. organic agriculture—which one promotes better yields and microbial resilience in rapidly changing climates?** Frontiers in Microbiology, v. 13, 903500, 2022.

AZEVEDO, C. P. **Epidemiologia e controle da antracnose em *Capsicum* spp. e identificação de *Colletotrichum* spp. associados às solanáceas cultivadas.** Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília. Brasília, p. 102. 2006.

BAILEY, J. K.; DECKERT, R.; SCHWEITZER, J. A.; REHILL, B. J.; LINDROTH, R. L.; GEHRING, C.; WHITHAM, T. G. **Host plant genetics affect hidden ecological players: links among *Populus*, condensed tannins, and fungal endophyte infection.** Canadian Journal of Botany, v. 83, n. 4, p. 356-361, 2005.

BALTRUSCHAT, H.; FODOR, J.; HARRACH, B. D.; NIEMCZYK, E.; BARNA, B.; GULLNER, G.; JANECZKO, A.; KOGEL, K. H.; SCHÄFER, P.; SCHWARCZINGER, I. **Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants.** New Phytologist, v. 180, n. 2, p. 501-510, 2008.

BELTRÃO, B. A.; MASCARENHAS, J. C.; MIRANDA, J. L. F.; SOUZA JUNIOR, L. C.; GALVÃO, M. J. T.; PEREIRA, S. N. **CPRM- Serviço Geológico do Brasil Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Chã Grande, Estado de Pernambuco.** Recife: CPRM/PRODEEM, 2005.

BERESTETSKIY, A.; HU, Q. **The chemical ecology approach to reveal fungal metabolites for arthropod pest management.** Microorganisms, v. 9, n. 7, 1379, 2021.

BESSADAT, N.; HAMON, B.; BATAILLÉ-SIMONEAU, N.; COLOU, J.; MABROUK, K.; SIMONEAU, P. **Characterization of *Stemphylium* spp. associated with tomato foliar diseases in Algeria**. *Phytopathologia Mediterranea*, v. 61, n. 1, p. 39-53, 2022.

BEZERRA, J. D. P.; NASCIMENTO, C. C. F.; BARBOSA, R. N.; SILVA, D. C. V.; SVEDESE, V. M.; SILVA-NOGUEIRA, E. B.; GOMES, B. S.; PAIVA, L. M.; SOUZAMOTTA, C. M. **Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: diversity and biotechnological potential**. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 46, n. 1, p. 49-57, 2015.

BEZERRA, J. D. P.; SANTOS, M. G. S.; BARBOSA, R. N.; SVEDESE, V. M.; LIMA, D. M. M.; FERNANDES, M. J. S.; GOMES, B. S.; PAIVA, L. M.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; SOUZA-MOTTA, C. M. **Fungal endophytes from cactus *Cereus jamacaru* in Brazilian tropical dry forest: a first study**. *Symbiosis*, v. 60, n. 2, p. 53-63, 2013.

BHUNJUN, C. S.; PHUKHAMSAKDA, C.; JAYAWARDENA, R. S.; JEEWON, R.; PROMPUTTHA, I.; HYDE K. D. **Investigating species boundaries in *Colletotrichum***. *Fungal Diversity*, v. 107, p. 107-127, 2021.

BISOGNIN, D. A. **Origin and evolution of cultivated cucurbits**. *Ciência Rural*, v. 32, n. 5, p. 715-723, 2002.

BISWAS, D.; CHAKRABORTY, A.; HAQUE, S. M.; GHOSH, B. **Endophytic fungal diversity in solanaceous medicinal plants and their beneficial impact**. In: Jha, S.; Halder, M. (eds). *Medicinal Plants: biodiversity, biotechnology and conservation. sustainable development and biodiversity*. Singapore: Springer, 2023.

BLAT, S. F.; COSTA, C. P. **A cultura do pimentão**. Piracicaba: ESALQ – Divisão de Biblioteca e Documentação, 2007.

BLAT, S. F.; COSTA, C. P.; VENCOSKY, R.; SALA, F. C. **Reação de acessos de pimentão e pimentas ao oídio (*Oidiopsis taurica*)**. *Horticultura Brasileira*, v. 23, n. 1, p. 72-75, 2005.

BLUNDELL, R.; SCHMIDT, J. E.; IGWE, A.; CHEUNG, A. L.; VANNETTE, R. L.; GAUDIN, A. C. M.; CASTEEL, C. L. **Organic management promotes natural pest control through enhanced plant resistance to insects**. *BioRxiv*, 787549, 2019.

BRADER, G.; COMPANT, S.; VESCIO, K.; MITTER, B.; TROGNITZ, F.; MA, L. J.; SESSITSCH, A. **Ecology and genomic insights on plant-pathogenic and nonpathogenic endophytes**. *Annual Review of Phytopathology*, v. 55, p. 61-83, 2017.

BRASIL. **Instrução normativa nº 46, de 06 de outubro de 2011. Lei nº 10831, de 23 de dezembro de 2003**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 06 de outubro. Seção 1, p. 8.a, 2011.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Lei Nº 10831, de 23 de dezembro de 2003. Publicado no Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, p. 8, 2003.

BUIJS, V. A.; ZUIJDGEEST, X. C. L.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W.; DE VRIES, R. P. **Carbon utilization and growth-inhibition of citrus-colonizing *Phyllosticta* species.** Fungal Biology, v. 125, n. 10, p. 815-825, 2021.

CAMATTI-SARTORI, V.; DA SILVA-RIBEIRO, R. T.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M.; PAGNOCCA, F. C.; ECHEVERRIGARAY, S.; AZEVEDO, J. L. **Endophytic yeasts and filamentous fungi associated with southern Brazilian apple (*Malus domestica*) orchards subjected to conventional, integrated or organic cultivation.** Journal of Basic Microbiology, v. 45, n. 5, p. 397-402, 2005.

CAMPION, A. L.; OURY, F-X.; HEUMEZ, E.; ROLLAND, B. **Conventional versus organic farming systems: dissecting comparisons to improve cereal organic breeding strategies.** Organic Agriculture, v. 10, p. 63-74, 2020.

CARMICHAEL, J. W.; KENDRICK, B.; CONNERS, I. L.; SIGLER, L. **Genera of Hyphomycetes.** Edmonton: University of Alberta Press, 1980.

CARPES, R. H.; LÚCIO, A. D.; STORCK, L.; LOPES, S. J.; ZANARDO, B.; PALUDO, A. L. **Ausência de frutos colhidos e suas interferências na variabilidade da fitomassa de frutos de abobrinha italiana cultivada em diferentes sistemas de irrigação.** Revista Ceres, v. 55, n. 6, p. 590-595, 2008.

CARVALHO, J. L. V. R.; LIMA, J. M. S.; BARBIER, E.; BERNARD, E.; BEZERRA, J. D. P.; SOUZA-MOTTA, C. M. **Ticket to ride: fungi from bat ectoparasites in a tropical cave and the description of two new species.** Brazilian Journal of Microbiology, v. 53, n. 4, p. 2077-2091, 2022.

CARVALHO, R. S. C. **Cultivo de pimentão em sistema hidropônico com água de reúso em diferentes níveis de disponibilidade de água no substrato.** Tese (Doutor em Agronomia: irrigação e drenagem) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp. Botucatu, p. 130. 2019.

CASAS, L. L.; PEREIRA, J. O.; COSTA-NETO, P. Q.; SILVA, J. F.; ALMEIDA, L. N.; BIANCO, R. A.; AZEVEDO, J. L. **Endophytic *Colletotrichum siamense* for biocontrol and resistance induction in guarana seedlings.** International Journal of Microbiology, v. 2021, 1925226, 2021.

CHANG, X.; YOUNG, B.; VACCARO, N.; STRICKLAND, R.; GOLDSTEIN, W.; STRUWE, L.; WHITE, J. F. **Endophyte symbiosis: evolutionary development, and impacts of plant agriculture.** Grass Research, v. 3, n. 18, 2023.

CHEN, J.; AKUTSE, K. S.; SAQIB, H. S. A.; WU, X.; YANG, F.; XIA, X.; WANG, L.; GOETTEL, M. S.; YOU, M.; GURR, G. M. **Fungal endophyte communities of crucifer crops are seasonally dynamic and structured by plant identity, plant tissue and environmental factors.** Frontiers in Microbiology, v. 11, article 1519, 2020.

CHEON, W.; JEON, Y. H. **First report of gray mold caused by *Botrytis cinerea* on greenhouse-grown zucchini in Korea.** Plant Disease, v. 97, n. 8, 1116, 2013.

CHITNIS, V. R.; SURYANARAYANAN, T. S.; NATARAJA, K. N.; PRASAD, S. R.; OELMÜLLER, R.; SHAANKER, R. U. **Fungal endophyte-mediated crop improvement: the way ahead**. *Frontiers in Plant Science*, v. 11, 561007, 2020.

COELHO NETTO, R. A.; FERREIRA, A. A. B.; NODA, H. **Manejo da podridão-de-*Sclerotium* em pimentão em um argisolo no Amazonas**. *Acta Amazonica*, v. 43, n. 3, p. 315-322, 2013.

CONSORCIO ANTIFERRUGEM. 2023. Disponível em: <<http://www.consorcioantiferrugem.net>>. Acesso em: 26 de setembro de 2023.

COSTA, A. R.; REZENDE, R.; FREITAS, P. S. L. GONÇALVES, A. C. A.; FRIZZONE, J. A. **A cultura da abobrinha italiana (*Cucurbita pepo* L.) em ambiente protegido utilizando fertirrigação nitrogenada e potássica**. *Irriga*, v. 20, n.1, p. 105-127, 2015.

COUTTS, B. A.; KEHOE, M. A.; JONES, R. A. C. **Zucchini yellow mosaic virus: Contact Transmission, Stability on Surfaces, and Inactivation with Disinfectants**. *Plant Disease*, v. 97, n. 6, p. 765-771, 2013.

CRINNION, W. J. **Organic foods contain higher levels of certain nutrients, lower levels of pesticides, and may provide health benefits for the consumer**. *Alternative Medicine Review*, v. 15, n. 1, p. 4-12, 2010.

CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; CHEEWANGKON, R.; CARNEGIE, A. J.; BURGESS, T. I.; SUMMERELL, B. A.; EDWARDS, J.; TAYLOR, P. W. J.; GROENEWALD, J. Z. **Foliar pathogens of eucalypts**. *Studies in Mycology*, v. 8, n. 94, p. 125-298, 2019.

CRUZ-LAGUNAS, B.; REYES-GARCÍA, G.; PALEMÓN-ALBERTO, F.; ORTEGA-ACOSTA, S. A.; MUÑOZ-GARCÍA, C.; ROMERO-RAMÍREZ, Y.; JIMENEZ-SÁNCHEZ, D. E.; GONZAGA-SEGURA, A. J.; GÓMEZ-VARGAS, J. C.; TECOMULAPA-ACATITLÁN, E. **First report of *Phyllosticta capitalensis* causing brown spot disease on guava fruits (*Psidium guajava*) in Mexico**. *Plant Disease*, v. 107, n. 9, 2023.

CUADROS-ORELLANA, S.; LEITE, L. R.; SMITH, A.; MEDEIROS, J. D.; BADOTTI, F.; FONSECA, P. L. C.; VAZ, A. B. M.; OLIVEIRA, G.; GÓES-NETO, A. **Assessment of fungal diversity in the environment using metagenomics: a decade in review**. *Fungal Genomics & Biology*, v. 3, Issue 2, 110, 2013.

DANTAS, M. V.; LIMA, G. S.; GUEYI, H. R.; PINHEIRO, F. W. A.; SILVA, P. C. C.; SOARES, L. A. A. **Gas exchange and hydroponic production of zucchini under salt stress and H₂O₂ application**. *Revista Caatinga*, v. 35, n. 2, p. 436-449, 2022.

DASTOGEER, K. M. G.; LI, H.; SIVASITHAMPARAM, K.; JONES, M. G. K.; WYLIE, S. J. **Host Specificity of Endophytic Mycobiota of Wild *Nicotiana* Plants from Arid Regions of Northern Australia**. *Microbial Ecology*, v. 75, p. 74-87, 2017.

DE BARY, A. **Morphologie und physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten**. Leipzig: Engelmann, 1866.

DE SILVA, N. I.; HYDE, K. D.; LUMYONG, S.; PHILLIPS, A. J. L.; BHAT, D. J.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; THAMBUGALA, K. M.; TENNAKOON, D. S.; SUWANNARACH, N.; KARUNARATHNA, S. C. **Morphology, phylogeny, host association and geography of fungi associated with plants of Annonaceae, Apocynaceae and Magnoliaceae.** *Mycosphere*, v. 13, n. 1, p. 955–1076, 2022.

DERBALAH, A.; ABDELSALAM, I.; BEHIRY, S. I.; ABDELKHALEK, A.; ABDELFATAH, M.; ISMAIL, S.; ELSHARKAWY, M. M. **Copper oxide nanostructures as a potential method for control of zucchini yellow mosaic virus in squash.** *Pest Management Science*, v. 78, n. 8, p. 3587-3595, 2022.

DESHMUKH, S. K.; AGRAWAL, S.; PRAKASH, V.; GUPTA, M. K.; REDDY, M. S. **Anti-infectives from mangrove endophytic fungi.** *South African Journal of Botany*, v. 134, p. 237-263, 2020.

DIAS, R. C. S.; TERAPO, D. Doenças das cucurbitáceas. In: OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 595-627.

DÍAZ-GONZÁLEZ, S.; MARÍN, P.; SÁNCHEZ, R.; ARRIBAS, C.; KRUSE, J.; GONZÁLEZ-MELENDI, P.; BRUNNER, F.; SACRISTÁN, S. **Mutualistic fungal endophyte *Colletotrichum tofieldiae* Ct0861 colonizes and increases growth and yield of maize and tomato plants.** *Agronomy* 2020, 10, 1493.

DODDS, P. N. **Plant science. Genome evolution in plant pathogens.** *Science*, v. 330, n. 6010, p. 1486-1487, 2010.

DOEHLEMANN, G.; ÖKMEN, B.; ZHU, W.; SHARON, A.; HEITMAN J.; HOWLETT, B. J. **Plant Pathogenic Fungi.** *Microbiology Spectrum*, v. 5, 1, 2017.

DOMINGUES, D. P.; SANTOS, C. A.; KOWATA-DRESCH, L. S.; REIS, C. A.; FERNANDES, M. C. A.; CARMO, M. G. F. **Sensibilidade de *Stemphylium solani* a extratos vegetais e caldas e controlo da doença no tomateiro em estufa.** *Revista de Ciências Agrárias*, v. 40, n. 1, p. 114-123, 2017.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T-H. **Compendium of soil fungi.** Eching: IHW-189 Verlag, 2007.

DUFRENE, M.; LEGENDRE, P. **Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach.** *Ecological Monographs*, v. 67, n. 3, p. 345-366, 1997.

EATON, C. J.; COX, M. P.; SCOTT, B. **What triggers grass endophytes to switch from mutualism to pathogenism?.** *Plant Science*, v. 180, n. 2, p. 190-195, 2011.

EL-BAKY, N. A.; AMARA, A. A. A. F. **Recent approaches towards control of fungal diseases in plants: an updated review.** *Journal of Fungi*, v. 7, n. 11, 900, 2021.

EL-HASAN, A.; NGATIA, G.; LINK, T. I.; VOEGELE, R. T. **Isolation, identification, and biocontrol potential of root fungal endophytes associated with solanaceous plants against potato late blight (*Phytophthora infestans*).** *Plants*, v. 11, n. 12, 1605, 2022.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971.

ELLIS, M. B. **More Dematiaceous Hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1976.

EMBRAPA HORTALIÇAS. **Produção integrada de pimentão**. Hortaliças em revistas, n. 27, 2019.

FADIJI, A. E.; BABALOLA, O. O. **Elucidating mechanisms of endophytes used in plant protection and other bioactivities with multifunctional prospects**. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 8, 467, 2020.

FERRARI, J.T.; DOMINGUES, R.J.; TÖFOLI, J.G.; NOGUEIRA, E.M.C. **Antracnose associada às fruteiras**. Comunicado técnico nº 163, Centro de P&D de Sanidade Vegetal, Instituto Biológico. 2011. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br/publicacoes/comunicados-documentos-tecnicos/comunicados-tecnicos/antracnose-associada-as-fruteiras>>. Acessado em: 06 de dezembro de 2021.

FERRO, L. O.; O. JUNIOR, I.; CAVALCANTI, A. D.; CAVALCANTE, L. O.; OLIVEIRA, T. G. L.; PAIVA, L. M.; SOUZA-MOTTA, C. M.; BEZERRA, J. D. P. **Filling a gap: endophytic fungal diversity in the leaves of *Miconia mirabilis* in the Atlantic Forest (Brazil) and the description of a new *Muyocopron* species**. *Acta Botanica Brasilica*, v. 37, e20230101, 2023.

FIGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008.

FIORINZA, A.; GUSELLA, G.; AIELLO, D.; POLIZZI, G.; VOGLMAYR, H. ***Neopestalotiopsis siciliana* sp. nov. and *N. rosae* causing stem lesion and dieback on avocado plants in Italy**. *Journal of Fungi*, v. 8, 562, 2022.

FONTANA, D. C.; DE PAULA, S.; TORRES, A. G.; DE SOUZA, V.; PASCHOLATI, S. F.; SCHMIDT, D.; DOURADO NETO, D. **Endophytic Fungi: biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses**. *Pathogens*, v. 10, n. 5, 570, 2021.

FRIEDRICH, K.; SILVEIRA, G. R.; AMAZONAS, J. C.; GURGEL, A. M.; ALMEIDA, V. E. S.; SARPA, M. **International regulatory situation of pesticides authorized for use in Brazil: potential for damage to health and environmental impacts**. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 37, n. 4, e00061820, 2021.

GAO, F.; DAI, C. C.; LIU, X. **Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens**. *African Journal of Microbiology Research*, v. 4, p. 1346-1351, 2010.

GIACOMIN, R. M.; RUAS, C. F.; MOREIRA, A. F. P.; GUIDONE, G. H. M.; BABA, V. Y.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L. S. A. **Inheritance of anthracnose resistance (*Colletotrichum scovillei*) in ripe and unripe *Capsicum annuum* fruits**. *Journal of Phytopathology*, v. 168, p. 184-192, 2020.

GRABKA, R.; D'ENTREMONT, T. W.; ADAMS, S. J.; WALKER, A. K.; TANNEY, J. B.; ABBASI, P. A.; ALI, S. **Fungal endophytes and their role in agricultural plant protection against pests and pathogens.** *Plants* (Basel, Switzerland), v. 11, n. 3, 384, 2022.

GUO, Z.; LUO, C-X.; WU, H-J.; PENG, B.; KANG, B-S.; LIU, L-M.; ZHANG, M.; GU, Q-S. ***Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of watermelon (*Citrullus lanatus*) in China.** *Journal of Fungi*, v. 8, 790, 2022.

HAHN, M. **The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study.** *Journal of chemical biology*, v. 7, n. 4, p. 133-141, 2014.

HALÁSZ, K.; BORBÉLY, C.; PÓS, V.; GÁSPÁR, L.; HADDADDERAFSHI, N.; WINTER, Z.; LUKÁCS, N. **Effect of crop management and cultivar on colonization of *Capsicum annuum* L. by endophytic fungi.** *Agriculture and Environment*, v. 8, p. 5-15, 2016.

HAMPF, A. C.; NENDEL, C.; STREY, S.; STREY, R. **Biotic Yield Losses in the Southern Amazon, Brazil: Making Use of Smartphone-Assisted Plant Disease Diagnosis Data.** *Frontiers in Plant Science*, v. 12, 621168, 2021.

HAN, S. L.; WANG, M. M.; MA, Z. Y.; RAZA, M.; ZHAO, P.; LIANG, J. M.; GAO, M.; LI, Y. J.; WANG, J. W.; HU, D. M.; CAI, L. ***Fusarium* diversity associated with diseased cereals in China, with an updated phylogenomic assessment of the genus.** *Studies in Mycology*, v. 104, p. 87-148, 2023.

HANIN, N. A.; FITRIASARI, P. D. **Identification of endophytic fungi from fruits and seeds of jambolana (*Syzygium cumini* L.) skeels.** *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, v. 276, 012060, 2019.

HARRISON, J. G.; GRIFFIN, E. A. **The diversity and distribution of endophytes across biomes, plant phylogeny and host tissues: how far have we come and where do we go from here?** *Environmental Microbiology*, v. 22, n. 6, p. 2107-2123, 2020.

HEIDEN, G.; BARBIERI, R. L.; NEITZKE, R. S. **Chave para a identificação das espécies de abóboras (*Cucurbita*, *Cucurbitaceae*) cultivadas no Brasil.** *Pelotas: Embrapa Clima Temperado*, 2007.

HILARIANO, M. P. A.; SILVEIRA, F. A. O.; OKI, Y.; RODRIGUES, L.; SANTOS, J. C.; JUNIOR, A. C.; FERNANDES, G. W.; ROSA, C. A. **Distribution of the endophytic fungi Community in leaves of *Bauhinia brevipes* (Fabaceae).** *Acta Botanica Brasilica*, Feira de Santana, v. 25, n. 4, p. 815-821, 2011.

HIRUMA, K.; GERLACH, N.; SACRISTÁN, S.; NAKANO, R. T.; HACQUARD, S.; KRACHER, B.; NEUMANN, U.; RAMÍREZ, D.; BUCHER, M.; O'CONNELL, R. J.; SCHULZE-LEFERT, P. **Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status dependent.** *Cell*, v. 165, n. 2, p. 464-474, 2016.

HOFFMAN, M. T.; GUNATILAKA, M. K.; WIJERATNE, K.; GUNATILAKA, L.; ARNOLD, A. E. **Endohyphal bacterium enhances production of indole-3-acetic acid by a foliar fungal endophyte.** *PloS one*, v. 8, n. 9, e73132, 2013.

HONGSANAN, S.; HYDE, K. D.; PHOOKAMSAK, R.; WANASINGHE, D. N.; MCKENZIE, E. H. C.; SARMA, V. V.; BOONMEE, S.; LÜCKING, R.; BHAT, D. J.; LIU, N. G.; TENNAKON, D. S.; PEM, D.; KARUNARATHNA, A.; JIANG, S. H.; JONES, E. B. G.; PHILLIPS, A. J. L.; MANAWASINGHE, I. S.; TIBPROMMA, S.; JAYASIRI, S. C.; SANDAMALI, D. S.; JAYAWARDENA, R. S.; WIJAYAWARDENE, N. N.; EKANAYAKA, A. H.; JEEWON, R.; LU, Y. Z.; DISSANAYAKE, A. J.; ZENG, X. Y.; LUO, Z. L.; TIAN, Q.; PHUKHAMSAKDA, C.; THAMBUGALA, K. M.; DAI, D. Q.; CHETHANA, K. W. T.; SAMARAKOON, M. C.; ERTZ, D.; BAO, D. F.; DOILOM, M.; LIU, J. K.; PÉREZ-ORTEGA, S.; SUIJA, A.; SENWANNA, C.; WIJESINGHE, S. N.; KONTA, S.; NIRANJAN, M.; ZHANG, S. N.; ARIYAWANSA, H. A.; JIANG, H. B.; ZHANG, J. F.; NORPHANPHOUN, C.; DE SILVA, N. I.; THIYAGARAJA, V.; ZHANG, H.; BEZERRA, J. D. P.; MIRANDA-GONZÁLEZ, R.; APTROOT, A.; KASHIWADANI, H.; HARISHCHANDRA, D.; SÉRUSIAUX, E.; ALUTHMUHANDIRAM, J. V. S.; ABEYWICKRAMA, P. D.; DEVADATHA, B.; WU, H. X.; MOON, K. H.; GUEIDAN, C.; SCHUMM, F.; BUNDHUN, D.; MAPOOK, A.; MONKAI, J.; CHOMNUNTI, P.; SUETRONG, S.; CHAIWAN, N.; DAYARATHNE, M. C.; YANG, J.; RATHNAYAKA, A. R.; BHUNJUN, C. S.; XU, J. C.; ZHENG, J. S.; LIU, G.; FENG, Y.; XIE, N. **Refined families of Dothideomycetes: Dothideomycetidae and Pleosporomycetidae.** *Mycosphere*, v. 11, n. 1, p. 1553-2107, 2020.

HORA, R. C.; CAMARGO, J.; BUZANINI, A. C. **Cucurbitáceas e outras.** In: BRANDÃO FILHO, J. U. T.; FREITAS, P. S. L.; BERIAN, L. O. S.; GOTO, R., comps. *Hortaliças-fruto* [online]. Maringá: EDUEM, 2018, pp. 71-111.

HOU, L. W.; GROENEWALD, J. Z.; PFENNING, L. H.; YARDEN, O.; CROUS, P. W.; CAI, L. **The phoma-like dilemma.** *Studies in Mycology*, v. 96, p. 309-396, 2020.

HRYCAN, J.; HART, M.; BOWEN, P.; FORGE, T.; ÚRBEZ-TORRES, J. R. **Grapevine trunk disease fungi: their roles as latent pathogens and stress factors that favour disease development and symptom expression.** *Phytopathologia Mediterranea*, v. 59, n. 3, p. 395-424, 2020.

HUANG, L. Q.; NIU, Y. C.; SU, L.; DENG, H.; LYU, H. **The potential of endophytic fungi isolated from cucurbit plants for biocontrol of soilborne fungal diseases of cucumber.** *Microbiological Research*, v. 231, 126369, 2020.

HUANG, Y. L. **Effect of host, environment and fungal growth on fungal leaf endophyte communities in Taiwan.** *Journal of fungi*, v. 6, n. 4, 244, 2020.

HUBBARD, M.; GERMIDA, J. J.; VUJANOVIC, V. **Fungal endophytes enhance wheat heat and drought tolerance in terms of grain yield and second-generation seed viability.** *Journal of Applied Microbiology*, v. 116, n. 1, p. 109-22, 2014.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2017. Censo agropecuário. Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/>>. Acessado em: 20 de fevereiro de 2022.

IDNURM, A.; HOWLETT, B. J. **Pathogenicity genes of phytopathogenic fungi.** *Molecular Plant Pathology*, v. 2, p. 241-255, 2001.

IQBAL, R.; RAZA, M. A. S.; VALIPOUR, M.; SALEEM, M. F.; ZAHEER, M. S.; AHMAD, S.; TOLEIKIENE, M.; HAIDER, I.; ASLAM, M. U.; NAZAR, M. A. **Potential agricultural and environmental benefits of mulches — A review.** Bulletin of the National Research Centre, v. 44, n. 75, 2020.

JAGANNATH, S.; KONAPPA, N.; LOKESH, A.; BHUVANESHWARI, DASEGOWDA, T.; UDAYASHANKAR, A. C.; CHOWDAPPA, S.; CHELUVIAH, M.; SATAPUTE, P.; JOGAIHAH, S. **Bioactive compounds guided diversity of endophytic fungi from *Baliospermum montanum* and their potential extracellular enzymes.** Analytical Biochemistry, v. 614, 114024, 2021.

JAIN, A.; SARSAIYA, S.; WU, Q.; LU, Y.; SHI, J. **A review of plant leaf fungal diseases and its environment speciation.** Bioengineered, v. 10, n. 1, p. 409-424, 2019.

JAYASIRI, S. C.; HYDE, K. D.; JONES, E. B. G.; MCKENZIE, E. H. C.; JEEWON, R.; PHILLIPS, A. J. L.; BHAT, D. J.; WANASINGHE, D. N.; LIU, J. K.; LU, Y. Z.; KANG, J. C.; XU, J.; KARUNARATHNA, S. C. **Diversity, morphology and molecular phylogeny of Dothideomycetes on decaying wild seed pods and fruits.** Mycosphere, v. 10, n. 1, p. 1-186, 2019.

JAYAWARDENA, R. S.; BHUNJUN, C. S.; HYDE, K. D.; GENTEKAKI, E.; ITTHAYAKORN, P. ***Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species.** Mycosphere, v. 12, n. 1, p. 519-669, 2021.

JEONG, Y. J.; KWON, O. K.; JEONG, A. R.; LEE, H.; MOON, H.; LEE, O. N.; HONG, J. K.; PARK, C. J. **Population structure of *Stagonosporopsis* species associated with cucurbit gummy stem blight in Korea.** The Plant Pathology Journal, v. 38, n. 5, p. 522-532, 2022.

JIA, M.; CHEN, L.; XIN, H-L.; ZHENG, C-J.; RAHMAN, K.; HAN, T.; QIN, L-P. **A friendly relationship between endophytic fungi and medicinal plants: a systematic review.** Frontiers in Microbiology, v. 7, p. 1-14, 2016.

KATOH, K.; TOH, H. **Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program.** Bioinformatics, v. 26, p. 1899-1900, 2010.

KAZIMIERCZAK, R.; ŚREDNICKA-TOBER, D.; HALLMANN, E.; KOPCZYŃSKA, K.; ZARZYŃSKA, K. **The impact of organic vs. conventional agricultural practices on selected quality features of eight potato cultivars.** Agronomy, v. 9, n. 12, 799, 2019.

KHALIL, A. M. A.; SALEH, A. M.; ABO EL-SOUAD, S. M. S.; MOHAMED, M. S. M. **Plants from a semi-arid environment as a source of phytochemicals against *Fusarium* crown and foot rot in zucchini.** AMB Express, v. 13, n. 1, 6, 2023.

KNAPP, D. G.; IMREFI, I.; BOLDPUREV, E.; CSÍKOS, S.; AKHMETOVA, G.; BEREK-NAGY, P. J.; OTGONSUREN, B.; KOVÁCS, G. M. **Root-colonizing endophytic fungi of the dominant grass *Stipa krylovii* from a Mongolian Steppe Grassland.** Frontiers in Microbiology, v. 10, 2565, 2019.

KOGEL, K. H.; FRANKEN, P.; HÜCKELHOVEN, R. **Endophyte or parasite--what decides?** *Current Opinion in Plant Biology*, v. 9, n. 4, p. 358-363, 2006.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. **MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets.** *Molecular Biology and Evolution*, v. 33, p. 1870-1874, 2016.

LAIRON, D. **Nutritional quality and safety of organic food. A review.** *Agronomy for Sustainable Development*, v. 30, n. 1, p. 33-41, 2010.

LANGA-LOMBA, N.; GRIMPLET, J.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, E.; MARTÍN-RAMOS, P.; CASANOVA-GASCÓN, J.; JULIÁN-LAGUNAS, C.; GONZÁLEZ-GARCÍA, V. **Metagenomic study of fungal microbial communities in two PDO Somontano Vineyards (Huesca, Spain): effects of age, plant genotype, and initial phytosanitary status on the priming and selection of their Associated Microorganisms.** *Plants*, v. 12, n. 12, 2251, 2023.

LARSEN, A. E.; GAINES, S. D.; DESCHÊNES, O. **Agricultural pesticide use and adverse birth outcomes in the San Joaquin Valley of California.** *Nature Communications*, v. 8, n. 1, 302, 2017.

LATA, R.; CHOWDHURY, S.; GOND, S. K.; WHITE JR., J. F. **Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes.** *Letters in Applied Microbiology*, v. 66, issue 4, p. 268-276, 2018.

LEE, W.; KIM, J. S.; SEO, C. W.; LEE, J. W.; KIM, S. H.; CHO, Y.; LIM, Y. W. **Diversity of *Cladosporium* (Cladosporiales, Cladosporiaceae) species in marine environments and report on five new species.** *MycKeys*, v. 98, p. 87-111, 2023.

LI, J.; LI, M.; GAO, X. X.; FANG, F. **First report of *Curvularia intermedia* causing leaf blight on annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) in China.** *Plant Disease*, v. 103, 585, 2019.

LI, J-L.; SUN, X.; ZHENG, Y.; LÜ, P-P.; WANG, Y-L.; GUO L-D. **Diversity and community of culturable endophytic fungi from stems and roots of desert halophytes in northwest China.** *MycKeys*, v. 62, p. 75-95, 2020.

LIANG, X.; PENG, Y.; LIU, Y.; WANG, M.; YANG, Y.; ZHANG, Y. **First report of *Bipolaris bicolor* causing a leaf spot disease on rubber tree.** *Journal of Phytopathology*, v. 167, p. 553-557, 2019.

LIMA, M. F. **Viroses de cucurbitáceas.** Brasília, DF, Embrapa Hortaliças, 2011.

LIMA, P. M. L.; LOPES, C. A.; CAFÉ FILHO, A. C. **Estabilidade da resistência de *Capsicum* spp. ao oídio em telado e casa de vegetação.** *Fitopatologia Brasileira*, v. 29, p. 519-525, 2004.

LIU, F.; MA, Z. Y.; HOU, L. W.; DIAO, Y. Z.; WU, W. P.; DAMM, U.; SONG, S.; CAI, L. **Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview.** *Studies in Mycology*, v. 101, p. 1-56, 2022.

LIU, J-W.; MANAWASINGHE, I. S.; LIAO, X-N.; MAO, J.; DONG, Z-Y.; JAYAWARDENA, R. S.; WANASINGHE, D. N.; SHU, Y-X.; LUO, M. **Endophytic *Colletotrichum* (Sordariomycetes, Glomerellaceae) species associated with *Citrus grandis* cv. “Tomentosa” in China.** MycoKeys, v. 95, p. 163-188, 2023.

LOPES, S. M.; ALCANTRA, E.; REZENDE, R. M.; FREITAS, A. S. **Avaliação de frutos de pimentão submetidos ao ensacamento no cultivo orgânico.** Revista da Universidade Vale do Rio Verde, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2018.

LORI, M.; ARMENGOT, L.; SCHNEIDER, M.; SCHNEIDEWIND, U.; BODENHAUSEN, N.; MÄDER, P.; KRAUSE, H-M. **Organic management enhances soil quality and drives microbial community diversity in cocoa production systems.** Science of The Total Environment, v. 834, 2022.

LÜCKING, R.; AIME, M. C.; ROBBERTSE, B.; MILLER, A. N.; AOKI, T.; ARIYAWANSA, H. A.; CARDINALI, G.; CROUS, P. W.; DRUZHININA, I. S.; GEISER, D. M.; HAWKSWORTH, D. L.; HYDE, K. D.; IRINYI, L.; JEEWON, R.; JOHNSTON, P. R.; KIRK, P. M.; MALOSSO, E.; MAY, T. W.; MEYER, W.; NILSSON, H. R.; ÖPIK, M.; ROBERT, V.; STADLER, M.; THINES, M.; VU, D.; YURKOV, A. M.; ZHANG, N.; SCHOCH, C. L. **Fungal taxonomy and sequence-based nomenclature.** Nature Microbiology, v. 6, n. 5, p. 540-548, 2021.

LÜCKING, R.; AIME, M. C.; ROBBERTSE, B.; MILLER, A. N.; ARIYAWANSA, H. A.; AOKI, T.; CARDINALI, G.; CROUS, P. W.; DRUZHININA, I. S.; GEISER, D. M.; HAWKSWORTH, D. L.; HYDE, K. D.; IRINYI, L.; JEEWON, R.; JOHNSTON, P. R.; KIRK, P. M.; MALOSSO, E.; MAY, T. W.; MEYER, W.; ÖPIK, M.; ROBERT, V.; STADLER, M.; THINES, M.; VU, D.; YURKOV, A. M.; ZHANG, N.; SCHOCH, C. L. **Unambiguous identification of fungi: where do we stand and how accurate and precise is fungal DNA barcoding?** IMA Fungus, v. 11, n. 14, 2020.

MANGANYI, M. C.; ATEBA, C. N. **Untapped potentials of endophytic fungi: A review of novel bioactive compounds with biological applications.** Microorganisms, v. 8, n. 12, 1934, 2020.

MAPA - **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.** 2017. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/culturas-com-suporte-fitossanitario-insuficiente-csfi>>. Acesso em: 27 de fevereiro de 2023.

MAPA - **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.** 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues-1>>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2023.

MAPOOK, A., HYDE, K. D., MCKENZIE, E. H. C.; JONES, E. B. G.; BHAT, D. J.; JEEWON, R.; STADLER, M.; SAMARAKOON, M. C.; MALAITHONG, M.; TANUNCHAI, B.; BUSCOT, F.; WUBET, T.; PURAHONG, W. **Taxonomic and phylogenetic contributions to fungi associated with the invasive weed *Chromolaena odorata* (Siam weed).** Fungal Diversity, v. 101, p. 1-175, 2020.

MARGARITOPOULOU, T.; KIZIS, D.; KOTOPOULIS, D.; PAPADAKIS, I. E.; ANAGNOSTOPOULOS, C.; BAIRA, E.; TERMENTZI, A.; VICHOU, A. E.; LEIFERT, C.; MARKELLOU, E. **Enriched HeK4me3 marks at Pm-0 resistance-related genes prime courgette against *Podosphaera xanthii***. *Plant Physiology*, v. 188, n. 1, p. 576-592, 2022.

MARIN-FELIX, Y.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; ITURRIETA-GONZÁLEZ, I.; GARCÍA, D.; GENÉ, J.; GROENEWALD, J. Z.; CAI, L.; CHEN, Q.; QUAEDVLIEG, W.; SCHUMACHER, R. K.; TAYLOR, P. W. J.; AMBERS, C.; BONTHOND, G.; EDWARDS, J.; KRUEGER-HADFIELD, S. A.; LUANGSA-ARD, J. J.; MORTON, L.; MOSLEMI, A.; SANDOVAL-DENIS, M.; TAN, Y. P.; THANGAVEL, R.; VAGHEFI, N.; CHEEWANGKON, R.; CROUS, P. W. **Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3**. *Studies in mycology*, v. 94, p. 1-124, 2019.

MARTÍNEZ-VALDIVIESO, D.; FONT, R.; FERNÁNDEZ-BEDMAR, Z.; MERINAS-AMO, T.; GÓMEZ, P.; ALONSO-MORAGA, Á.; DEL RÍO-CELESTINO, M. **Role of zucchini and its distinctive components in the modulation of degenerative processes: genotoxicity, anti-genotoxicity, cytotoxicity and apoptotic effects**. *Nutrients*, v. 9, n. 7, 2017.

MARTINS JÚNIOR, J. G. P. **Supressão da antracnose e promoção de crescimento com o uso de bioagentes na cultura do pimentão**. Monografia (Bacharel em Agronomia) - Centro Universitário de Anápolis – UniEVANGÉLICA. Anápolis, p. 28. 2019.

MATERATSKI, P.; VARANDA, C.; CARVALHO, T.; DIAS, A. B.; CAMPOS, M. D.; REI, F.; FÉLIX, M. D. R. **Spatial and temporal variation of fungal endophytic richness and diversity associated to the phyllosphere of olive cultivars**. *Fungal Biology*, v. 123, n. 1, p. 66-76, 2019.

MEENA, M.; SWAPNIL, P.; ZEHRA, A.; AAMIR, M.; DUBEY, M. K.; PATEL, C. B.; UPADHYAY, R. S. **Chapter 11- Virulence factors and their associated genes in microbes**. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, p. 181-208, 2019.

MEHRABI, R.; BAHKALI, A. H.; ABD-ELSALAM, K. A.; MOSLEM, M.; M'BAREK, S. B.; GOHARI, A. M.; JASHNI, M. K.; STERGIPOULOS, I.; KEMA, G. H. J.; WIT, P. J. G. M. **Horizontal gene and chromosome transfer in plant pathogenic fungi affecting host range**. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 35, n. 3, p. 542-554, 2011.

MELO, J. C.; SANTOS, C. A.; FERNANDES, M. C. A.; CARMO, M. G. F. **Caldas alternativas e fungicidas no controle da mancha-de-estenfílio do tomateiro**. *Agrarian*, v. 12, n. 43, p. 16-23, 2019.

MENGISTU, A. A. **Endophytes: colonization, behaviour, and their role in defense mechanism**. *International journal of microbiology*, 6927219, 2020.

MESQUITA, C. P. B.; VIMERCATI, L.; WU, D.; CHILDRESS, M. K.; DANZ, A.; GRUPE, A. C.; HAELEWATERS D.; HYDE, N. M.; KOSSMANN, T.; OLIVER, C.; PERROTTA, C.; YOUNG, B. D.; SCHMIDT, S. K.; TRINGE, S. G.; QUANDT, C. A. **Fungal diversity and function in metagenomes sequenced from extreme environments**. *Fungal ecology*, v. 72, 101383, 2024.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees**. In: Proceedings of the gateway computing environments workshop (GCE). New Orleans: Institute of Electrical and Electronics Engineers, 2010.

MORAES, R. F. **Texto para discussão**. Brasília, Ipea, 2019.

MUÑOZ, C. M. G.; GÓMEZ, M. G. S.; SOARES, J. P. G.; JUNQUEIRA, A. M. R. **Normativa de Produção Orgânica no Brasil: a percepção dos agricultores familiares do assentamento da Chapadinha, Sobradinho (DF)**. Revista de Economia e Sociologia Rural, v. 54, n. 2, p. 361-376, 2016.

NARANJO-ORTIZ, M. A.; GABALDÓN, T. **Fungal Evolution: major ecological adaptations and evolutionary transitions**. Biological Reviews, v. 94, issue 4, p. 1443-1476, 2019a.

NARANJO-ORTIZ, M. A.; GABALDÓN, T. **Fungal evolution: diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi**. Biological reviews, v. 94, Issue 6, p. 2101-2137, 2019b.

NASSER, M. D.; SOARES, A. A. V. L.; FURLANETO, F. P. B.; NAKADA-FREITAS, P. G.; TAVARES, M. B.; MONTEIRO, G. C.; RAMOS, J. A. **Agronomic performance of zucchini in different cultivation environments and coffee straw doses**. Research, Society and Development, v. 11, n. 16, 2022.

NETTLES, R.; WATKINS, J.; RICKS, K.; BOYER, M.; LICHT, M.; ATWOOD, L. W.; PEOPLES, M.; SMITH, R. G.; MORTENSEN, D. A.; KOIDE, R. T. **Influence of pesticide seed treatments on rhizosphere fungal and bacterial communities and leaf fungal endophyte communities in maize and soybean**. Applied Soil Ecology, v. 102, p. 61-69, 2016.

NISKANEN, T.; LÜCKING, R.; DAHLBERG, A.; GAYA, E.; SUZ, L. M.; MIKRYUKOV, V.; LIIMATAINEN, K.; DRUZHININA, I.; WESTRIP, J. R.S.; MUELLER, G. M.; MARTINS-CUNHA, K.; KIRK, P.; TEDERSOO, L.; ANTONELLI, A. **Pushing the Frontiers of Biodiversity Research: Unveiling the Global Diversity, Distribution, and Conservation of Fungi**. Annual Review of Environment and Resources, v. 48, n. 1, p. 149-176, 2023.

NORPHANPHOUN, C.; HONGSANAN, S.; GENTEKAKI, E.; CHEN, Y. J.; KUO, C. H.; HYDE, K. D. **Differentiation of species complexes in *Phyllosticta* enables better species resolution**. Mycosphere, v. 11, n. 1, p. 2542-2628, 2020.

NOVAS, N.; ALVAREZ-BERMEJO, J. A.; VALENZUELA, J. L.; GÁZQUEZ, J. A.; MANZANO-AGUGLIARO, F. **Development of a smartphone application for assessment of chilling injuries in zucchini**. Biosystems Engineering, v. 181, p. 114-127, 2019.

NYLANDER, J. A. A. 2004. **MrModeltest Version 2**. Program Distributed by the Author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Uppsala.

OITA, S.; IBÁÑEZ, A.; LUTZONI, F.; MIADLIKOWSKA, J.; GEML, J.; LEWIS, L. A.; HOM, E. F. Y.; CARBONE, I.; U'REN, J. M.; ARNOLD, E. **Climate and seasonality drive the richness and composition of tropical fungal endophytes at a landscape scale.** *Communications Biology*, v. 4, 313, 2021.

OLIVEIRA, A. D.; CARVALHO, D. F.; PEREIRA, J. B. A.; PEREIRA, V. C. **Crescimento e produtividade do pimentão em dois sistemas de cultivo.** *Revista Caatinga*, v. 28, n. 1, p. 78-89, 2015.

OLIVEIRA, R. J. V.; BEZERRA, J. L.; LIMA, T. E. F.; SILVA, G. A.; CAVALCANTI, M. A. Q. ***Phaeosphaeria nodulispora*, a new endophytic coelomycete isolated from tropical palm (*Cocos nucifera*) in Brazil.** *Nova Hedwigia*, v. 103, p. 185-192, 2016.

OLIVEIRA, R. J. V.; LIMA, T. E. F.; CUNHA, I. B.; COIMBRA, V. R. M.; SILVA, G. A.; BEZERRA, J. L.; CAVALCANTI, M. A. Q. ***Corniculariella brasiliensis*, a new species of coelomycetes in the rhizosphere of *Caesalpinia echinata* (Fabaceae, Caesalpinioideae) in Brazil.** *Phytotaxa*, v. 178, n. 3, 197, 2014b.

OLIVEIRA, R. J. V.; SOUSA, N. M. F.; NETO, W. P. P.; BEZERRA, J. L.; SILVA, G. A.; CAVALCANTI, M. A. Q. **Seasonality affects the community of endophytic fungi in coconut (*Cocos nucifera*) crop leaves.** *Acta Botanica Brasilica*, v. 34, n. 4, p. 704-711, 2020.

OLIVEIRA, R. J. V.; SOUZA, R. G.; LIMA, T. E. F.; CAVALCANTI, M. A. Q. **Endophytic fungal diversity in coffee leaves (*Coffea arabica*) cultivated using organic and conventional crop management systems.** *Mycosphere*, v. 5, n. 4, p. 523-530, 2014a.

OLIVEIRA, S. M. A.; TERAPO, D.; DANTAS, S. A. F.; TAVARES, S. C. C. H. **Patologia pós-colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

OLIVEIRA, T. G. L.; BEZERRA, J. D. P.; SILVA, I. R.; SOUZA-MOTTA, C. M.; MAGALHÃES, O. M. C. **Diversity of endophytic fungi in the leaflets and branches of *Poincianella pyramidalis*, an endemic species of Brazilian tropical dry forest.** *Acta Botanica Brasilica*, v. 34, n. 4, p. 755-764, 2020.

ONLAMUN, T.; BOONTHAVEE, A.; BROOKS, S. **Diversity and advantages of culturable endophytic fungi from tea (*Camellia sinensis*).** *Journal of Fungi*, v. 9, n. 12, 1191, 2023.

OROZCO-MOSQUEDA, M.; FLORES, A.; ROJAS-SÁNCHEZ, B.; URTIS-FLORES, C. A.; MORALES-CEDENO, L. R.; VALENCIA-MARIN, M. F.; CHÁVEZ-AVILA, S.; ROJAS-SOLIS, D.; SANTOYO, G. **Plant growth-promoting bacteria as bioinoculants: attributes and challenges for sustainable crop improvement.** *Agronomy*, v. 11, n. 6, 1167, 2021.

PACHECO-ESTEVA, M. C.; SOTO-CASTRO, D.; VÁSQUEZ-LÓPEZ, A.; LIMA, N. B.; TOVAR-PEDRAZA, J. M. **First report of *Colletotrichum chrysophilum* causing papaya anthracnose in Mexico.** *Plant Disease*, v. 106, 3213, 2022.

PÁDUA, A. P. S. L.; FREIRE, K. T. L. S.; OLIVEIRA, T. G. L.; SILVA, L. F.; ARAÚJO-MAGALHÃES, G. R.; AGAMEZ-MONTALVO, G. S.; SILVA, I. R.; BEZERRA, J. D. P.; SOUZA-MOTTA, C. M. **Fungal endophyte diversity in the leaves of the medicinal plant *Myracrodruon urundeuva* in a Brazilian dry tropical forest and their capacity to produce L-asparaginase.** Acta Botanica Brasilica, v. 33, n. 1, p. 39-49, 2019.

PARIS, H. S. **History of the Cultivar-Groups of *Cucurbita pepo*.** Horticultural Reviews, v. 25, p. 71-170, 2010.

PARSONS, E. P.; POPOVSKY, S.; LOHREY, G. T.; ALKALAI-TUVIA, S.; PERZELAN, Y.; BOSLAND, P.; BEBELI, P. J.; PARAN, I.; FALLIK, E.; JENKS, M. A. **Fruit cuticle lipid composition and fruit post-harvest water loss in an advanced backcross generation of pepper (*Capsicum* sp.).** Physiologia plantarum, v. 146, n. 1, p. 15-25, 2012.

PARWEEN, T.; JAN, S.; MAHMOODUZZAFAR, S.; FATMA, T.; SIDDIQUI, Z. H. **Selective effect of pesticides on plant — A Review.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 56, n. 1, p. 160-179, 2014.

PAZ, L. M. L.; LOPES, C. A.; CAFÉ FILHO, A. C. **Estabilidade da resistência de *Capsicum* spp. ao oídio em telado e casa de vegetação.** Fitopatologia Brasileira, v. 29, p. 519-525, 2004.

PENG, Y.; LI, S. J.; YAN, J.; TANG, Y.; CHENG, J. P.; GAO, A. J.; YAO, X.; RUAN, J. J.; XU, B. L. **Research progress on phytopathogenic fungi and their role as biocontrol agents.** Frontiers in microbiology, v. 12, 670135, 2021.

PEREIRA, R. B.; LIMA, M. F.; PINHEIRO, J. B.; LOPES, C. A. **Guia prático para identificação de doenças na produção integrada de pimentão.** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2015. 56 p.

PEREIRA, R. B.; PINHEIRO, J. B.; GUIMARÃES, J. A. **Manejo de Doenças Fúngicas no Sistema de Produção Integrada do Pimentão (PIP).** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2016. 12 p. (Circular técnica, 147).

PERERA, R. H.; HYDE, K. D.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; JONES, E. B. G.; MCKENZIE, E. H. C.; STADLER, M.; LEE, H. B.; SAMARAKOON, M. C.; EKANAYAKA, A. H.; CAMPORESI, E.; LIU, J. K.; LIU, Z. Y. **Fungi on wild seeds and fruits.** Mycosphere, v. 11, n. 1, p. 2108-2480, 2020.

PILLAI, T. G. **Pathogen to endophytic transmission in fungi- A proteomics approach.** SOJ Microbiology & Infectious Diseases, v. 5, n. 3, p. 1-5, 2017.

PRÉCIGOUT, P.-A.; CLAESSEN, D.; MAKOWSKI, D.; ROBERT, C. **Does the latent period of leaf fungal pathogens reflect their trophic type? A meta-analysis of biotrophs, hemibiotrophs, and necrotrophs.** Phytopathology, v. 110, n. 2, p. 345-361, 2020.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.

RABIEY, M.; HAILEY, L. E.; ROY, S. R.; GRENZ, K.; AL-ZADJALI, M. A. S.; BARRETT, G. A.; JACKSON, R. W. **Endophytes vs tree pathogens and pests: can they be used as biological control agents to improve tree health?** *European Journal of Plant Pathology*, v. 155, p. 711-729, 2019.

RADIĆ, T.; LIKAR, M.; HANČEVIĆ, K.; BOGDANOVIĆ, I.; PASKOVIĆ, I. **Occurrence of root endophytic fungi in organic versus conventional vineyards on the Croatian coast.** *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 192, p. 115-121, 2014.

RAGASSI, C. F.; RIBEIRO, C. S. C.; PATIÑO-TORRES, A.; LOPES, C. A.; PINHEIRO, J. B.; REIS, A. **Bell pepper rootstocks with multiple resistance to soilborne diseases.** *Revista Ceres*, v. 69, n. 03, p. 299-307, 2022.

RAJAMANIKYAM, M.; VADLAPUDI, V.; AMANCHY, R.; UPADHYAYULA, S. M. **Endophytic fungi as novel resources of natural therapeutics.** *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 60, e17160542, 2017.

RAMBAUT, A. **FigTree** (version 1.4.0). 2012. Disponível em: <<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>>.

RAMOS, S. R. R.; LIMA, N. R. S.; CARVALHO, H. W. L.; OLIVEIRA, I. R.; SOBRAL, L. F.; CURADO, F. F. **Aspectos técnicos do cultivo da abóbora na região Nordeste do Brasil.** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2010.

RBG KEW. **The State of the World's Plants Report – 2016.** Royal Botanic Gardens, Kew.

REGANOLD, J. P.; WACHTER, J. M. **Organic agriculture in the twenty-first century.** *Nature Plants*, v. 2, 15221, 2016.

RIERA, Christian Andres Galarza. **Aislamiento y caracterización molecular de hongos (ecto y endo) micorrízicos asociados al cultivo de maíz (*Zea mays* L.) en el bosque seco del sur del país.** Orientador: Marjorie Jazmin Salazar Orellana Mgt. 2023. 97 p. (Trabalho de conclusão) – Agronomia, Universidad Católica de Cuenca, Ecuador, 2023.

RISTAINO, J. B.; ANDERSON, P.; BEBBER, D.; BRAUMAN, K. A.; CUNNIFFE, N. J.; FEDOROFF, N.; FINEGOLD, C.; GARRETT, K. A.; GILLIGAN, C. A.; JONES, C.; MARTIN, M.; MACDONALD, G. K.; NEENAN, P.; RECORDS, A.; SCHMALE, D.; TATEOSIAN, L.; WEI, Q. **The persistent threat of emerging plant disease pandemics to global food security.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 118, n. 23, e2022239118, 2021.

RODRIGUEZ, R. J.; WHITE JR., J. F.; ARNOLD, A. E.; REDMAN, R. S. **Fungal endophytes: diversity and functional roles.** *New Phytologist*, v. 182, n. 2, p. 314-330, 2009.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M. A.; HUELSENBECK, J. P. **MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space.** *Systematic Biology*, v. 61, n. 3, p. 539-542, 2012.

RYU, J.-J.; LEE, S.-Y.; KANG, I.-K.; TEM, L. N.; JUNG, H.-Y. **First report of *Xenorousoella triseptata* isolated from soil in Korea.** The Korean Journal of Mycology, v. 50, n. 3, p. 195-204, 2022.

SALVATORE, M. M.; ANDOLFI, A.; NICOLETTI, R. **The genus *Cladosporium*: a rich source of diverse and bioactive natural compounds.** Molecules, v. 26, n. 13, 3959, 2021.

SANTINI, A.; LIEBHOLD, A.; MIGLIORINI, D.; WOODWARD, S. **Tracing the role of human civilization in the globalization of plant pathogens.** The ISME journal, v. 12, n. 3, p. 647-652, 2018.

SANTOS, F. S. S.; VIANA, T. V. A.; COSTA, S. C.; SOUSA, G. G.; AZEVEDO, B. M. **Crescimento e produção do pimentão semi-hidropônico sobrejeito de dessalinizadores e fertilização orgânica e mineral.** Revista Caatinga, v. 32, n. 4, p. 1004-1014, 2019.

SANTOS, P. R.; MELO, R. A.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; FERREIRA, I. V. S.; SILVA, F. S.; LIMA FILHO, F. P.; MENEZES, D. **Desempenho de linhagens e híbridos de pimentão em dois sistemas de poda no cultivo hidropônico.** Horticultura Brasileira, v. 35, n. 1, p. 129-134, 2017.

SAVARY, S.; WILLOCQUET, L.; PETHYBRIDGE, S. J.; ESKER, P.; MCROBERTS, N.; NELSON, A. **The global burden of pathogens and pests on major food crops.** Nature Ecology & Evolution, v. 3, n. 3, p. 430-439, 2019.

SCHULZ, B.; BOYLE, C. **The endophytic continuum.** Mycological Research, v. 109, n. 6, p. 661-86, 2005.

SCHULZ, B.; RÖMMERT, A. K.; DAMMANN, U.; AUST, H. J.; STRACK, D. **The endophyte-host interaction: a balanced antagonism.** Mycological Research, v. 103, p. 1275-1283, 1999.

SEIFERT, K.A.; MORGAN-JONES, G.; GAMS, W.; KENDRICK, B. 2011. **The genera of *Hyphomycetes*.** 2nd ed Utrecht: CBSKNAW Fungal Biodiversity Centre.

SEIFOLLAHI, E.; DE FARIAS, A. R. G.; JAYAWARDENA, R. S.; HYDE, K. D. **Taxonomic advances from fungal flora associated with ferns and fern-like hosts in Northern Thailand.** Plants, v. 12, n. 3, 683, 2023.

SHAHRIAR, S. A.; HUSNA, A.; PAUL, T. T.; EATY, M. N. K.; QUAMRUZZAMAN, M.; SIDDIQUE, A. B.; RAHIM, M. A.; AHMMED, A. N. F.; UDDAIN, J.; SIDDIQUEE, S. ***Colletotrichum truncatum* causing anthracnose of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in Malaysia.** Microorganisms, v. 11, n. 1, 226, 2023.

SHENNAN, C.; KRUPNIK, T. J.; BAIRD, G.; COHEN, H.; FORBUSH, K.; LOVELL, R. J.; OLIMPI, E. M. **Organic and Conventional Agriculture: A Useful Framing?.** Annual Review of Environment and Resources, v. 42, p. 317-346, 2017.

SHI, X.; QIN, T.; LIU, H.; WU, M.; LI, J.; SHI, Y.; GAO, Y.; REN, A. **Endophytic Fungi activated similar defense strategies of *Achnatherum sibiricum* host to different trophic types of pathogens.** Frontiers in Microbiology, v. 11, 1607, 2020.

SILVA, A. B. L.; MADI, E. F. **Guia Plano de Manejo Orgânico: produção primária vegetal**. Rio de Janeiro: 2021.

SILVA, R. M. F.; NETO, W. P.; OLIVEIRA, R. J. V.; BEZERRA, J. D. P.; BEZERRA, J. L.; LIMA, V. X.; VIEIRA, L. C.; TABOSA, J. N.; SOUZA-MOTTA, C. M.; SILVA, G. A. **Effect of climate and phenological stage on fungal endophytes community in *Sorghum bicolor* leaves**. *Mycological Progress*, v. 22, n. 19, p. 1-17, 2023.

SILVA, S. A. M.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L. S. A.; SUDRÉ, C. P.; BENTO, C. S.; CARMO, M. G. F.; MEDEIROS, A. M. **Resistance in *Capsicum* spp. to anthracnose affected by different stages of fruit development during pre- and postharvest**. *Tropical Plant Pathology*, v. 39, n. 4, p. 335-341, 2014.

SILVA, S. G. M.; MELO, B. A.; SANTOS, M. T.; RIOS, R. R. S.; SANTOS, C. M. S.; JÚNIOR, K. A. L. R.; MARANHÃO, F. C. A.; SANTOS, T. M. C.; FRAGA, A. B. **Endophytic fungi: Benefits for plants and biotechnological potential**. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 4, p. e9211427008, 2022.

SOARES, V. F.; VELHO, A. C.; CARACHENSKI, A.; ASTOLFI, P.; STADNIK, M. J. **First report of *Colletotrichum karstii* causing anthracnose on strawberry in Brazil**. *Plant Disease*, v. 105, n. 10, 2021.

STAMATAKIS, A. **RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies**. *Bioinformatics*, v. 30, n. 9, p. 1312–1313, 2014.

STROBEL, G. **The emergence of endophytic microbes and their biological promise**. *Journal of Fungi*, v. 4, n. 2, p. 1-19, 2018.

STUART, A. K. C.; STUART, R. M.; PIMENTEL, I. C. **Effect of agrochemicals on endophytic fungi community associated with crops of organic and conventional soybean (*Glycine max* L. Merrill)**. *Agriculture and Natural Resources*, v. 52, n. 4, p. 388-392, 2018.

SUKARNO, N.; GINTING, R. C. B.; WIDYASTUTI, U.; DARUSMAN, L. K.; KANAYA, S.; BATUBARA, I.; ARYANTHA, I. N. P.; WAITE, M. **Endophytic fungi from four Indonesian medicinal plants and their inhibitory effect on plant pathogenic *Fusarium oxysporum***. *HAYATI Journal of Biosciences*, n. 28, 152, 2021.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes: fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980.

TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R. **Hosts of *Colletotrichum***. *Mycosphere*, v. 14, n. 2, p. 158-261, 2023.

TAN, Y. P.; BRANSGROVE, K. L.; MARNEY, T. S.; RYLEY, M. J.; THOMPSON, S. M.; SHIVAS, R. G. **Nomenclatural novelties**. *Index Fungorum* no. 511, n. 6, 2021.

TAN, Y. P.; SHIVAS, R. G. **Index of Australian Fungi no. 1**. Zenodo, 2022.

TANAKA, A.; CHRISTENSEN, M. J.; TAKEMOTO, D.; PARK, P.; SCOTT, B. **Reactive oxygen species play a role in regulating a fungus-perennial ryegrass mutualistic interaction.** *The Plant cell*, v. 18, n. 4, p. 1052-1066, 2006.

TARIQ, A.; NAZ, F.; RAUF, C. A.; IRSHAD, G.; ABBASI, N. A.; KHOKHAR, N. M. **First report of anthracnose caused by *Colletotrichum truncatum* on bell pepper (*Capsicum annuum*) in Pakistan.** *Plant disease*, v. 101, n. 4, 631, 2017.

TARIQJAVEED, M.; MATEEN, A.; WANG, S.; QIU, S.; ZHENG, X.; ZHANG, J.; BHADOURIA, V.; SUN, W. **Versatile effectors of phytopathogenic fungi target host immunity.** *Journal of Integrative Plant Biology*, v. 63, n. 11, p. 1856-1873, 2021.

THAMBUGALA, K. M.; DARANAGAMA, D. A.; PHILLIPS, A. J. L.; KANNANGARA, S. D.; PROMPUTTHA, I. **Fungi vs. Fungi in Biocontrol: an overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, 604923, 2020.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. **Doenças fúngicas.** In: BRANDÃO FILHO, J. U. T.; FREITAS, P. S. L.; BERIAN, L. O. S.; GOTO, R., comps. *Hortaliças-fruto* [online]. Maringá: EDUEM, 2018, pp. 271-313.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; FERRARI, J. T. **Antracnose em solanáceas: etiologia, características e controle.** *Biológico*, v. 77, n. 1, p. 73-79, 2015.

TOREZANI, K. R. S.; LAUMANN, R. A.; SOUSA, A. A. T. C.; SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S. **Visitantes florais e potenciais polinizadores da aboboreira (*Cucurbita pepo* L.) no Distrito Federal.** Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2017.

TOSCANO, S.; BRANCA, F.; FERRANTE, A.; ROMANO, D. **Zucchini squash production in conventional and organic cultivation systems.** *Advances in Horticultural Science*, v. 35, n. 2, p. 195205, 2021.

TRAN, N. T.; MILES, A. K.; DIETZGEN, R. G.; DRENTH, A. ***Phyllosticta capitalensis* and *P. paracapitalensis* are endophytic fungi that show potential to inhibit pathogenic *P. citricarpa* on citrus.** *Australasian Plant Pathology*, v. 48, p. 281-296, 2019.

USDA database. **Squash, summer, zucchini, includes skin, cooked, boiled, drained, without salt.** U. S. Department of agriculture, 2022. Disponível em: <<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169292/nutrients>>. Acesso em: 06 de fevereiro de 2022.

VERDEJO-LUCAS, S.; TALAVERA, M. **Root-knot nematodes on zucchini (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo*): Pathogenicity and management.** *Crop Protection*, v. 126, 104943, 2019.

VIDAL, A.; PARADA, R.; MENDOZA, L.; COTORAS, M. **Endophytic fungi isolated from plants growing in Central Andean Precordillera of Chile with antifungal activity against *Botrytis cinerea*.** *Journal of fungi*, v. 6, n. 3, 149, 2020.

VIEIRA, M. L. A.; HUGHES, A. F. S.; GIL, V. B.; VAZ, A. B. M.; ALVES, T. M. A.; ZANI, C. L.; ROSA, C. A.; ROSA, L. H. **Diversity and antimicrobial activities of the**

fungal endophyte community associated with the traditional Brazilian medicinal plant *Solanum cernuum* Vell. (Solanaceae). Canadian Journal of Microbiology, v. 58, n. 1, p. 54-66, 2012.

VIEIRA, W. A. S.; LIMA, W. G.; NASCIMENTO, E. S.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S.; DOYLE, V. P. **The impact of phenotypic and molecular data on the inference of *Colletotrichum* diversity associated with *Musa*.** Mycologia, v. 109, p. 912-934, 2017.

VILELA, G. F.; MANGABEIRA, J. A. C.; MAGALHÃES, L. A. TÔSTO, S. G. **Agricultura orgânica no Brasil: um estudo sobre o Cadastro Nacional de Produtores Orgânicos.** Campinas: Embrapa Territorial, 2019.

WANG, F.; WANG, K.; CAI, L.; ZHAO, M.; KIRK, P. M.; FAN, G.; SUN, Q.; LI, B.; WANG, S.; YU, Z.; HAN, D.; MA, J.; WU, L.; YAO, Y. **Fungal names: a comprehensive nomenclatural repository and knowledge base for fungal taxonomy.** Nucleic Acids Research, v. 51, Issue D1, p. 708-716, 2023.

WANG, M.; LIU, B.; RUAN, R.; ZENG, Y.; LUO, J.; LI, H. **Genomic sequencing of *Phyllosticta citriasiana* provides insight into its conservation and diversification with two closely Related *Phyllosticta* species associated with *Citrus*.** Frontiers in Microbiology, v. 10, 2979, 2020.

WARNASURIYA, S. D.; UDAYANGA, D.; MANAMGODA, D. S.; BILES, C. **Fungi as environmental bioindicators.** Science of The Total Environment, v. 892, 164583, 2023.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, L. **Amplification and direct sequencing of fungal RNA genes for phylogenetics.** In: Innis, M. A.; Gelfand, D. H.; Sninsky, J. J.; White, T. J. (eds). PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications. San Diego: Academic Press, 1990.

WIN, P. M.; MATSUMURA, E.; FUKUDA, K. **Effects of pesticides on the diversity of endophytic fungi in tea plants.** Microbial Ecology, v. 82, p. 62-72, 2021.

XANTHOPOULOU, A.; MONTERO-PAU, J.; MELLIDOU, I.; KISSOUDIS, C.; BLANCA, J.; PICÓ, B.; TSABALLA, A.; TSALIKI, E.; DALAKOURAS, A.; PARIS, H. S.; GANOPOULOU, M.; MOYSIADIS, T.; OSATHANUNKUL, M.; TSAFTARIS, A.; MADESIS, P.; KALIVAS, A.; GANOPOULOS, I. **Whole-genome resequencing of *Cucurbita pepo* morphotypes to discover genomic variants associated with morphology and horticulturally valuable traits.** Horticulture Research, v. 6, 94, 2019.

XIA, Y.; SAHIB, M. R.; AMNA, A.; OPIYO, S. O.; ZHAO, Z.; GAO, Y. G. **Culturable endophytic fungal communities associated with plants in organic and conventional farming systems and their effects on plant growth.** Scientific Reports, v. 9, n. 1669, 2019.

XU, X.; HE, Q.; CHEN, C.; ZHANG, C. **Differential communications between fungi and host plants revealed by secretome analysis of phylogenetically related endophytic and pathogenic fungi.** PLoS ONE, v. 11, n. 9, e0163368, 2016.

YAN, D.; ZHANG, Y.; LIU, L.; YAN, H. **Pesticide exposure and risk of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis.** Scientific Reports, v. 6, 32222, 2016.

YAN, L.; ZHU, J.; ZHAO, X.; SHI, J.; JIANG, C.; SHAO, D. **Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 103, p. 3327-3340, 2019.

YANG, N.; ZHANG, W.; WANG, D.; CAO, D.; CAO, Y.; HE, W.; LIN, Z.; CHEN, X.; YE, G.; CHEN, Z.; CHEN, J.; WEI, X. **A novel endophytic fungus strain of *Cladosporium*: its identification, genomic analysis, and effects on plant growth.** Frontiers in Microbiology, v. 14, 1287582, 2023.

YAO, Y. Q.; LAN, F.; QIAO, Y. M.; WEI, J. G.; HUANG, R. S.; LI, L. B. **Endophytic fungi harbored in the root of *Sophora tonkinensis* Gapnep: Diversity and biocontrol potential against phytopathogens.** Microbiology Open, v. 6, n. 3, e00437, 2017.

YE, H-T.; LUO, S-Q.; YANG, Z-N.; WANG, Y-S.; DING, Q. **Latent pathogenic fungi in the medicinal plant *houltuynia cordata* thunb. are modulated by secondary metabolites and colonizing microbiota originating from soil.** Polish Journal of Microbiology, v. 70, n. 3, p. 359-372, 2021.

YORINORI, J. T.; PAIVA, W. M.; FREDERICK, R. D.; COSTAMILAN, L. M.; BERTAGNOLLI, P. F.; HARTMAN, G. E.; GODOY, C. V.; NUNES, J. Jr. **Epidemics of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Brazil and Paraguay from 2001 to 2003.** Plant Disease, v. 89, p. 675-677, 2005.

ZHANG, J.; YANG, R.; JIANG, S.; LI, D.; LI, T.; YANG, Z.; YUAN, J.; ZHAO, Y.; TAN, X.; WANG, D.; CHEN, Z. **First report of *Stagonosporopsis caricae* causing chayote leaf spot in Guizhou Province, China.** Plant Disease, v. 107, n. 7, 2023.

ZHANG, T.; ZHANG, Y. Q.; LIU, H. Y.; WEI, Y. Z.; LI, H. L.; SU, J.; ZHAO, L. X.; YU, L. Y. **Diversity and cold adaptation of culturable endophytic fungi from bryophytes in the Fildes Region, King George Island, maritime Antarctica.** FEMS Microbiology Letters, v. 341, n. 1, p. 52-61, 2013.

ZHOU, L. W.; MAY, T. W. **Fungal taxonomy: current status and research agendas for the interdisciplinary and globalisation era.** Mycology, v. 14, n. 1, p. 52-59, 2022.

ZHOU, X. R.; DAI, L.; XU, G. F.; WANG, H. S. **A strain of *Phoma* species improves drought tolerance of *Pinus tabulaeformis*.** Scientific reports, v. 11, n. 7637, 2021.

APÊNDICE A: ÁRVORES DE MÁXIMA VEROSSILHIMANÇA DAS ESPÉCIES ENDOFÍTICAS E POTENCIALMENTE FITOPATOGÊNICAS ISOLADAS DE FOLHAS DE ABOBRINHA E PIMENTÃO CULTIVADOS EM SISTEMAS DE MANEJO ORGÂNICO E CONVENCIONAL.

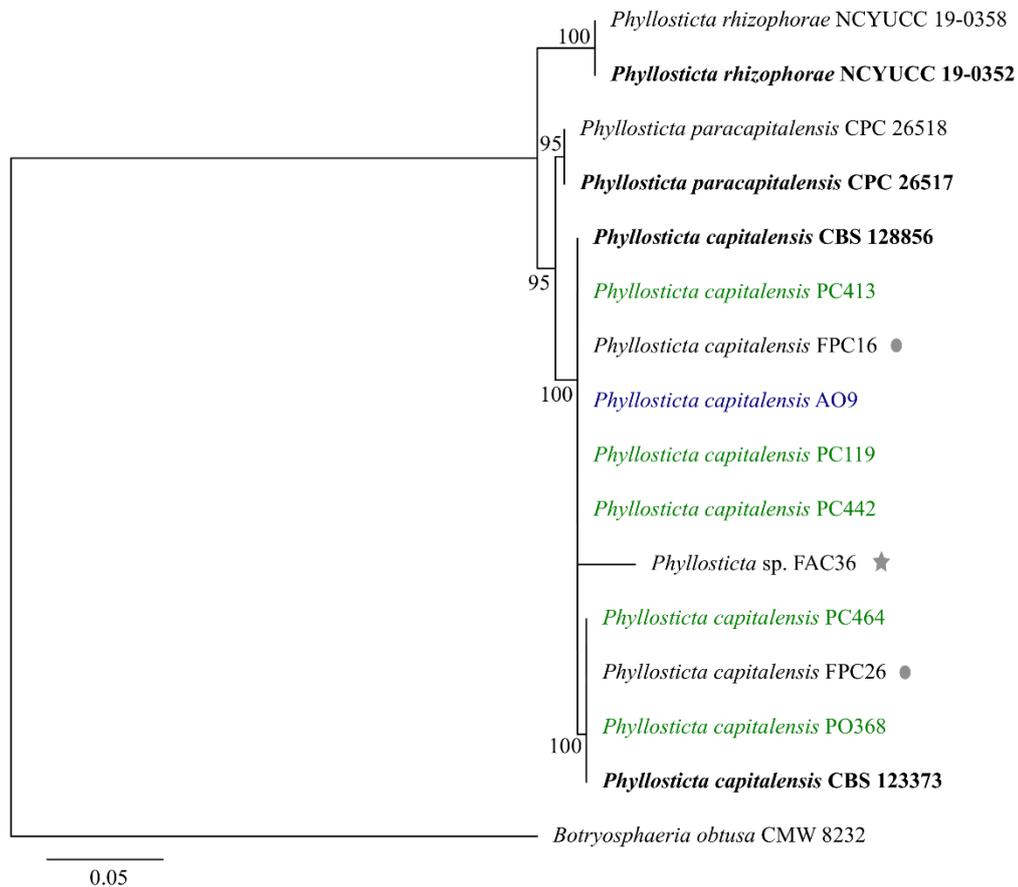


Figura A – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAxML dos dados das sequências de *act* (512F/783R). Valores para ML-BS $\geq 70\%$ estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas de abobrinha e os endófitos das folhas do pimentão estão em negrito, azul e verde, respectivamente. Isolados potencialmente patogênicos da abobrinha e os isolados potencialmente patogênicos do pimentão estão marcados com uma estrela e um círculo, respectivamente. A árvore foi enraizada com *Botryosphaeria obtusa* CMW 8232.

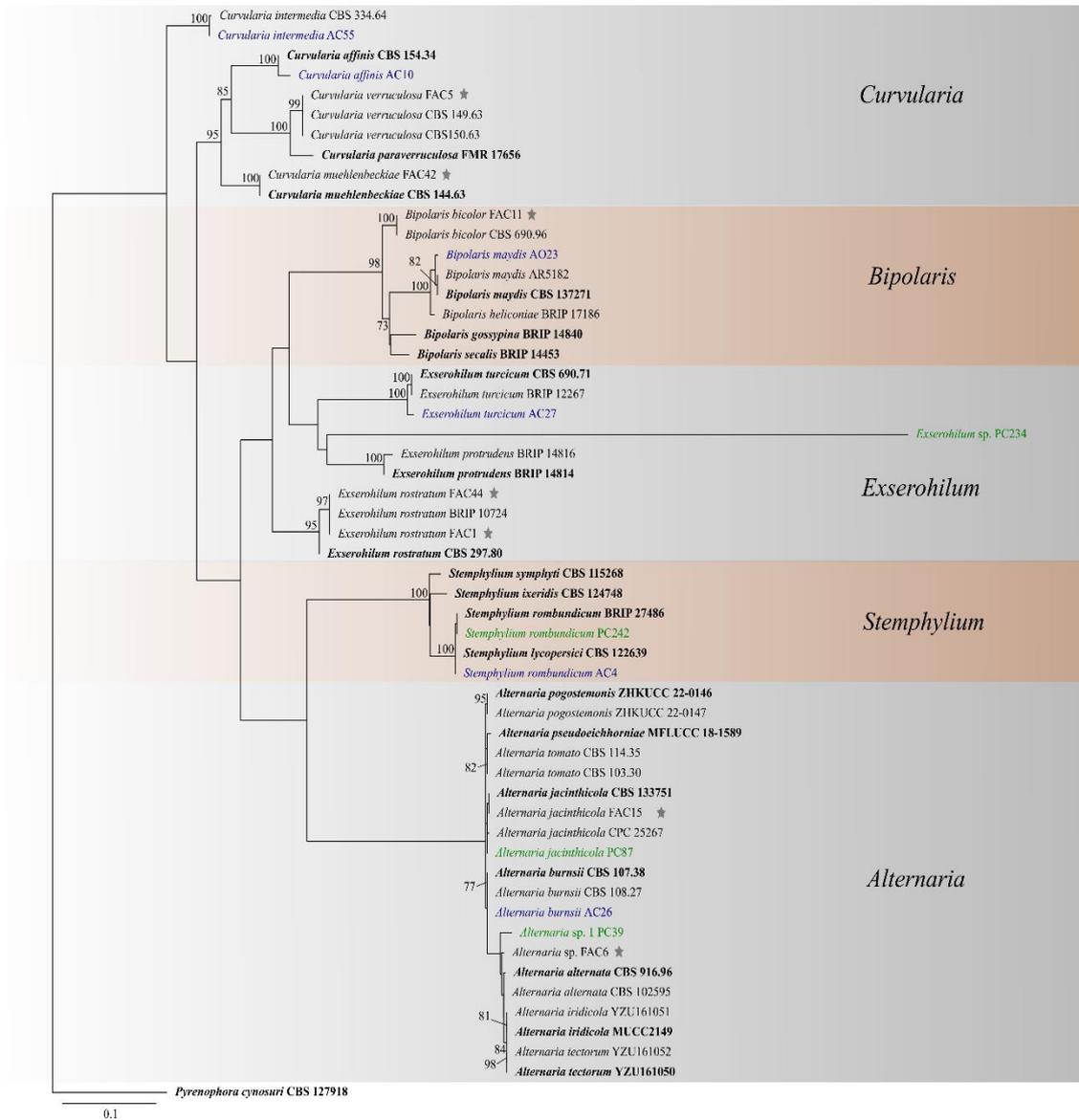


Figura B – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAxML dos dados das sequências de *gapdh* (GPD1/GPD2). Valores para ML-BS $\geq 70\%$ estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas de abobrinha e os endófitos das folhas do pimentão estão em negrito, azul e verde, respectivamente. Isolados potencialmente patogênicos da abobrinha estão marcados com uma estrela. A árvore foi enraizada com *Pyrenophora cynosuri* CBS 127918.

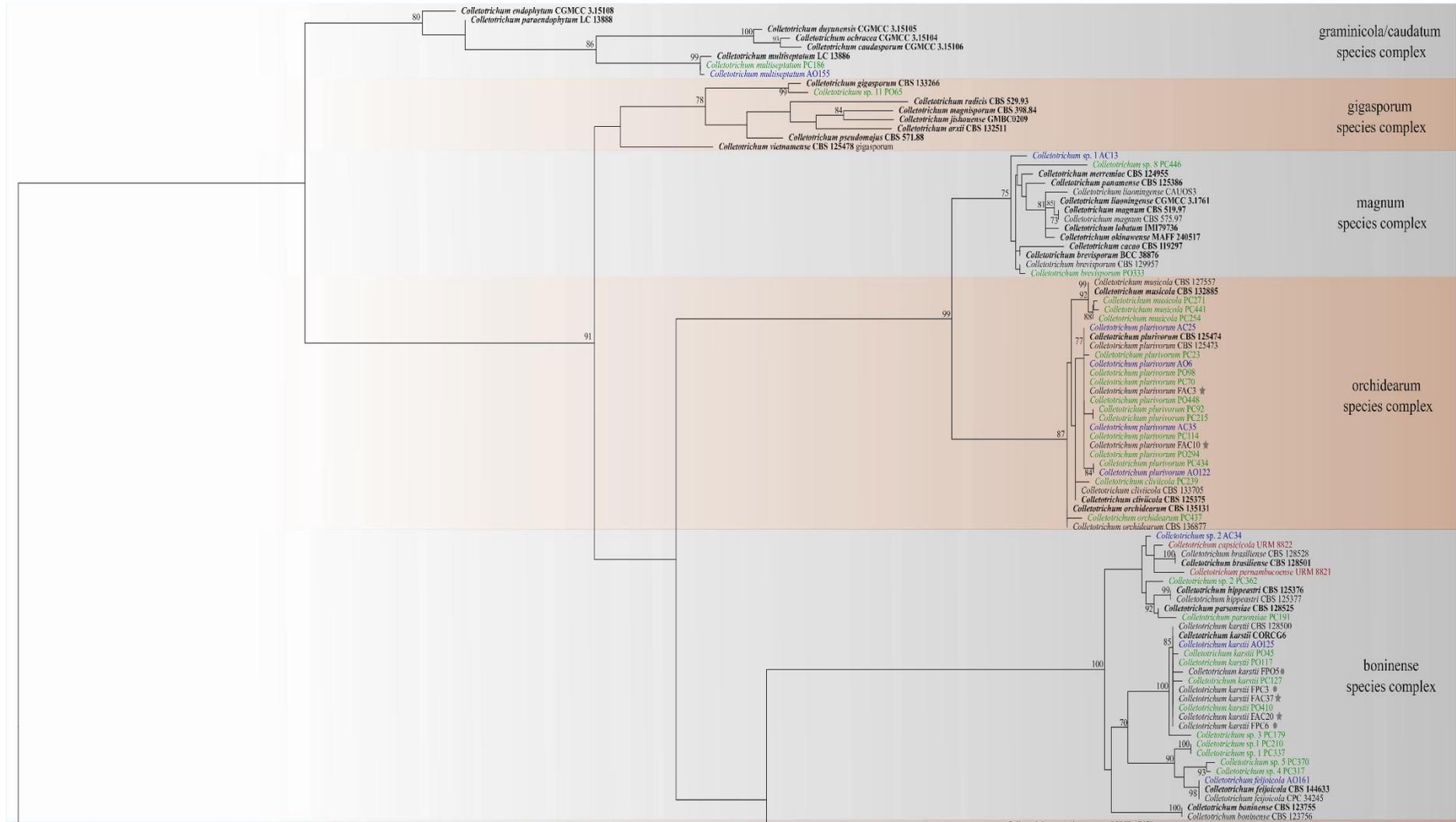




Figura C – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAxML dos dados das sequências de *gapdh* (GDF1/GDR1). Valores para ML-BS \geq 70% estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas de abobrinha e os endófitos das folhas do pimentão estão em negro, azul e verde, respectivamente. Isolados potencialmente patogênicos da abobrinha e os isolados potencialmente patogênicos do pimentão estão marcados com uma estrela e um círculo, respectivamente. Novas espécies estão em vermelho. A árvore foi enraizada com *Monilochaetes infuscans* CBS 869.96.

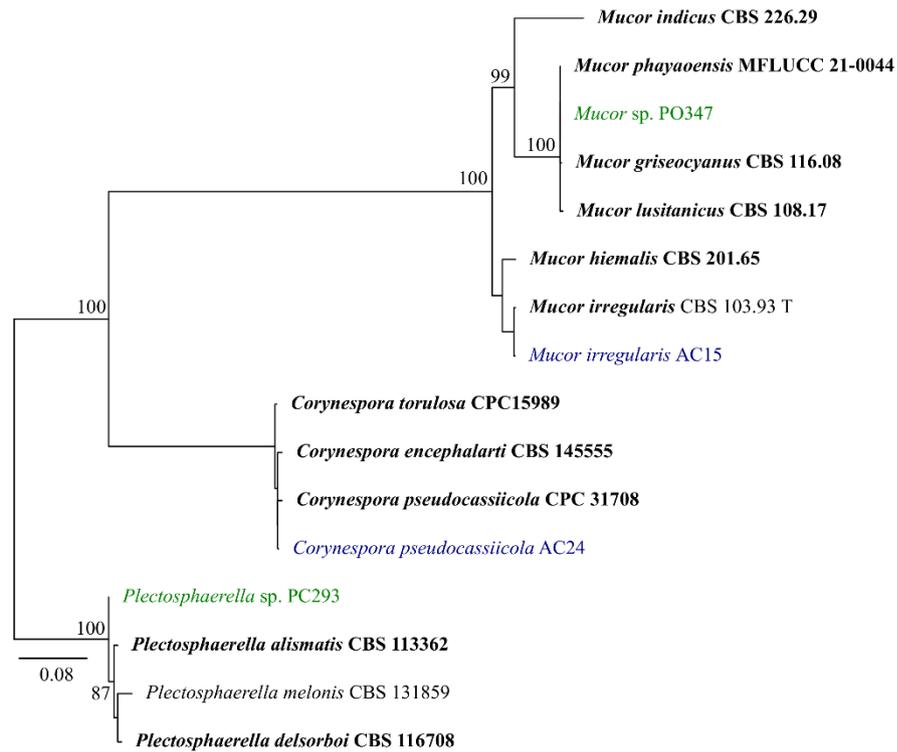


Figura D – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAxML dos dados das sequências de LSU (LROR/LR5). Valores para ML-BS $\geq 70\%$ estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas de abobrinha e os endófitos das folhas do pimentão estão em negrito, azul e verde, respectivamente. A árvore foi enraizada com *Plectosphaerella* sp. PC293, *P. alismatis* CBS 113362, *P. melonis* CBS 131859, *P. delsorboi* CBS 116708.

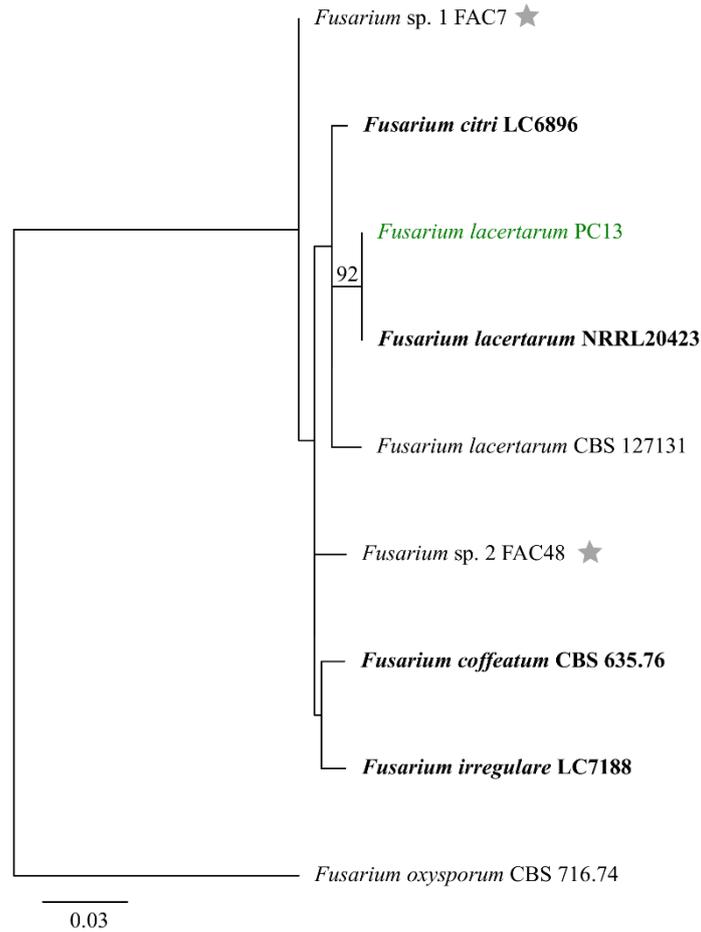


Figura E – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAxML dos dados das sequências de *rpb1* (FA/R8). Valores para ML-BS $\geq 70\%$ estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas do pimentão estão em negrito e verde, respectivamente. Isolados potencialmente patogênicos da abobrinha estão marcados com uma estrela. A árvore foi enraizada com *Fusarium oxysporum* CBS 716.74.

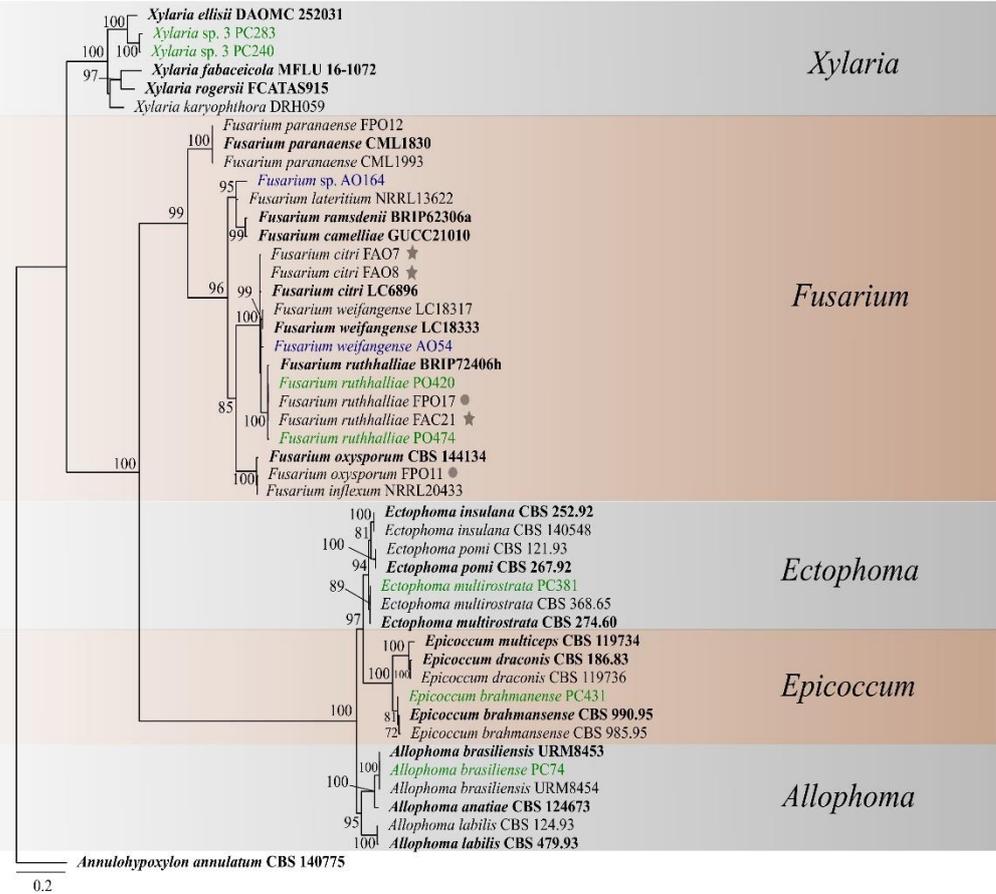


Figura F – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAXML dos dados das sequências de *rpb2* (5F2/7CR). Valores para ML-BS $\geq 70\%$ estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas de abobrinha e os endófitos das folhas do pimentão estão em negrito, azul e verde, respectivamente. Isolados potencialmente patogênicos da abobrinha e os isolados potencialmente patogênicos do pimentão estão marcados com uma estrela e um círculo, respectivamente. A árvore foi enraizada com *Annulohyphoxylon annulatum* CBS 140775.

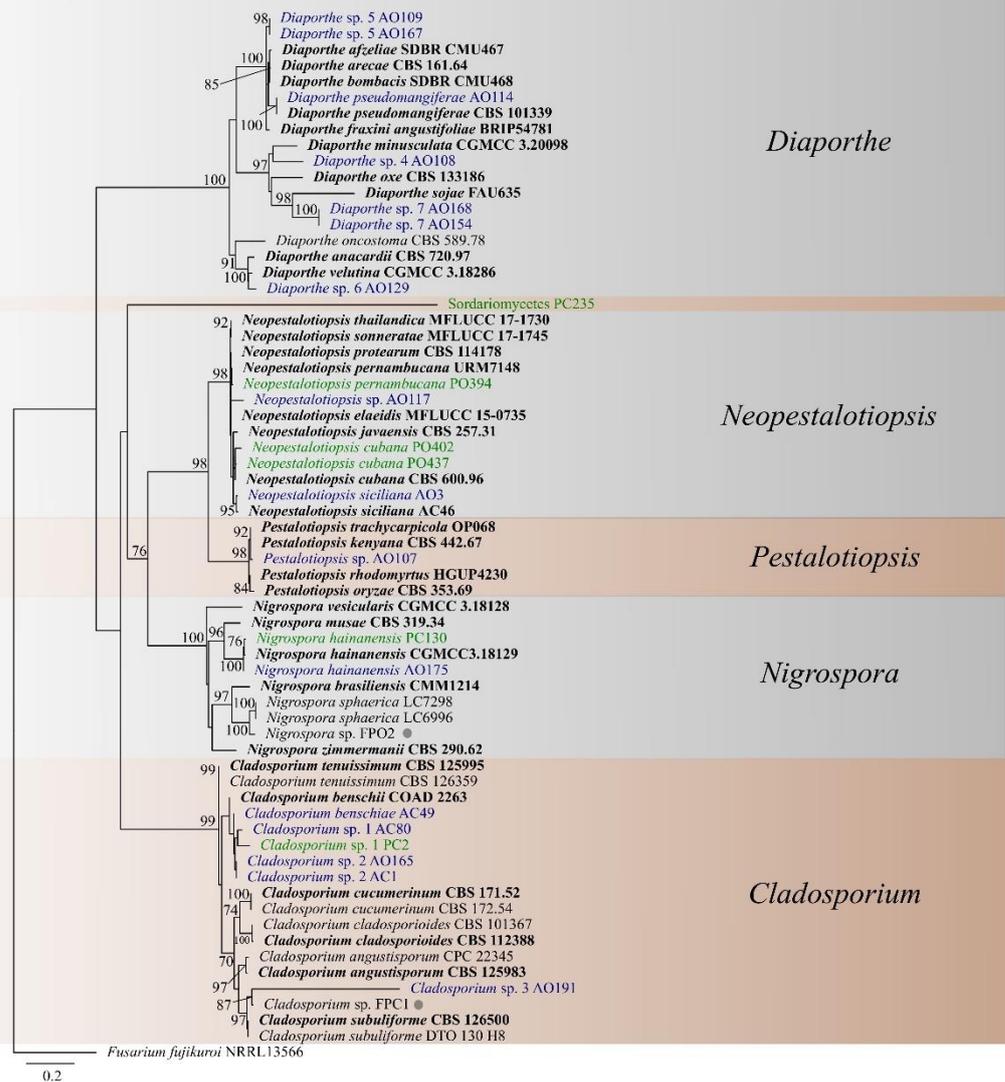


Figura G – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAxML dos dados das sequências de *tef* (728F/EF-2; 728F/986R). Valores para ML-BS $\geq 70\%$ estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas de abobrinha e os endófitos das folhas do pimentão estão em negrito, azul e verde, respectivamente. Isolados potencialmente patogênicos do pimentão estão marcados com um círculo. A árvore foi enraizada com *Fusarium fujikuroi* NRRL13566.

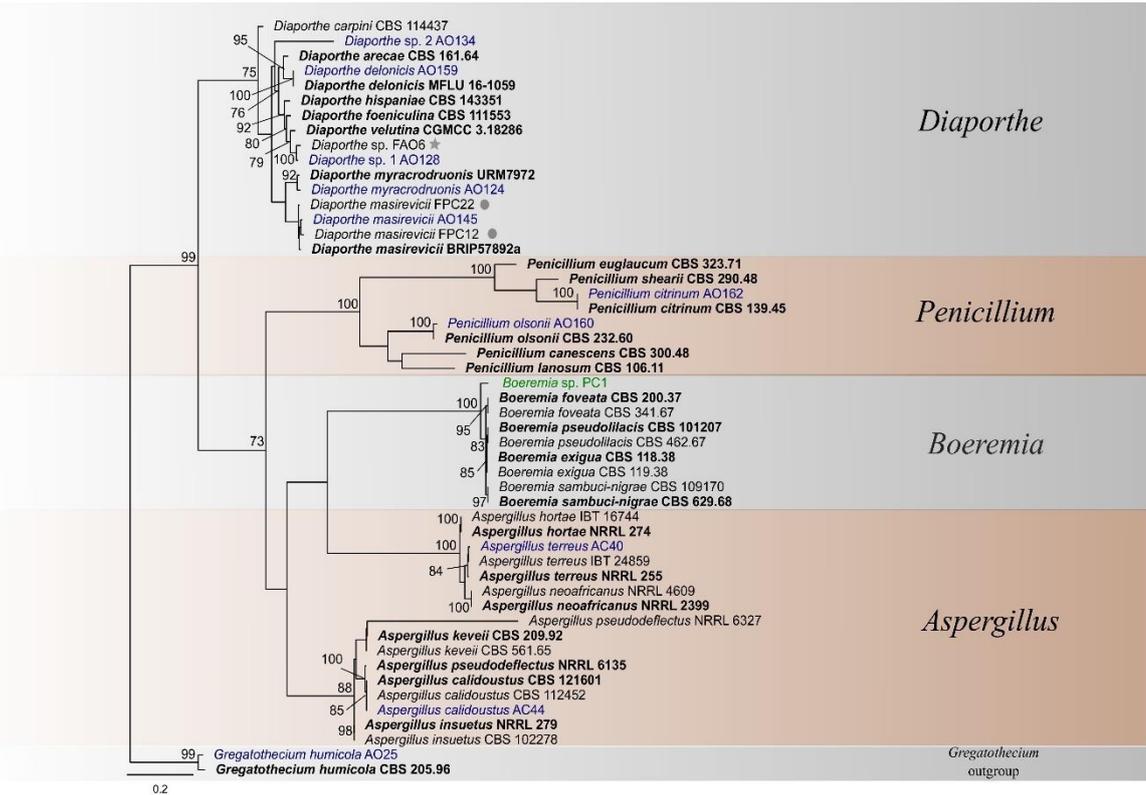
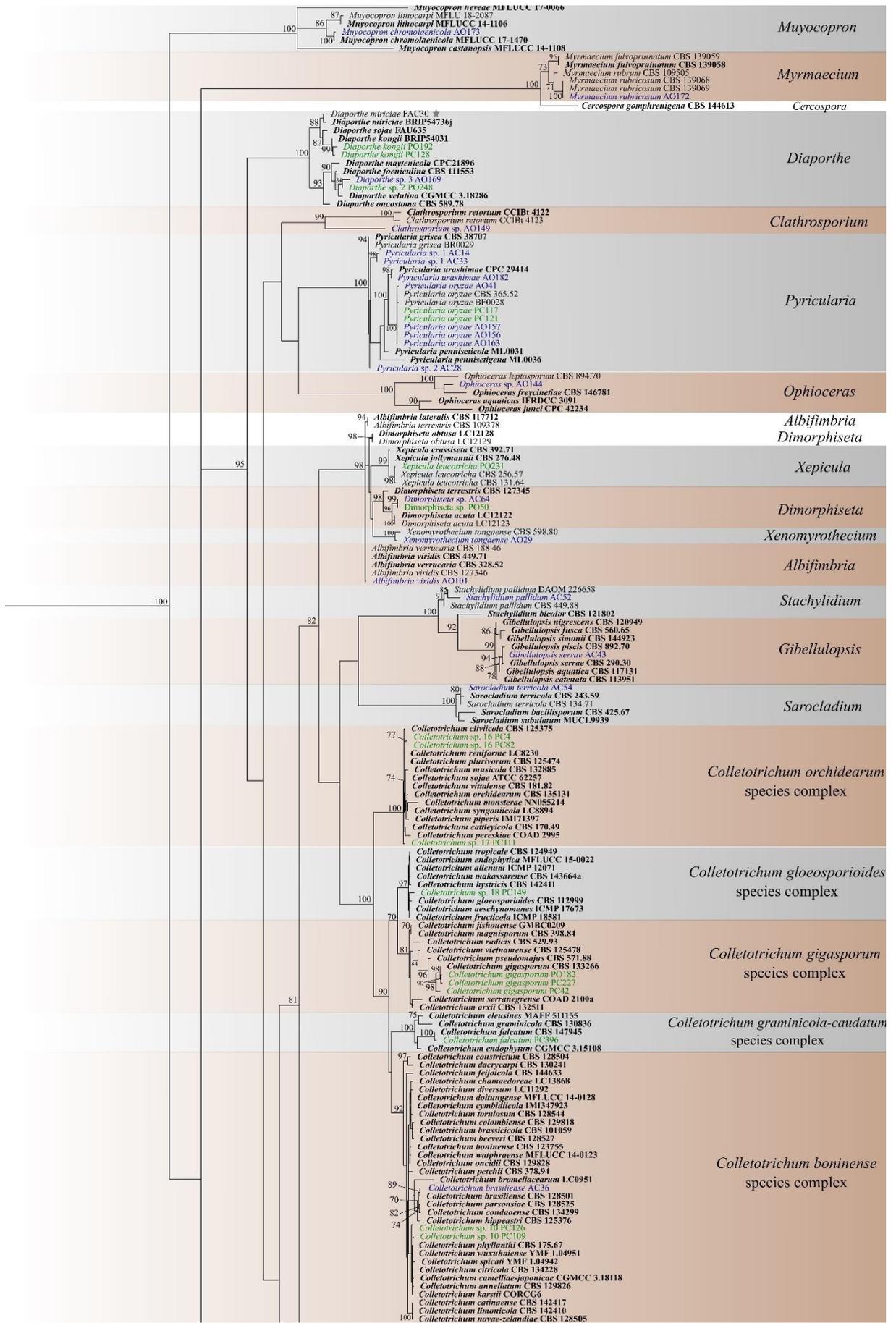
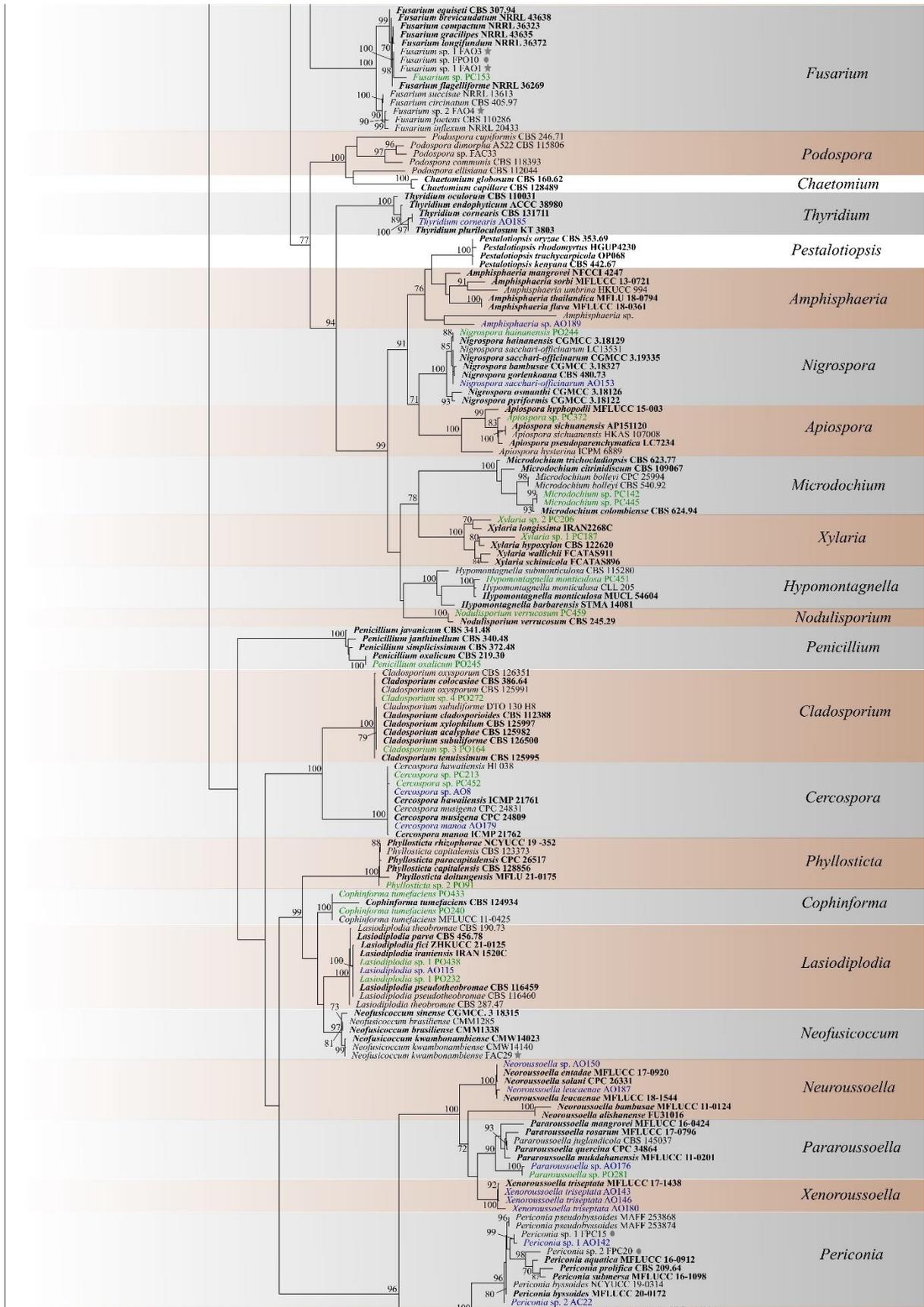


Figura H – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAxML dos dados das sequências de *tub* (2a/2b). Valores para ML-BS $\geq 70\%$ estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas de abobrinha e os endófitos das folhas do pimentão estão em negrito, azul e verde, respectivamente. Isolados potencialmente patogênicos da abobrinha e os isolados potencialmente patogênicos do pimentão estão marcados com uma estrela e um círculo, respectivamente. A árvore foi enraizada com *Gregatothecium humicola* CBS 205.96 e *Gregatothecium humicola* AO25.





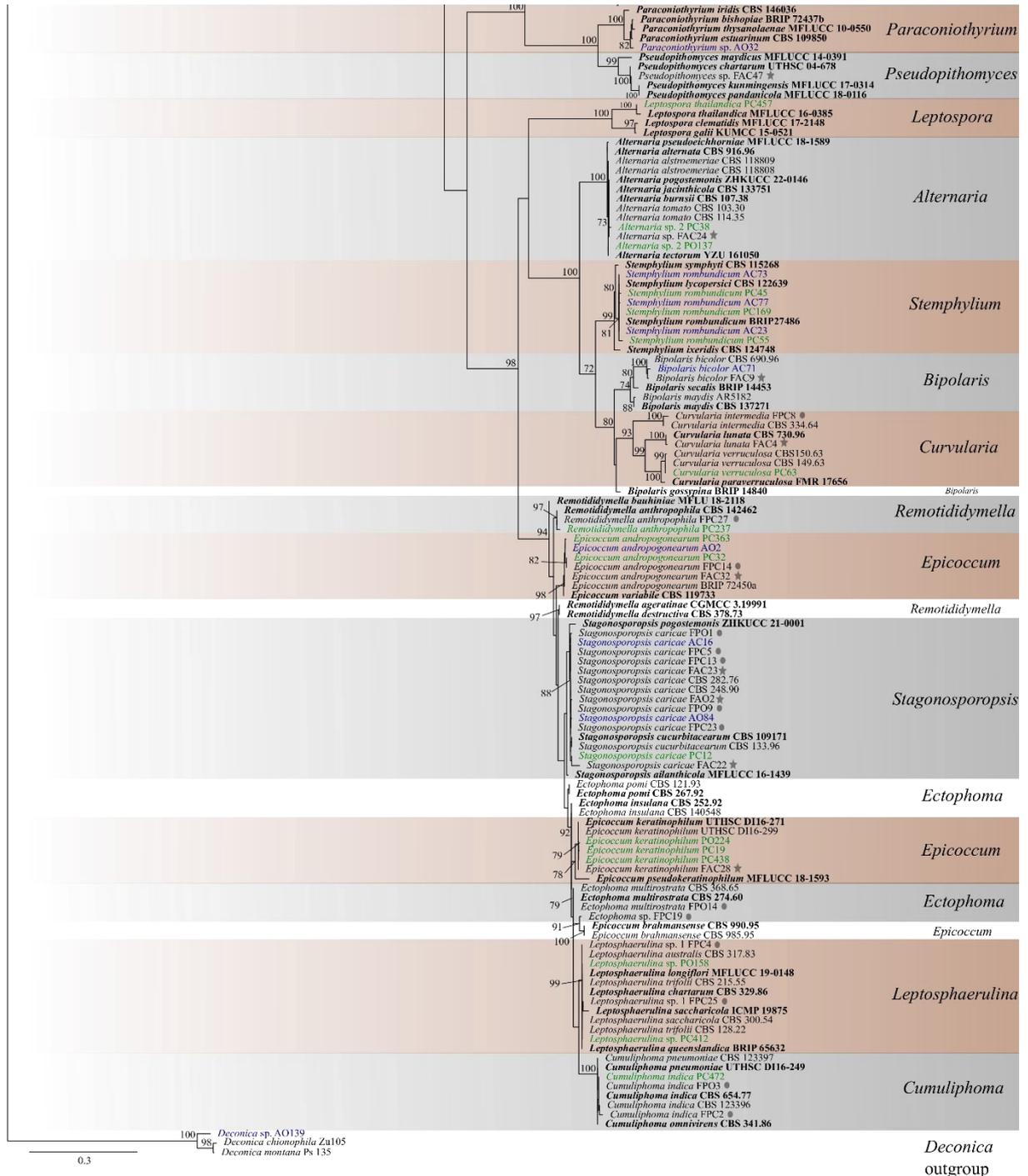


Figura I – Árvore filogenética obtida a partir da análise RAXML dos dados das sequências de ITS (ITS1/ITS4). Valores para ML-BS $\geq 70\%$ estão incluídos próximos aos nós. Cepas ex-tipo e isolados de referência, endófitos das folhas de abobrinha e os endófitos das folhas do pimentão estão em negrito, azul e verde, respectivamente. Isolados potencialmente patogênicos da abobrinha e os isolados potencialmente patogênicos do pimentão estão marcados com uma estrela e um círculo, respectivamente. A árvore foi enraizada com *Deconica* sp. AO139, *Deconica chionophila* Zu105 e *Deconica montana* PS 135.

APÊNDICE B: MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA “JOURNAL OF PLANT DISEASES AND PROTECTION”.

**FIRST REPORT OF ANTHRACNOSE CAUSED BY *Colletotrichum plurivorum* ON
Cucurbita pepo L. IN BRAZIL**

Thays G. L. Oliveira¹, Rejane M. F. Silva¹, Alexandre R. Machado¹, Oliane M. C. Magalhães¹, Antonio F. Costa², Cristina M. Souza-Motta¹, Gladstone A. Silva¹

¹Centro de Biociências, Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE 50670-901, Brazil

²Instituto Agrônômico de Pernambuco, Bongi, Recife, PE 50761-000, Brazil

*Corresponding author: Rejane Maria Ferreira da Silva (re.biologicas@gmail.com)

Abstract

Cucurbita pepo L. (zucchini) is a vegetable native to North and Central America that is uniformly elongated and cylindrical, used as food for humans and animals, and widely cultivated in tropical areas. In January 2021, anthracnose symptoms were observed on the leaves of *C. pepo* grown in an agricultural area located in the municipality of Chã Grande, Pernambuco, Brazil. Morphological characters and phylogenetic analyses of the ITS region of the rDNA (ITS), and partial sequences of the actin (ACT), beta-tubulin 2 (TUB2), and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) genes were used to identify the

pathogen causing the disease as *Colletotrichum plurivorum*. The pathogenicity test was performed using mycelium discs, and the pathogenicity was confirmed after seven days using Koch's postulate. To our knowledge, this is the first report of *Colletotrichum plurivorum* causing anthracnose in *C. pepo* leaves in Brazil.

Keywords: Glomerellaceae, Multilocus analysis, Pathogenicity, Zucchini

Cucurbita pepo L. (zucchini) is a cucurbit of great economic importance with a predominantly tropical distribution. It is harvested while immature and can produce up to three crop cycles per year in a protected environment (Verdejo-Lucas and Talavera 2019). In Brazil, the south central region stands out for the largest production, surpassing 150,000 tons according to the Agricultural Census carried out in 2017 (IBGE 2017).

Anthracnose, caused by species of the genus *Colletotrichum*, is a frequent disease in cucurbits that can affect plant tissue at any stage of development. Leaf symptoms can be observed as small dark lesions, often surrounded by a yellowish halo, which become necrotic (Reis and Feitosa 2022). In January 2021, anthracnose symptoms were observed on leaves of *C. pepo* in an agricultural area in the municipality of Chã Grande, Pernambuco, Brazil (8°15'17.778"S, 35°29'46.984"W). Diseased leaves had a dry appearance with necrotic, irregular, and dark brown lesions (Fig. 1f).

Samples of symptomatic leaves were superficially disinfected in 70 % ethanol for 30 s, sodium hypochlorite (3 % of active chlorine) for 2 min, and finally washed three times in distilled and sterilised water. Subsequently, the leaf fragments were transferred to potato dextrose agar (PDA) containing chloramphenicol (50 mg/L) and incubated at 25 ± 3 °C for 3 days. Three isolates were obtained. A representative culture was used to identify the species,

which was deposited in the culture collection of Micoteca URM Profa. Maria Auxiliadora Cavalcanti WCDM 604 at the Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil.

For morphological characterisation, the fungus was inoculated on PDA for seven days and showed olivaceous grey aerial mycelium, white margins, and growth of 6.5 cm (Fig. 1a). Microscopy of the sexual morph showed perithecial ascomata (globose to obpyriform, dark brown, $115.9\text{--}178.8 \times 97.3\text{--}153.7 \mu\text{m}$ (Fig. 1b,c)), unitunicate asci (clavate, 8-spored, $30.7\text{--}60(-72) \times 7.2\text{--}9.6(-12) \mu\text{m}$ (Fig. 1c,d)), aseptate ascospores (hyaline, allantoid to fusiform, both ends rounded, $14.4\text{--}19.2(-21.6) \times 4.5\text{--}5(-7.2) \mu\text{m}$ (Fig. 1e)), setae (dark brown, $127\text{--}181 \mu\text{m}$ long, $3\text{--}4 \mu\text{m}$ in diameter, septate), and appressoria (medium brown, $12\text{--}15.5 \times 4.8\text{--}6.5 \mu\text{m}$). An asexual morph was not observed.

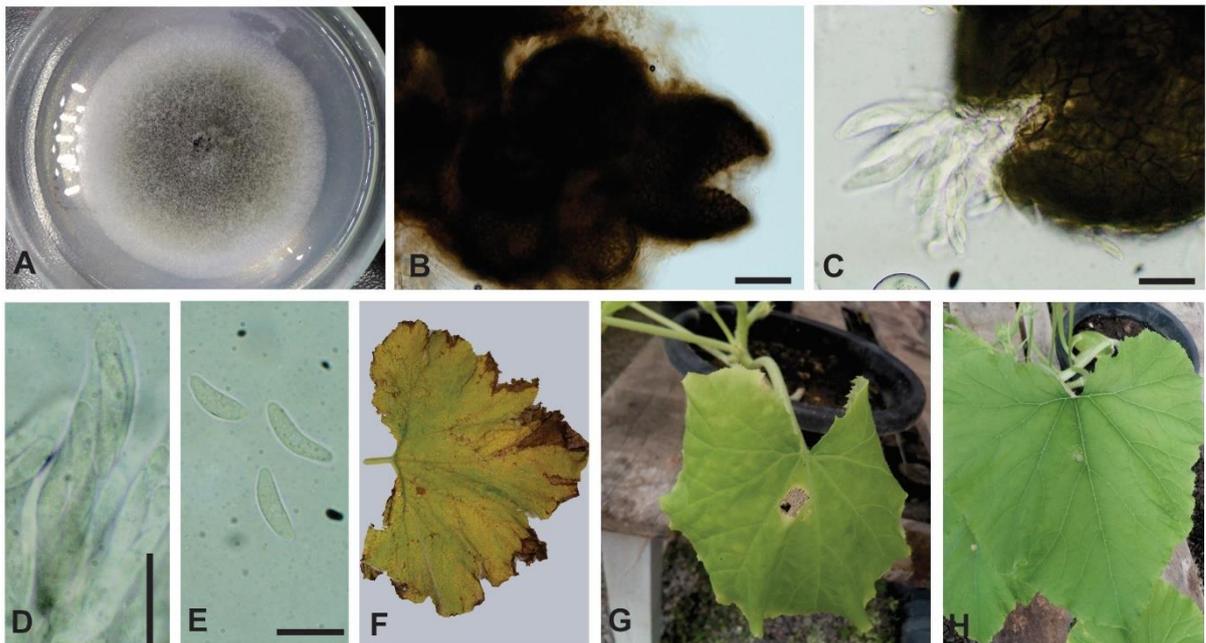


Fig. 1 a Colony on PDA. b Ascomata perithecia. c Ascomata perithecia and asci. d Asci. e Ascospores. f Zucchini leaves with disease symptoms. g Symptoms in zucchini leaves resulting from inoculation with *Colletotrichum plurivorum* after seven days. h Control leaf. Scale bars: B = 100 μm and C–E = 10 μm

Genomic DNA was extracted as described by Oliveira et al. (2016) for amplification of the ITS region of the rDNA (ITS), actin (ACT), beta-tubulin 2 (TUB2), and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), using the primers ITS1/ITS4, ACT-512F/ACT-783R, T1/Bt2b, and GDF1/GDR1 (Liu et al. 2022), respectively. The reactions were performed in a total reaction volume of 25 μ L. The amplification products were sequenced, and the obtained sequences (ITS: OQ130748; ACT: OQ144656, TUB2: OQ144657; GAPDH: OQ144655) were compared with other sequences deposited in GenBank, aligned using the online tool MAFFT v.7 (Kato and Standley 2013), and manually edited with the MEGA v.7 software (Kumar et al. 2016).

Phylogenetic trees were generated using Bayesian Inference (BI) and Maximum Likelihood (ML) analyses. BI was performed using MrBayes v 3.2.7a on XSEDE (Ronquist et al. 2012). The best nucleotide substitution model (GTR + I for ITS, HKY + I for ACT, and HKY + G for GAPDH and TUB2) was estimated by MrModelTest v.2.3 (Nylander 2004). The analyses were carried out for 1×10^7 generations with a burn value of 25 %, and trees were sampled every 1000 generations. The ML analyses were performed using the RAxML HPC BlackBox v. 8.2.12 (Stamatakis 2014) with 1000 bootstrap replications using default parameters and the GTR + G + I model test. All analyses were performed on the online server of the Cipres Science gateway portal (Miller et al. 2010).

The morphological characterisation of the fungus matched *C. plurivorum* described by Damm et al. (2019), and according to phylogenetic analyses, isolate URM 8640 were grouped with *C. plurivorum* CBS 125474 ex-type strain with high support (Bayesian posterior probability = 1 and ML bootstrap = 98) (Fig. 2).

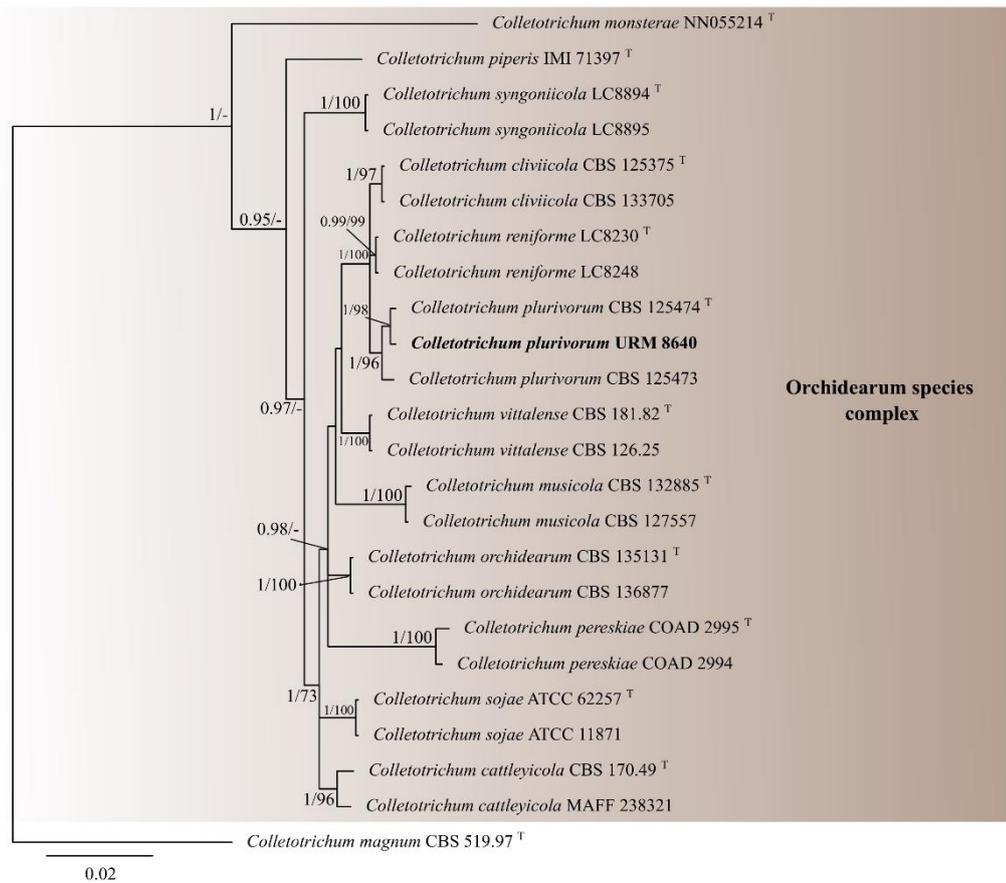


Fig. 2 Phylogenetic tree generated using Bayesian inference analysis based on combined TUB2, ACT, ITS, and GAPDH sequences from species of the Orchidearum complex. Ex-type strains are indicated as superscript ^T. The species identified in the study is indicated in bold. Bayesian posterior probabilities (BPP ≥ 0.95) and maximum likelihood bootstrap (ML ≥ 70 %) values are shown near nodes. The tree is rooted with *Colletotrichum magnum* (CBS 519.97)

To confirm the pathogenicity of the fungus, five *C. pepo* plants were used for fungus inoculation and five for the control. Three leaves were randomly chosen from each plant and subsequently wounded using a sterile needle. Culture discs (6 mm in diameter) of *C. plurivorum* URM 8640 grown on PDA for seven days were placed on the wound points. PDA discs were used as the controls. The plants were then kept at room temperature and covered

with plastic bags. Cotton soaked in water was placed at the base of the plants to maintain the humid chamber for 24 h. After seven days, necrosis symptoms were already evident at the inoculation points (Fig. 1g); however, the control plants remained healthy. In the indirect isolation of the diseased tissue, colonies and morphological characters identical to those of the inoculated fungus were recovered, and the pathogen was reisolated, confirming pathogenicity using Koch's postulate. *Colletotrichum plurivorum* was originally described as causing anthracnose in the leaves of coffee (*Coffea* sp.) in Vietnam (Damm et al. 2019). However, it has also been reported to cause anthracnose in the leaves and fruit of chilli (*Capsicum* spp.) in Malaysia and Thailand (Silva et al. 2019), leaves of pear (*Pyrus* spp.) in China (Fu et al. 2019), leaves of okra (*Abelmoschus esculentus*) in Brazil (Batista et al. 2020), leaves of watermelon (*Citrullus lanatus*) in China (Guo et al. 2022) and leaves of passion fruit (*Passiflora edulis*) in Brazil (Laurentino et al. 2022). However, this is the first report of *C. plurivorum* causing anthracnose in *C. pepo* leaves in Brazil.

Acknowledgement

The Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE (IBPG-0823-2.03/20). The Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Proc. 312227/2019-1). This research received financial support from the Universidade Federal de Pernambuco (Edital PROPG nº 06/2022). We would like to thank Editage (www.editage.com) for English language editing.

Ethics declarations

Conflict of interest

The authors declare no competing interests.

References:

Batista ICA, Boari AJ, Kauffmann CM, Nechet KL (2020) *Colletotrichum plurivorum* causes anthracnose on okra in Brazil. J Plant Pathol 102:1331. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00615-1>

Damm U, Sato T, Alizadeh A, Groenewald JZ, Crous PW (2019) The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. Stud Mycol 92:1–46. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2018.04.001>

Fu M, Crous PW, Bai Q, Zhang PF, Xiang J, Guo YS, Zhao FF, Yang MM, Hong N, Xu WX, Wang GP (2019) *Colletotrichum* species associated with anthracnose of *Pyrus* spp. in China. Persoonia 42:1–35. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2019.42.01>

Guo Z, Luo C-X, Wu H-J, Peng B, Kang B-S, Liu L-M, Zhang M, Gu Q-S (2022) *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of watermelon (*Citrullus lanatus*) in China. J Fungi 8:790. <https://doi.org/10.3390/jof8080790>

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2017) Censo Agropecuário. Available at: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/6953#resultado>. Accessed 20 December 2022

Katoh K, Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. Mol Biol Evol 30:772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol Biol Evol 33(7):1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>

Laurentino J, Lopes LEM, Silva-Cabral JRA, Costa JFO, Lima GSA, Assunção IP (2022) Espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em maracujazeiro no Brasil. *Diversitas J* 7(3):1205–1224. <https://doi.org/10.48017/dj.v7i3.2162>

Liu F, Ma ZY, Hou LW, Diao YZ, Wu WP, Damm U, Song S, Cai L (2022) Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. *Stud Mycol* 101:1–56. <https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.01>

Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. Gateway Computing Environments Workshop (GCE) 1–8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>

Nylander JAA (2004) MrModeltest Version 2. Program Distributed by the Author. Uppsala University, Evolutionary Biology Centre.

Oliveira RJV, Bezerra JL, Lima TEF, Silva GA, Cavalcanti MAQ (2016) *Phaeosphaeria nodulispora*, a new endophytic coelomycete isolated from tropical palm (*Cocos nucifera*) in Brazil. *Nova Hedwigia* 103(1):185–192. https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2016/0343

Reis A, Feitosa M I S (2022) Antracnose da melancia, melão e pepino: identificação e manejo. Embrapa, Brasília.

Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol* 61(3):539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

Silva DD, Groenewald JZ, Crous PW, Ades PK, Nasruddin A, Mongkolporn O, Taylor PWJ (2019) Identification, prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum* species

causing anthracnose of *Capsicum annuum* in Asia. IMA Fungus 10(8).
<https://doi.org/10.1186/s43008-019-0001-y>

Stamatakis A (2014) RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. Bioinformatics 30(9):1312–1313.
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>

Verdejo-Lucas S, Talavera M (2019) Root-knot nematodes on zucchini (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo*): Pathogenicity and management. Crop Prot 126:104943.
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104943>

APÊNDICE C: Artigo aceito na revista *Sydowia*. Oliveira, T.G.L.; Silva, R.M.F.; Bezerra, J.D.P.; Magalhães, O.M.C.; Souza-Motta, C.M.; Silva, G.A. 2024. Two new endophytic species in the *Colletotrichum boninense* species complex isolated from leaves of *Capsicum annuum* in Brazil. *Sydowia*.

Two new endophytic species in the *Colletotrichum boninense* species complex isolated from leaves of *Capsicum annuum* in Brazil

Thays G. L. Oliveira¹, Rejane M. F. Silva¹, Jadson D. P. Bezerra^{*2}, Oliane M. C. Magalhães¹,
Cristina Maria Souza-Motta¹ & Gladstone A. Silva¹

¹ Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

² Laboratório de Micologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás,
Goiânia, GO, Brazil

*Corresponding author: jadsonbezerra@ufg.br

Oliveira T.G.L., Silva R.M.F., Bezerra J.D.P., Magalhães O.M.C., Souza-Motta C.M. & Silva G.A. (2023) Two new endophytic species in the *Colletotrichum boninense* species complex isolated from leaves of *Capsicum annuum* in Brazil. – *Sydowia* XX: pp–pp.

Colletotrichum species, which are globally distributed, exhibit diverse ecological relationships with a variety of hosts. These species are not only significant pathogens but also exist as saprobes and endophytes. In this study, endophytic isolates of *Colletotrichum* were procured from *Capsicum annuum* (Solanaceae) leaves in a conventional cultivation agricultural area within the Atlantic Forest region of Brazil. A multi-locus phylogenetic analysis, which utilised sequences of internal transcribed spacer (ITS), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*), chitin synthase 1 (*CHS-1*), and actin (*ACT*), in conjunction with morphological

features, identified two new species within the *C. boninense* species complex. These new species are phylogenetically related and are positioned in a clade adjacent to *C. brasiliense*, a pathogenic species of *Passiflora edulis* found in Brazil and China. *Colletotrichum pernambucoense* sp. nov. is primarily characterised by its formation of unbranched conidiophores, which can be up to 26 µm long, and cylindrical to ampulliform conidiogenous cells that often extend to form new conidiogenous loci. On the other hand, *Colletotrichum capsicicola* sp. nov. has setae with 2–3-septate, branched or unbranched conidiophores that can be up to 49 µm long, and rarely lobate and irregularly shaped appressoria. Both species exhibit a prominent scar at the base of the conidia.

Keywords: bell pepper, endophytism, Glomerellaceae, taxonomy. – 2 new species

The genus *Colletotrichum* Corda, belonging to the family Glomerellaceae and order Glomerellales, was first introduced by Corda in 1831. The type species is *Colletotrichum lineola* Corda (Liu et al. 2022, Zheng et al. 2022). This genus encompasses species that are significant plant pathogens globally (Guarnaccia et al. 2021, Machado et al. 2022, Shahriar et al. 2023, Zhang et al. 2023). Additionally, it includes saprobes (Jayawardena et al. 2016, 2021, Liu et al. 2022), endophytes (Pádua et al. 2019, Zheng et al. 2022, Silva et al. 2023), and a few species that have been reported as opportunistic human pathogens (Hung et al. 2020, Paniz-Mondolfi et al. 2021).

The genus *Colletotrichum* is currently classified into 14 species complexes, each sharing similar phenotypic characteristics and positioned within monophyletic clades (Jayawardena et al. 2021, Bhunjun et al. 2021). Additionally, there are 12 singleton species (Bhunjun et al. 2021). The group's polyphasic taxonomy involves studying morphological characters and conducting phylogenetic analysis using a minimum of five markers. These markers include the internal transcribed spacer (ITS), glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*), chitin synthase (*CHS-1*), actin (*ACT*), and beta-tubulin (*TUB2*) (Cannon et al. 2012, Damm et al. 2012a, Jayawardena et al. 2016, 2021, Talhinhos & Baroncelli 2021, Liu et al. 2022). Typically, the *GAPDH* gene is the preferred and initial

choice for identifying and distinguishing species within complexes (Damm et al. 2012a, Weir et al. 2012).

The *C. boninense* species complex comprises species that typically exhibit a preference for specific hosts. These species share morphological characteristics common to this group, including a prominent scar at the base of the conidia and conidiogenous cells with a significant periclinal thickening. This thickening occasionally extends to form a new conidiogenous locus (Damm et al. 2012a, Jayawardena et al. 2021).

Over the years, new species of the *C. boninense* species complex have been described as endophytes and pathogens of different hosts (Hou et al. 2016, Ma et al. 2018, Liu et al. 2022, Zheng et al. 2022). Most of the species in the group have been reported as endophytes, having been *C. dacrycarpi* Damm, P.F. Cannon, Crous, P.R. Johnst. & B.S. Weir obtained from leaves of *Dacrycarpus dacrydioides* (A.Rich.) de Laub., and *C. parsonsiae* Damm, P.F. Cannon, Crous, P.R. Johnst. & B.S. Weir from leaves of *Parsonsia capsularis* (G.Forst.) R.Br., both in New Zealand (Damm et al. 2012a). Other examples are *C. wuxuhaiense* Z.F. Yu & H. Zheng from roots of *Potamogeton crispus* L., and *P. pectinatus* L., and *C. spicati* Z.F. Yu & H. Zheng from the stem of *Myriophyllum spicatum* L. and leaves of *Potamogeton wrightii* Morong in China (Zheng et al. 2022). These findings may show the endophytic lifestyle of species in the *C. boninense* species complex.

The bell pepper (*Capsicum annuum* L., Solanaceae), primarily produced in tropical and subtropical regions, is cultivated in various systems. These include organic cultivation in protected environments (Almeida et al. 2021), conventional and direct cultivation (Oliveira et al. 2015), hydroponic (Santos et al. 2017), and semi-hydroponic cultivation (Santos et al. 2019). In Brazil, this crop plays a significant socioeconomic role, covering an area of 11,188 hectares in 2017 and yielding 555 thousand tons (EMBRAPA hortaliças 2019). Globally, there are limited reports on the structure of the endophytic fungal community associated with

bell pepper (Halász et al. 2016). Nevertheless, bell pepper production faces challenges with phytopathogenic fungi, including potential endophytes that may exist as latent pathogens within the plants (Töfoli & Domingues 2018, Villafana et al. 2019, Balamurugan & Kumar 2023, Tihamiyu et al. 2023).

In a study examining endophytic fungi in *Capsicum annuum* leaves, collected from a conventional cultivation area in Brazil, several isolates were morphologically identified as *Colletotrichum*. Subsequent investigation of these isolates, using morphological characteristics in conjunction with multilocus phylogenetic analysis (ITS, *GAPDH*, *CHS-1*, *ACT*), revealed two new species within the *C. boninense* species complex.

Materials and methods

Sample collection and endophytic fungi

In January 2021, healthy leaves of *Capsicum annuum* were gathered from a conventional agricultural area in the municipality of Chã Grande (08°15'17.683"S, 35°29'46.861"W), Pernambuco, Brazil, during the dry season. The isolation of endophytic fungi was conducted following the method outlined by Araújo et al. (2002). Initially, the leaves were rinsed in running water, and tissue discs were excised using a sterile metal cork punch (6 mm diameter). The discs were then disinfested with 70 % ethanol for 30 s, followed by sodium hypochlorite (3 % active chlorine) for 2 min, and subsequently rinsed thrice in distilled and sterilised water. The leaf fragments were then transferred to a potato-dextrose-agar medium (PDA) supplemented with chloramphenicol (50 mg/L) to inhibit bacterial growth. The Petri dishes were incubated for up to 15 d at approximately 28 °C, following a natural day-night cycle. To assess the effectiveness of the surface sterilization, 1 mL of water from the final rinse was inoculated onto Petri dishes containing the same medium and

incubated under identical conditions. Fungal endophyte growth was monitored daily, and any colonies identified were isolated, purified, and maintained on PDA. Endophytic fungi, including *Colletotrichum* isolates, were preserved in a 10 % water-glycerol solution for subsequent analysis.

The ex-type strains of newly identified species have been deposited in the University Recife Mycology (URM) culture collection (WCDM 604) (Micoteca URM Profa. Maria Auxiliadora Cavalcanti) and slide preparations (holotypes) in the Herbário URM Pe. Camille Torrend, both at the Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil.

Morphology

Colletotrichum isolates were cultured on PDA, Malt Extract Agar (MEA), and Oatmeal Agar (OA), then incubated for a period of 7 d at an approximate temperature of 28 °C, following a natural day-night cycle. Measurements of colony diameters were taken, and their colours were analysed in accordance with Rayner's colour charts (Rayner 1970). During the microscopic analysis, between 12 and 30 structures were measured for each newly identified species. Photomicrographs of various fungal structures, including conidia, conidiophores, conidiomata, setae, and appressoria, were also captured.

DNA extraction, PCR amplification, and sequencing

Colletotrichum isolates were cultured on PDA for genomic DNA extraction, which was conducted following the method described by Oliveira et al. (2016). The primer pairs ITS1/ITS4 (White et al. 1990), GDF1/GDR1 (Guerber et al. 2003), *CHS-79F/CHS-354R*, and *ACT-512F/ACT-783R* (Carbone & Kohn 1999) were utilised to amplify the ITS region of the rRNA, the partial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene (*GAPDH*), the partial chitin synthase 1 gene (*CHS-1*), and the partial actin gene (*ACT*), respectively.

PCR amplifications were conducted in a total volume of 25 μ L. The ITS PCR conditions were set at 95 °C for 3 min, followed by 39 cycles of 94 °C for 45 s, 58 °C for 1 min, 72 °C for 1 min, and a final extension at 72 °C for 7 min. The *GAPDH* PCR conditions were set at 94 °C for 5 min, followed by 40 cycles of 94 °C for 30 s, 52 °C for 30 s, 72 °C for 30 s, and a final extension at 72 °C for 7 min. The *ACT* and *CHS-1* amplification conditions were set at 95 °C for 4 min, followed by 35 cycles of 95 °C for 30 s, 58 °C for 30 s, 72 °C for 45 s, and a final extension at 72 °C for 10 min. All amplified products were purified using Exonuclease I (Thermo Fisher Scientific) and Shrimp Alkaline Phosphatase (Cellco), and subsequently sequenced at the Plataforma Multiusuária de Sequenciamento e Expressão Gênica do Centro de Biociências of UFPE, Brazil.

Sequence alignment and phylogenetic analysis

The ITS, *GAPDH*, *CHS-1*, and *ACT* sequences generated in this study were analysed using the BLASTn tool from the NCBI GenBank nucleotide database and compared with others. We obtained all published DNA sequences from ex-type and reference strains of known *Colletotrichum* species within the *C. boninense* species complex, including the outgroup *C. truncatum* CBS 151.35, from recent literature (Youlian et al. 2011, Damm et al. 2012a, Hou et al. 2016, Ma et al. 2018, Jayawardena et al. 2021, Liu et al. 2022, Zheng et al. 2022) (Tab. 1).

Alignments for each locus were executed using the online tool MAFFT v.7 (Kato & Standley 2013) and manually adjusted with MEGA v.7 software (Kumar et al. 2016). The four-locus datasets, once concatenated, were analyzed by maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) using RAxML HPC BlackBox v. 8.2.12 (Stamatakis 2014) and MrBayes v 3.2.7a on XSEDE (Ronquist et al. 2012), respectively, via the online Cipres Science Gateway portal (Miller et al. 2010). ML analysis was conducted with 1000 bootstrap

replications using default parameters and the GTR + G + I as the optimal model. For BI analysis, the most suitable nucleotide substitution model was determined by MrModelTest v.2.3 (Nylander 2004) for each gene. BI analyses were conducted with two Markov Chain Monte Carlo (MCMC) runs, 1×10^7 generations with a burn-in value of 25 %, and trees were sampled every 1000 generations. ML bootstrap (ML-BS) values ≥ 70 % and BI posterior probability (BPP) values ≥ 0.95 are displayed near nodes. Phylogenetic trees were visualised using FigTree v. 1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Results

The five isolates, derived from distinct *C. annuum* individuals, exhibited morphological characteristics consistent with the *Colletotrichum* species. BLASTn searches within the NCBI GenBank database, restricted to type material sequences, revealed that the ITS, *GAPDH*, *CHS-1*, and *ACT* sequences of our isolates were part of the *C. boninense* species complex. The *GAPDH* gene served as the most effective identification marker for the two new species discussed herein, while the ITS, *ACT*, and *CHS-1* were less informative. For *C. pernambucoense*, the *GAPDH* region demonstrated a closer identity to *C. brasiliense* Damm, P.F. Cannon, Crous & Massola CBS 128501 (241/253 – 95 %; JQ005322), ITS was highly similar with *C. brasiliense* CBS 128501 (560/567 – 99 %; MH864997), *ACT* with *C. brasiliense* CBS 128501 (268/269 – 99 %; JQ005583), and *CHS-1* with *C. chamaedoreae* F. Liu, W.P. Wu & L. Cai LC13868 (298/301 – 99 %; MZ799274). For *C. capsicola*, the *GAPDH* region showed a closer identity to *C. brasiliense* CBS 128501 (246/253 – 97 %; JQ005322), ITS was highly similar with *C. brasiliense* CBS 128501 (563/566 – 99 %; MH864997), *ACT* with *C. brasiliense* CBS 128501 (267/269 – 99 %; JQ005583), and *CHS-1* with *C. chamaedoreae* LC13868 (298/301 – 99 %; MZ799274).

A BI analysis, based on the *GAPDH* sequence dataset, was previously conducted on the *C. boninense* species complex to ascertain the positioning of our isolates. The phylogenetic inference revealed two distinct and independent lineages (BPP = 1) for the new species. However, *GAPDH* failed to differentiate between the species *C. spicati* and *C. wuxuhaiense* (Supplementary data 1). The combined matrix of the *C. boninense* species complex included 54 sequences from ex-type and reference strains of the 30 known species in the group, along with the two new species. This matrix contained 1494 characters (*GAPDH* = 325, ITS = 571, *CHS-1* = 304, and *ACT* = 294), inclusive of gaps. The tree topology from the ML analysis mirrored that of the BI analysis (Fig. 1). The best scoring RAxML tree had a final likelihood value of -7192.333933. The optimal nucleotide substitution model for the BI analysis was HKY + G for *GAPDH*, SYM + I + G for ITS, and GTR + G for *CHS-1* and *ACT*. The phylogenetic inference indicated that isolates URM 8821, PC86, URM 8822, and PC159 constituted two distinct and independent lineages (ML-BS = 100 and BPP = 1), representing two new species closely related to *C. brasiliense* (CBS 128501 and CBS 128528). It is noteworthy that there are some discrepancies in the positioning of the species within the complex when analyzed with four genes, as compared to the tree constructed solely with *GAPDH*.

Taxonomy

Colletotrichum pernambucoense T.G.L. Oliveira & G.A. Silva, **sp. nov.** – Fig. 2

Mycobank no.: MB 849835

E t y m o l o g y . – The name is derived from the Brazilian state of Pernambuco, where the species was initially discovered.

H a b i t a t . – Healthy leaves of *Capsicum annuum*

Description. – Asexual morph developed on PDA.

Conidiomata acervular, abundant, pale brown, $(62.5\text{--})69\text{--}277(\text{--}392.5) \times (57.5\text{--})60\text{--}245(\text{--}306.5)$. **Setae** medium brown, smooth to finely verruculose, 2–4-septate, 50–112 μm long, base cylindrical, 5–7 μm diam, tip \pm acute to slightly roundish.

Conidiophores hyaline to pale brown, smooth-walled, aseptate or septate, unbranched, up to 26 μm long. **Conidiogenous cells** hyaline to pale brown, smooth-walled, cylindrical to ampulliform, often extending to form new conidiogenous loci, $3\text{--}11 \times 2\text{--}4 \mu\text{m}$. **Conidia** hyaline, smooth-walled, cylindrical, aseptate, the apex and base rounded, with a prominent scar at the base, $(11\text{--})12\text{--}13.5(\text{--}15) \times (3.5\text{--})4\text{--}5 \mu\text{m}$, mean \pm SD = $12.8 \pm 0.9 \times 4.5 \pm 0.4 \mu\text{m}$, $n = 31$. **Sexual morph and chlamydospores** not observed.

Culture characteristics. – (7 d at $\pm 28 \text{ }^\circ\text{C}$ in a day-night natural cycle):

Colonies on MEA with moderate aerial mycelium, white, reaching 45 mm diam; reverse similar. **Colonies** on OA flat with white mycelium, reaching 40 mm diam, superficial and some submerged black conidiomata, conidia in mass orange; reverse similar. **Colonies** on PDA flat with white mycelium, reaching 50 mm diam, superficial and submerged conidiomata, conidia in mass orange in the center; reverse similar.

Material examined. – BRAZIL. Pernambuco state, Chã Grande municipality, isolated as endophyte from leaves of *Capsicum annuum*, 29 January 2021, leg. T.G.L. Oliveira (URM 95354, **holotypus**) – ex-type culture URM 8821 = Isolate PC85; *ibid.* PC86 (URM 95355, **isotypus**).

Notes. – *Colletotrichum pernambucoense* sp. nov. is a species phylogenetically close to *C. capsicola* sp. nov. based on the ITS, *GAPDH*, *CHS-1* and *ACT* sequences, both isolated from healthy leaves of different individuals of bell pepper in Brazil (Fig. 1). Comparing the *GAPDH* sequences of the *C. pernambucoense* and *C. capsicola*, reveals they had 96.56 % identity. However, *C. pernambucoense* significantly differs from *C. capsicola* in terms of morphological characteristics. It presents slightly larger acervular

conidiomata, measuring $(62.5-69-277(-392.5)) \times (57.5-60-245(-306.5))$, a greater number of septa in setae (2–4-septate), and considerably longer setae (50–112 μm versus 29–87 μm). Additionally, it has conidiophores that can reach up to 26 μm in length, conidiogenous cells measuring $3-11 \times 2-4 \mu\text{m}$, and slightly smaller conidia, measuring $(11-12-13.5(-15)) \times (3.5-4-5 \mu\text{m})$.

Colletotrichum capsicicola T.G.L. Oliveira & G.A. Silva, **sp. nov.** – Fig. 3

MycoBank no.: MB 849836

E t y m o l o g y . – The name is derived from the generic name of the host plant (*Capsicum annuum*) where the species was first isolated.

H a b i t a t . – Healthy leaves of *Capsicum annuum*

D e s c r i p t i o n . – A s e x u a l m o r p h developed on PDA.

C o n i d i o m a t a acervular, abundant, solitary, some in groups, pale to medium brown, $(60-144-270(-369)) \times (48-120-228(-333))$. **S e t a e** medium to dark brown, smooth to finely verruculose, 2–3-septate, 29–87 μm long, base cylindrical, sometimes slightly inflated, 2–5 μm diam, tip \pm acute to slightly roundish. **C o n i d i o p h o r e s** hyaline to pale brown, smooth-walled, septate, some aseptate, branched or unbranched, up to 49 μm long.

C o n i d i o g e n o u s c e l l s hyaline to pale brown, smooth-walled, cylindrical to ampulliform, $6.5-16 \times 3-4 \mu\text{m}$. **C o n i d i a** hyaline, smooth-walled, cylindrical, aseptate, the apex and base rounded, with a prominent scar at the base, $(11-13-15(-16)) \times (3-4-5(-5.5)) \mu\text{m}$, mean \pm SD = $13.4 \pm 1.3 \times 4.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$, n = 30. **A p p r e s s o r i a** brown to dark brown, smooth-walled, rarely lobate and with irregular shape, often with a roundish to elliptical outline, $7-16(-22) \times (5-7-10.5(-11.5)) \mu\text{m}$. **S e x u a l m o r p h** and **c h l a m y d o s p o r e s** not observed.

C u l t u r e c h a r a c t e r i s t i c s . – (7 d at $\pm 28 \text{ }^\circ\text{C}$ in a day-night natural cycle):

C o l o n i e s on OA flat with white mycelium, reaching 65 mm diam, superficial and

submerged black conidiomata, conidia in mass orange; reverse similar. Colonies on PDA and MEA with moderate aerial mycelium, white, reaching 53–55 mm diam; reverse orange in the center with white margin.

Material examined. – BRAZIL. Pernambuco state, Chã Grande municipality, isolated as endophyte from leaves of *Capsicum annuum*, 29 January 2021, leg. T.G.L. Oliveira (URM 95356, **holotypus**) – ex-type culture URM 8822 = Isolate PC129; *ibid.* PC159 (URM 95357, **isotypus**), PC160.

Notes. – Based on our phylogenetic analysis using a combined dataset (Fig. 1), *C. capsicicola* sp. nov. is closely related to *C. pernambucoense* sp. nov., both of which were obtained as endophytes in leaves of bell peppers cultivated in the Atlantic Forest region of Brazil. Morphological characteristics reveal that *C. capsicicola* significantly differs from *C. pernambucoense*. This difference is evident in the slightly smaller acervular conidiomata (60–144–270(–369) × (48–)120–228(–333), smaller and occasionally slightly inflated setae at the base (29–87 µm), larger and branched conidiophores (up to 49 µm long), larger conidiogenous cells (6.5–16 × 3–4 µm), and slightly larger conidia (11–)13–15(–16) × (3–)4–5(–5.5) µm. Furthermore, *C. capsicicola* possesses irregular appressoria 7–16(–22) × (5–)7–10.5(–11.5) µm, a structure not observed in its sister species, *C. pernambucoense*.

Discussion

This study proposes two new species of *Colletotrichum*, obtained from healthy distinct bell pepper (*Capsicum annuum*) individuals leaves collected from the same region within the Atlantic Forest region of Brazil, cultivated in a conventional agricultural area. These specimens were identified within the *C. boninense* species complex through a combination of phylogenetic analysis (ITS, *GAPDH*, *CHS-1*, and *ACT*) and morphological features of the asexual morph obtained in culture. Previous studies have also identified different fungal species within the same host plant from the same region (Ma et al. 2018; Wang et al. 2019;

Zheng et al. 2022). Species within the *C. boninense* complex are identified as endophytes in various terrestrial plant species (Damm et al. 2012a; Ma et al. 2018; Liu et al. 2022), climbing plants (Damm et al. 2012a) and aquatic plants (Zheng et al. 2022).

Our marker independent analysis (data not shown) identified the *GAPDH* gene (Supplementary data 1) as the most effective marker for distinguishing between the two new species, *C. pernambucoense* and *C. capsicicola*. According to Vieira et al. (2020), *GAPDH* is among the most informative markers for species resolution within the *C. boninense* species complex, presenting a maximum phylogenetic informativeness of 0.24 when compared to the divergence time for most species (0.2), supporting the majority of species within the complex as monophyletic. This finding aligns with the results of a study conducted by Damm et al. (2012a), which also recognised all clades within the *C. boninense* species complex using *GAPDH*. Additionally, the authors found that the ITS and *CHS-1* genes identified only a few species, and *ACT* exhibited high intraspecific variability in certain species. The discrepancies observed in the placement of species within the tree constructed solely with *GAPDH* (Supplementary data 1), as compared to the multigenic tree (Fig. 1), could potentially be attributed to incomplete lineage sorting (Liu et al. 2022).

The species recently introduced bear a relation to *C. brasiliense*. Damm et al. (2012a) described *Colletotrichum brasiliense* in association with fruit anthracnose of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener and from the fruit of *P. edulis* Curtis in São Paulo, Brazil, a location approximately 2080 km distant from our study area. Furthermore, Shi et al. (2022) reported this species as the cause of anthracnose in violet passion fruit (*P. edulis*) in Guangxi, China. Morphologically, *C. brasiliense* exhibits distinct characteristics that differentiate it from the two newly described species. These include smaller setae with zig-zag-shaped tips, branched conidiophores compared to *C. pernambucoense*, and shorter conidiophores relative to the length observed in *C. capsicicola* (up to 30 µm long versus up to 49 µm long). The

conidiogenous cells of *C. brasiliense*, cylindrical to ellipsoidal in shape and encased in a mucous sheath, are slightly larger than those in *C. pernambucoense*. The conidia of *C. brasiliense*, which contain granular or guttulate content, are marginally larger than those of the described species. Lastly, the appressoria of *C. brasiliense* occasionally exhibit triangular contours and are slightly larger than those in *C. capsicicola* (Damm et al. 2012a).

According to phylogenetic analyzes (Fig. 1), *C. pernambucoense*, and *C. capsicicola* are closely related to *C. brasiliense*, *C. parsonsiae*, *C. condaoense* Damm, and *C. hippeastri* Yan L. Yang, Zuo Y. Liu, K.D. Hyde & L. Cai, grouping into a well-supported clade (1/100). The four last cited species also share the presence of a gelatinous sheath surrounding the conidiogenous cells (Yang et al. 2009; Damm et al. 2012; Crous et al. 2018), not observed in *C. pernambucoense* and *C. capsicicola*.

Morphologically, in comparison to *C. parsonsiae* (Damm et al. 2012), *C. pernambucoense* presents smooth to finely verruculose and much smaller setae, smaller and unbranched conidiophores, smaller conidiogenous cells and conidia cylindrical to ampulliform, not guttulate, slightly smaller. When compared to *C. hippeastri* (Yang et al. 2009; Damm et al. 2012), *Colletrotrichum pernambucoense* presents finely verruculose setae, that are slightly larger, smaller conidiogenous cells, that are cylindrical to ampulliform, and short conidia. Differently from *C. condaoense* (Crous et al. 2018), *C. pernambucoense* presents larger and finely verruculose setae, slightly larger, aseptate and unbranched conidiophores, and slightly smaller, cylindrical to ampulliform conidiogenous cells.

In comparison to *C. parsonsiae* (Damm et al. 2012), *C. capsicicola* presents much smaller, smooth to finely verruculose setae, slightly larger conidiophores, slightly smaller conidiogenous cells, non-guttulate and slightly smaller conidia, and appressoria rarely lobate and with irregular shape. In relation to *C. hippeastri* (Yang et al. 2009; Damm et al. 2012), *C. capsicicola* presents slightly smaller finely verruculose setae, larger conidiophores, smaller

conidiogenous cells, that are cylindrical to ampulliform, and short conidia. When compared to *C. condaoense* (Crous et al. 2018), *C. capsicicola* has larger and finely verruculose setae, larger conidiophores, slightly smaller conidiogenous cells, that are cylindrical to ampulliform and slightly larger appressoria.

The species *C. pernambucoense* and *C. capsicicola* were isolated from bell pepper leaves, a Solanaceae crop extensively cultivated in Brazil, predominantly by small to medium-scale producers (Lopes et al. 2018). Numerous *Colletotrichum* species are recognised from *Capsicum annum*, primarily isolated as chili pathogens. These include *C. novae-zelandiae* Damm, P.F. Cannon, Crous, P.R. Johnst. & B.S. Weir (Damm et al. 2012a), *C. scovillei* Damm, P.F. Cannon & Crous, *C. brisbanense* Damm, P.F. Cannon & Crous (Damm et al. 2012b), *C. cairnsense* D.D. de Silva, R.G. Shivas & P.W.J. Taylor (Silva et al. 2017), *C. conoides* Y.Z. Diao, C. Zhang, L. Cai & Xi L. Liu, *C. grossi* Y.Z. Diao, C. Zhang, L. Cai & Xi L. Liu, *C. liaoningense* Y.Z. Diao, C. Zhang, L. Cai & Xi L. Liu (Diao et al. 2017), *C. javanense* D.D. de Silva, Crous & P.W.J. Taylor, *C. makassarensense* D.D. de Silva, Crous & P.W.J. Taylor, and *C. tainanense* D.D. de Silva, Crous & P.W.J. Taylor (Silva et al. 2019). Other species are identified from the Solanaceae family (Jayawardena et al. 2016, 2021). For instance, *C. constrictum* Damm, P.F. Cannon, Crous, P.R. Johnst. & B.S. Weir was isolated from *Solanum betaceum* Cav. (tamarillo) ripe fruit rot, and *C. torulosum* Damm, P.F. Cannon, Crous, P.R. Johnst. & B.S. Weir from *S. melongena* L. (eggplant) (Damm et al. 2012a). Additionally, *C. coccodes* (Wallr.) S. Hughes was found in *S. tuberosum* L. (potato), and *C. nigrum* Ellis & Halst. in *S. melongena* (eggplant) and *S. lycopersicum* L. (tomato) (Yarmeeva et al. 2023).

This study demonstrates that the bell pepper serves as a significant host for the *Colletotrichum* species, a genus with a global distribution, primarily recognised as a

phytopathogen. Furthermore, it aids in generating national estimates of fungi associated with economically significant cultivated plants.

Acknowledgements

The authors are grateful to the Hortaliça Center J.C. Alves e CIA LTDA for allowing access to cultivation areas to carry out the collections. Thays G. L. Oliveira thanks to Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE (IBPG-0823-2.03/20). This research received financial support from the Universidade Federal de Pernambuco (Edital PROPG nº 06/2022). Gladstone A. Silva has a fellowship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Proc. 312606/2022-2).

References

- Almeida M.P., Silva J.R.S., Araújo E.S., Almeida A.S., Moreira J.G.V. (2021) Produção orgânica de cultivares de pimentão sob ambiente protegido. *Enciclopédia Biosfera* **18**(35): 192–199.
- Araújo W.L., Lima A.O.S., Azevedo J.L., Marcon J., Sobral J.K., Lacava P.T. (2002) Manual: isolamento de microrganismos endofíticos. ESALQ, Piracicaba, p. 86.
- Balamurugan A., Kumar A. (2023) Postharvest fruit rot of bell pepper (*Capsicum annuum* L.): pathogenicity and host range of *Alternaria alternata*. *Scientia Horticulturae* **319**: 112156.
- Bhunjun C.S., Phukhamsakda C., Jayawardena R.S., Jeewon R., Promputtha I., Hyde K.D. (2021) Investigating species boundaries in *Colletotrichum*. *Fungal Diversity* **107**: 107–127.
- Cannon P.F., Damm U., Johnston P.R., Weir B.S. (2012) *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology* **73**: 181–213.
- Carbone I., Kohn L.M. (1999) A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous Ascomycetes. *Mycologia* **91**: 553–556.
- Corda A.C.J. (1831) Deutschlands Flora, Abt. III. Die Pilze Deutschlands **3**(12): 33–64.

- Crous P.W., Wingfield M.J., Burgess T.I., Hardy G.E.S.J., Gené J., Guarro J., Baseia I.G., García D., Gusmão L.F.P., Souza-Motta C.M., Thangavel R., Adamčík S., Barili A., Barnes C.W., Bezerra J.D.P., Bordallo J.J., Cano-Lira J.F., de Oliveira R.J.V., Ercole E., Hubka V., Iturrieta-González I., Kubátová A., Martín M.P., Moreau P.A., Morte A., Ordoñez M.E., Rodríguez A., Stchigel A.M., Vizzini A., Abdollahzadeh J., Abreu V.P., Adamčíková K., Albuquerque G.M.R., Alexandrova A.V., Álvarez Duarte E., Armstrong-Cho C., Banniza S., Barbosa R.N., Bellanger J.M., Bezerra J.L., Cabral T.S., Caboň M., Caicedo E., Cantillo T., Carnegie A.J., Carmo L.T., Castañeda-Ruiz R.F., Clement C.R., Čmoková A., Conceição L.B., Cruz R.H.S.F., Damm U., da Silva B.D.B., da Silva G.A., da Silva R.M.F., de A Santiago A.L.C.M., de Oliveira L.F., de Souza C.A.F., Déniel F., Dima B., Dong G., Edwards J., Félix C.R., Fournier J., Gibertoni T.B., Hosaka K., Iturriaga T., Jadan M., Jany J.L., Jurjević Ž., Kolařík M., Kušan I., Landell M.F., Leite Cordeiro T.R., Lima D.X., Loizides M., Luo S., Machado A.R., Madrid H., Magalhães O.M.C., Marinho P., Matošec N., Mešić A., Miller A.N., Morozova O.V., Neves R.P., Nonaka K., Nováková A., Oberlies N.H., Oliveira-Filho J.R.C., Oliveira T.G.L., Papp V., Pereira O.L., Perrone G., Peterson S.W., Pham T.H.G., Raja H.A., Raudabaugh D.B., Řehulka J., Rodríguez-Andrade E., Saba M., Schauflerová A., Shivas R.G., Simonini G., Siqueira J.P.Z., Sousa J.O., Stajsic V., Svetasheva T., Tan Y.P., Tkalčec Z., Ullah S., Valente P., Valenzuela-Lopez N., Abrinbana M., Viana Marques D.A., Wong P.T.W., Xavier de Lima V., Groenewald J.Z. (2018) Fungal Planet description sheets: 716-784. *Persoonia* **40**: 240–393.
- Damm U., Cannon P.F., Woudenberg J.H., Johnston P.R., Weir B.S. et al. (2012a) The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology* **73**(1): 1–36.
- Damm U., Cannon P.F., Woudenberg J.H.C., Crous P.W. (2012b) The *Colletotrichum acutatum* species complex. *Studies in Mycology* **73**: 37–113.
- Diao Y.Z., Zhang C., Liu F., Wang W.Z., Liu L. et al. 2017 – *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of chili in China. *Persoonia* **38**: 20–37.
- EMBRAPA Hortaliças (2019) Produção integrada de pimentão. Hortaliças em revistas, Brasília, p. 11.
- Guarnaccia V., Martino I., Gilardi G., Garibaldi A., Gullino M.L. (2021) *Colletotrichum* spp. causing anthracnose on ornamental plants in northern Italy. *Journal of Plant Pathology* **103**: 127–137.
- Guerber J.C., Liu B., Correll J.C., Johnston P.R. (2003) Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, mtDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. *Mycologia* **95**(5): 872–895.

- Halász K., Borbély C., Pós V., Gáspár L., Haddadrafshi N. et al. (2016) Effect of crop management and cultivar on colonization of *Capsicum annuum* L. by endophytic fungi. *Acta Universitatis Sapientiae, Agriculture and Environment* **8**(1): 5–15.
- Hou L.W., Liu F., Duan W.J., Cai L. (2016) *Colletotrichum aracearum* and *C. camelliae-japonicae*, two holomorphic new species from China and Japan. *Mycosphere* **7**(8): 1111–1123.
- Hung N., Hsiao C.-H., Yang C.-S., Lin H.-C., Yeh L.-K. et al. (2020) *Colletotrichum keratitis*: a rare yet important fungal infection of human eyes. *Mycoses* **63**: 407–415.
- Jayawardena R.S., Bhunjun C.S., Hyde K.D., Gentekaki E., Itthayakorn P. (2021) *Colletotrichum*: lifestyles, biology, morpho-species, species complexes and accepted species. *Mycosphere* **12**(1): 519–669.
- Jayawardena R.S., Hyde K.D., Damm U., Cai L., Liu M. et al. (2016) Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. *Mycosphere* **7**(8): 1192–1260.
- Katoh K., Standley D.M. (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* **30**: 772–780.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* **33**(7): 1870–1874.
- Liu F., Ma Z.Y., Hou L.W., Diao Y.Z., Wu W.P. et al. (2022) Updating species diversity of *Colletotrichum*, with a phylogenomic overview. *Studies in Mycology* **101**: 1–56.
- Lopes S.M., Alcantra E., Rezende R.M., Freitas A.S. (2018) Avaliação de frutos de pimentão submetidos ao ensacamento no cultivo orgânico. *Revista Vale* **16**(1): 1–11.
- Ma X., Nontachaiyapoom S., Jayawardena R.S., Hyde K.D., Gentekaki E. et al. (2018) Endophytic *Colletotrichum* species from *Dendrobium* spp. in China and Northern Thailand. *MycKeys* **4**(43): 23–57.
- Machado S.C.S., Silva V.J., Camara M.P.S., Campos F.S., Damascena J.F. et al. (2022) Occurrence of *Colletotrichum musicola* causing anthracnose on *Manihot esculenta*. *Plant Disease* **106**: 2758.
- Miller M.A., Pfeiffer W., Schwartz T. (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. New Orleans, Gateway Computing Environments Workshop (GCE).
- Nylander J.A.A. (2004) MrModeltest Version 2.2. Computer program and documentation distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Oliveira A.D., Carvalho D.F., Pereira J.B.A., Pereira V.C. (2015) Crescimento e produtividade do pimentão em dois sistemas de cultivo. *Revista Caatinga* **28**(1): 78–89.

- Oliveira R.J.V., Bezerra J.L., Lima T.E.F., Silva G.A., Cavalcanti M.A.Q. (2016) *Phaeosphaeria nodulispora*, a new endophytic coelomycete isolated from tropical palm (*Cocos nucifera*) in Brazil. *Nova Hedwigia* **103**(1): 185–192.
- Pádua A.P.S.L., Freire K.T.L.S., Oliveira T.G.L., Silva L.F., Araújo-Magalhães G.R. et al. (2019) Fungal endophyte diversity in the leaves of the medicinal plant *Myracrodruon urundeuva* in a Brazilian dry tropical forest and their capacity to produce L-asparaginase. *Acta Botanica Brasilica* **33**(1): 39–49.
- Paniz-Mondolfi A.E., Agemy S., Cañete-Gibas C., Gitman M.R., Iacob C.E. et al. (2021) First report of human infection caused by *Colletotrichum chlorophyti* occurring in a post-corneal transplant patient with endophthalmitis. *Medical Mycology Case Reports* **32**: 73–76.
- Rayner R.W. (1970) A mycological colour chart. Kew, Surrey, CMI and British Mycological Society.
- Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., Ayres D.L., Darling A. et al. (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**(3): 539–542.
- Santos F.S.S., Viana T.V.A., Costa S.C., Sousa G.G., Azevedo B.M. (2019) Crescimento e produção do pimentão semi-hidropônico sobrejeito de dessalinizadores e fertilização orgânica e mineral. *Revista Caatinga* **32**(4): 1004–1014.
- Santos P.R., Melo R.A., Carvalho Filho J.L.S., Ferreira I.V.S., Silva F.S. et al. (2017) Desempenho de linhagens e híbridos de pimentão em dois sistemas de poda no cultivo hidropônico. *Horticultura Brasileira* **35**(1): 129–134.
- Shahriar S.A., Husna A., Paul T.T., Eaty M.N.K., Quamruzzaman M. et al. (2023) *Colletotrichum truncatum* causing anthracnose of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in Malaysia. *Microorganisms* **11**(1): 226.
- Shi G.Y., Zeng Q., Wei Y.W., Ye X.L., Hu C.J., Jiao C. (2022) First Report of anthracnose caused by *Colletotrichum brasiliense* on violet passion fruit in China. *Plant Disease Notes* **106**(2).
- Silva D.D., Ades P.K., Crous P.W., Taylor P.W.J. (2017) *Colletotrichum* species associated with chili anthracnose in Australia. *Plant Pathology* **66**: 254–267.
- Silva D.D., Groenewald J.Z., Crous P.W., Ades P.K. et al. (2019) Identification, prevalence and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Capsicum annum* in Asia. *IMA Fungus* **10**: 8.
- Silva R.M.F., Neto W.P., Oliveira R.J.V., Bezerra J.D.P., Bezerra J.L. et al. (2023) Effect of climate and phenological stage on fungal endophytes community in *Sorghum bicolor* leaves. *Mycological Progress* **22**:19.

- Stamatakis A. (2014) RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30(9): 1312–1313.
- Talhinhas P., Baroncelli R. (2021) *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. *Fungal Diversity* 110: 109–198.
- Tiamiyu Q.O., Adebayo S.E., Ibrahim N. (2023) Recent advances on postharvest technologies of bell pepper: A review. *Heliyon* 9: e15302.
- Töfoli J.G., Domingues R.J. (2018) Doenças fúngicas. In: *Hortaliças-fruto* (Brandão Filho J.U.T., Freitas P.S.L., Berian L.O.S., Goto R., eds.), 271–313. Maringá: EDUEM.
- Vieira W.A.D.S., Bezerra P.A., Silva A.C.D., Veloso J.S., Câmara M.P.S., Doyle V.P. (2020) Optimal markers for the identification of *Colletotrichum* species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 143: 106694.
- Villafana R.T., Ramdass A.C., Rampersad S.N. (2019) *Colletotrichum brevisporum* is associated with anthracnose of red bell pepper fruit in Trinidad. *New Disease Reports* 39: 11.
- Wang Q., Liu X., Ma H., Shen X., Hou C. (2019) *Colletotrichum yulongense* sp. nov. and *C. rhombiforme* isolated as endophytes from *Vaccinium dunalianum* var. *urophyllum* in China. *Phytotaxa* 394(4): 285–298.
- Weir B.S., Johnston P.R., Damm U. (2012) The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 73(1): 115–80.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols. A guide to methods and applications* (Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J., eds.), 315–322. Academic Press.
- Yang Y.L., Liu Z.Y., Cai L., Hyde K.D., Yu Z.N., McKenzie E.H.C. (2009) *Colletotrichum* anthracnose of Amaryllidaceae. *Fungal Diversity* 39: 123–146.
- Yarmeeva M., Kutuzova I., Kurchaev M., Chudinova E., Kokaeva L. et al. (2023) *Colletotrichum* Species on cultivated Solanaceae crops in Russia. *Agriculture* 13(3): 511.
- Youlian Y., Cai L., Yu Z., Liu Z., Hyde K.D. (2011) *Colletotrichum* Species on *Orchidaceae* in Southwest China. *Cryptogamie Mycologie* 32(3): 229–253.
- Zhang M., Li D., Si Y., Ju Y., Zhu L. (2023) *Colletotrichum* Species Associated with Anthracnose in *Salix babylonica* in China. *Plants* 12(8): 1679.
- Zheng H., Yu Z., Jiang X., Fang L., Qiao M. (2022) Endophytic *Colletotrichum* species from aquatic plants in Southwest China. *Journal of Fungi* 8(1): 87.

Tab. 1. Species of the *C. boninense* species complex used in the phylogenetic analysis, including the different markers with respective NCBI GenBank accessions numbers, and the culture code. GenBank accessions numbers in bold were generated in this work. Ex-type strains are indicated with a superscript ^T.

| Species | Strain/isolate | GenBank accession numbers | | | |
|-------------------------------|------------------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | ITS | <i>GAPDH</i> | <i>CHS-1</i> | <i>ACT</i> |
| <i>Colletotrichum</i> | | | | | |
| <i>annellatum</i> | CBS 129826 ^T | JQ005222 | JQ005309 | JQ005396 | JQ005570 |
| | CBS 128527, ICMP | | | | |
| <i>C. beeveri</i> | 18594 ^T | JQ005171 | JQ005258 | JQ005345 | JQ005519 |
| <i>C. boninense</i> | CBS 123755, | JQ005153 | JQ005240 | JQ005327 | JQ005501 |
| | MAFF 305972 ^T | | | | |
| <i>C. boninense</i> | CBS 123756 | JQ005154 | JQ005241 | JQ005328 | JQ005502 |
| <i>C. brasiliense</i> | CBS 128501, ICMP | JQ005235 | JQ005322 | JQ005409 | JQ005583 |
| | 18607 ^T | | | | |
| <i>C. brasiliense</i> | CBS 128528, ICMP | JQ005234 | JQ005321 | JQ005408 | JQ005582 |
| | 18606 | | | | |
| <i>C. brassicicola</i> | CBS 101059, LYN | JQ005172 | JQ005259 | JQ005346 | JQ005520 |
| | 16331 ^T | | | | |
| <i>C. bromeliacearum</i> | LC0951 ^T | MZ595832 | MZ664077 | MZ799267 | MZ664130 |
| <i>C. bromeliacearum</i> | LC13854, LC0951-1 | MZ595833 | MZ664078 | MZ799268 | MZ664131 |
| <i>C. camelliae-japonicae</i> | CGMCC 3.18118, | | | | |
| | LC6416 ^T | KX853165 | KX893584 | MZ799271 | KX893576 |
| <i>C. camelliae-japonicae</i> | CGMCC 3.18117, | | | | |
| | LC6415 | KX853164 | KX893583 | | KX893575 |
| <i>C. capsicicola</i> | URM 8822^T; PC129 | OR505852 | OR599647 | OR599655 | OR599651 |
| <i>C. capsicicola</i> | PC159 | OR505853 | OR599648 | OR599656 | OR599652 |
| <i>C. catinaense</i> | CBS 142417 ^T | KY856400 | KY856224 | KY856136 | KY855971 |
| <i>C. chamaedoreae</i> | LC13868, NN052885 ^T | MZ595890 | MZ664084 | MZ799274 | MZ664188 |
| <i>C. chamaedoreae</i> | LC13869, NN052890 | MZ595891 | MZ664086 | MZ799275 | MZ664189 |
| <i>C. citricola</i> | CBS 134228; | KC293576 | KC293736 | KC293792 | KC293616 |
| | CGMCC 3.15227 ^T | | | | |
| <i>C. citricola</i> | MFLU 14-0129 | MG792821 | MK165697 | | MH376395 |
| <i>C. colombiense</i> | CBS 129818 ^T | JQ005174 | JQ005261 | JQ005348 | JQ005522 |
| <i>C. colombiense</i> | CBS 129817 | JQ005173 | JQ005260 | JQ005347 | JQ005521 |
| <i>C. condaoense</i> | CBS 134299 ^T | MH229914 | MH229920 | MH229926 | |
| <i>C. constrictum</i> | CBS 128504, ICMP | JQ005238 | JQ005325 | JQ005412 | JQ005586 |
| | 12941 ^T | | | | |
| <i>C. constrictum</i> | CBS 128503, ICMP | JQ005237 | JQ005324 | JQ005411 | JQ005585 |
| | 12936 | | | | |

| | | | | | |
|---------------------------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <i>C. cymbidiicola</i> | IMI 347923 ^T | JQ005166 | JQ005253 | JQ005340 | JQ005514 |
| <i>C. cymbidiicola</i> | CBS 128543, ICMP 18584 | JQ005167 | JQ005254 | JQ005341 | JQ005515 |
| <i>C. dacrycarpi</i> | CBS 130241, ICMP 19107 ^T | JQ005236 | JQ005323 | JQ005410 | JQ005584 |
| <i>C. diversum</i> | LC11292, CQ775 ^T | MZ595844 | MZ664081 | MZ799272 | MZ664142 |
| <i>C. doitungense</i> | MFLUCC 14-0128 ^T | MF448524 | MH049480 | | MH376385 |
| <i>C. feijoicola</i> | CBS 144633 ^T | MK876413 | MK876475 | | MK876466 |
| <i>C. feijoicola</i> | CPC 34245 | MK876414 | MK876474 | MK876471 | MK876465 |
| <i>C. hippeastri</i> | CBS 125376 ^T | JQ005231 | JQ005318 | JQ005405 | JQ005579 |
| <i>C. hippeastri</i> | CBS 125377 | JQ005230 | JQ005317 | JQ005404 | JQ005578 |
| <i>C. karstii</i> | CORCG6 ^T | HM585409 | HM585391 | HM582023 | HM581995 |
| <i>C. karstii</i> | CBS 128500 | JQ005202 | JQ005289 | JQ005376 | JQ005550 |
| <i>C. limonicola</i> | CBS 142410, CPC 31141 ^T | KY856472 | KY856296 | KY856213 | KY856045 |
| <i>C. limonicola</i> | CBS 142409, CPC 27861 | KY856471 | KY856295 | KY856212 | KY856044 |
| <i>C. novae-zelandiae</i> | CBS 128505, ICMP 12944 ^T | JQ005228 | JQ005315 | JQ005402 | JQ005576 |
| <i>C. novae-zelandiae</i> | CBS 130240, ICMP 12064 | JQ005229 | JQ005316 | JQ005403 | JQ005577 |
| <i>C. oncidii</i> | CBS 129828 ^T | JQ005169 | JQ005256 | JQ005343 | JQ005517 |
| <i>C. oncidii</i> | CBS 130242 | JQ005170 | JQ005257 | JQ005344 | JQ005518 |
| <i>C. parsonsiae</i> | CBS 128525, ICMP 18590 ^T | JQ005233 | JQ005320 | JQ005407 | JQ005581 |
| <i>C. pernambucoense</i> | URM 8821^T; PC85 | OR505854 | OR599649 | OR599657 | OR599653 |
| <i>C. pernambucoense</i> | PC86 | OR505855 | OR599650 | OR599658 | OR599654 |
| <i>C. petchii</i> | CBS 378.94 ^T | JQ005223 | JQ005310 | JQ005397 | JQ005571 |
| <i>C. petchii</i> | CBS 379.94 | JQ005224 | JQ005311 | JQ005398 | JQ005572 |
| <i>C. phyllanthi</i> | CBS 175.67, MACS 271 ^T | JQ005221 | JQ005308 | JQ005395 | JQ005569 |
| <i>C. spicati</i> | YMF 1.04942, CGMCC3.18942 ^T | OL842171 | OL981266 | OL981292 | OL981240 |
| <i>C. spicati</i> | F6 | OL842172 | OL981267 | OL981293 | OL981241 |
| <i>C. torulosum</i> | CBS 128544, ICMP 18586 ^T | JQ005164 | JQ005251 | JQ005338 | JQ005512 |
| <i>C. torulosum</i> | CBS 102667 | JQ005165 | JQ005252 | JQ005339 | JQ005513 |
| <i>C. watphraense</i> | MFLUCC 14-0123 ^T | MF448523 | MH049479 | | MH376384 |
| <i>C. wuxuhaiense</i> | YMF 1.04951, CGMCC3.18951 ^T | OL842173 | OL981268 | OL981294 | OL981242 |
| <i>C. wuxuhaiense</i> | F34 | OL842175 | OL981270 | OL981296 | OL981244 |
| <i>C. truncatum</i> | CBS 151.35 ^T | GU227862 | GU228254 | GU228352 | GU227960 |

Fig. 1

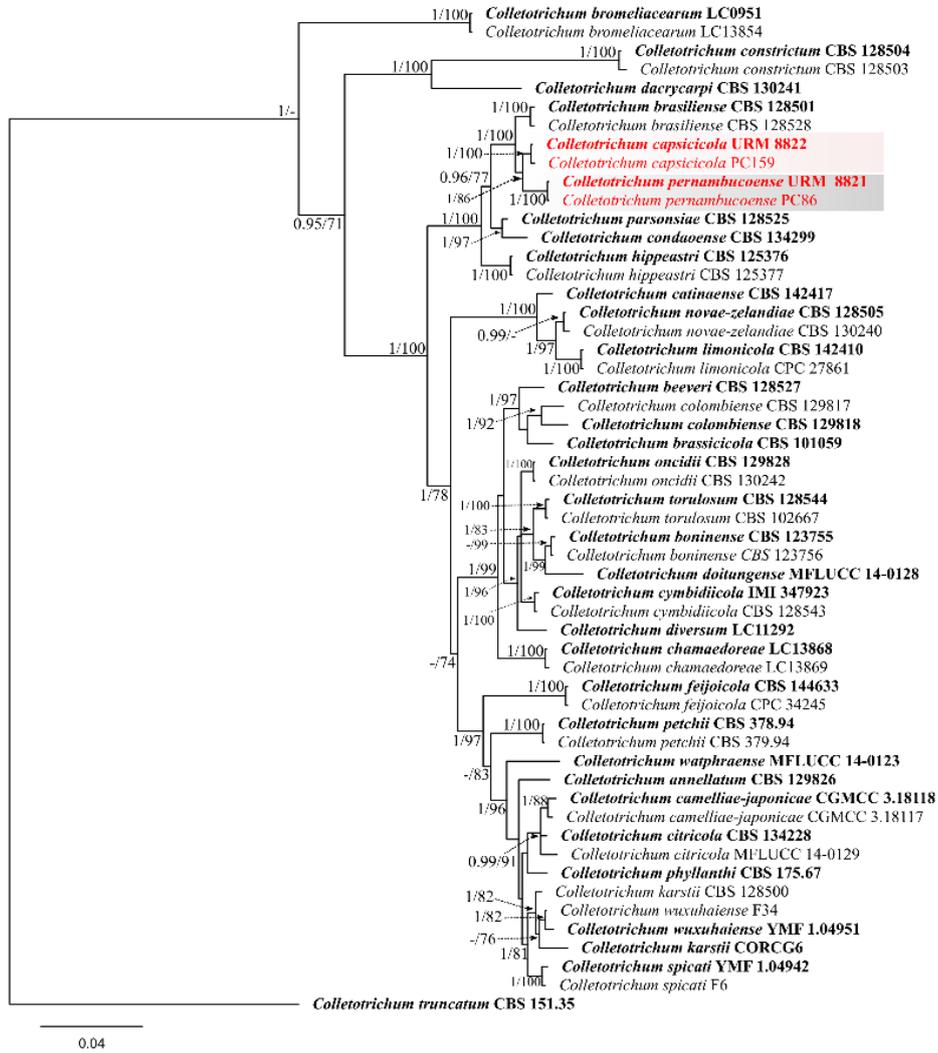


Fig. 2

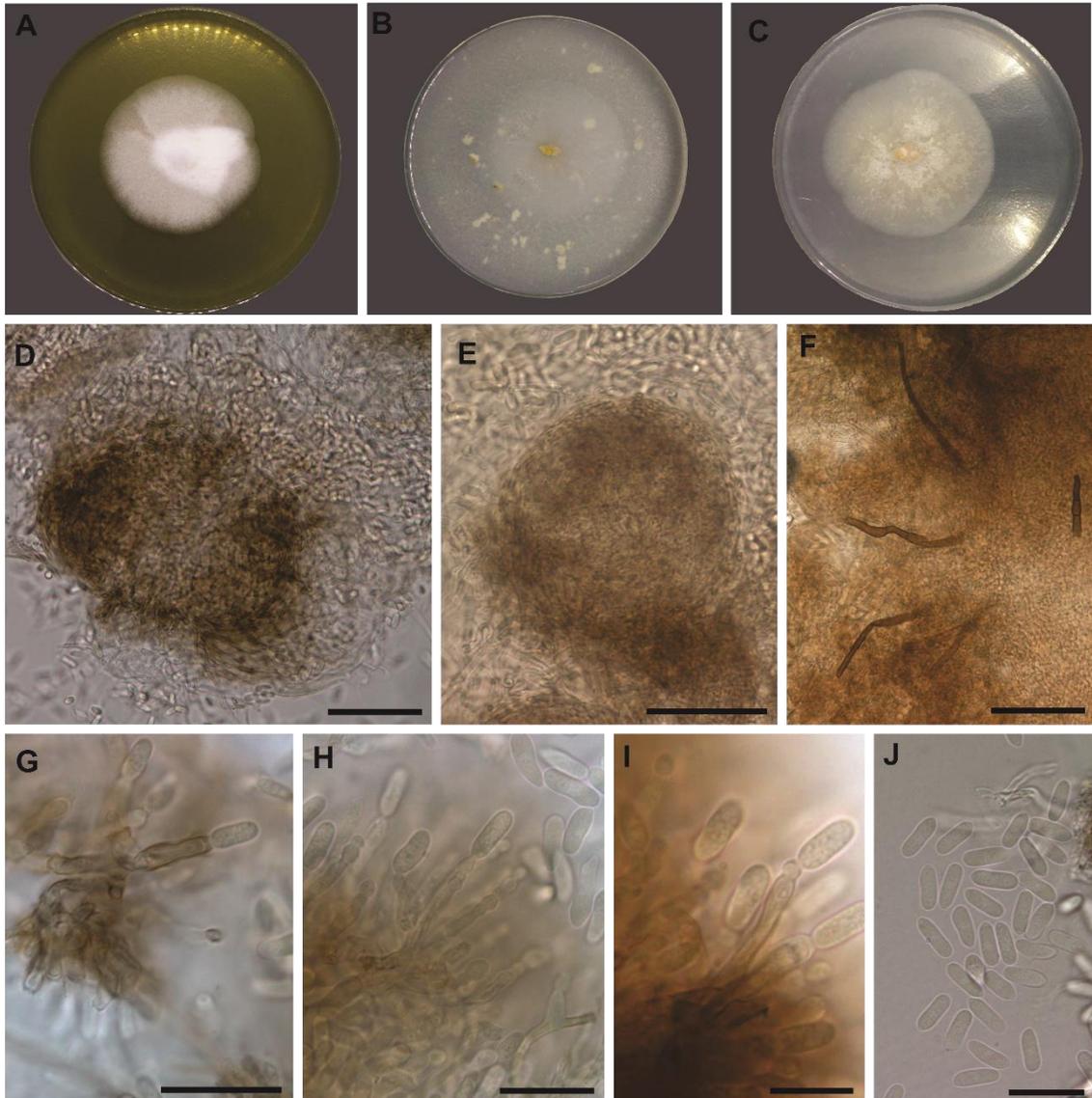
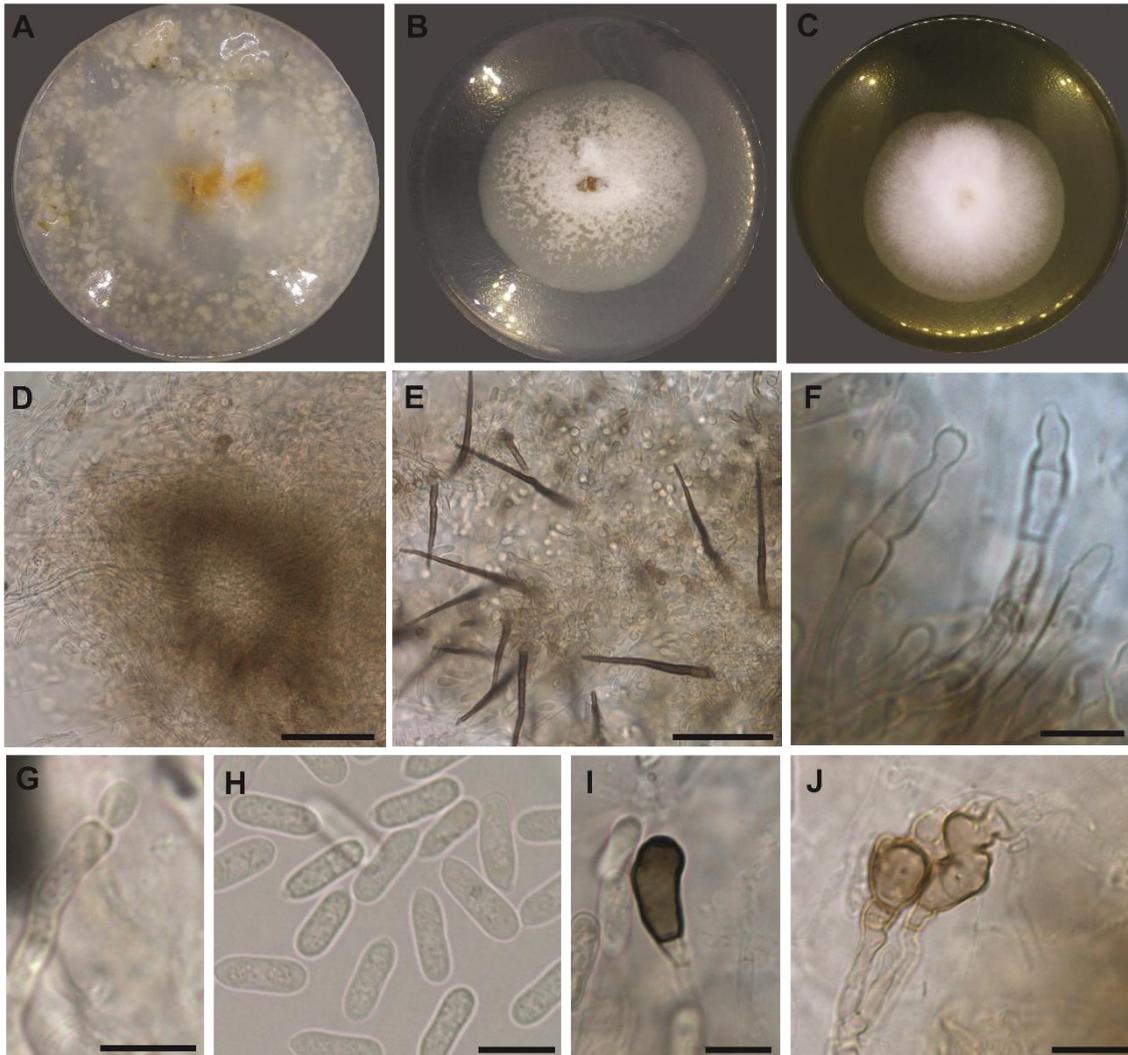
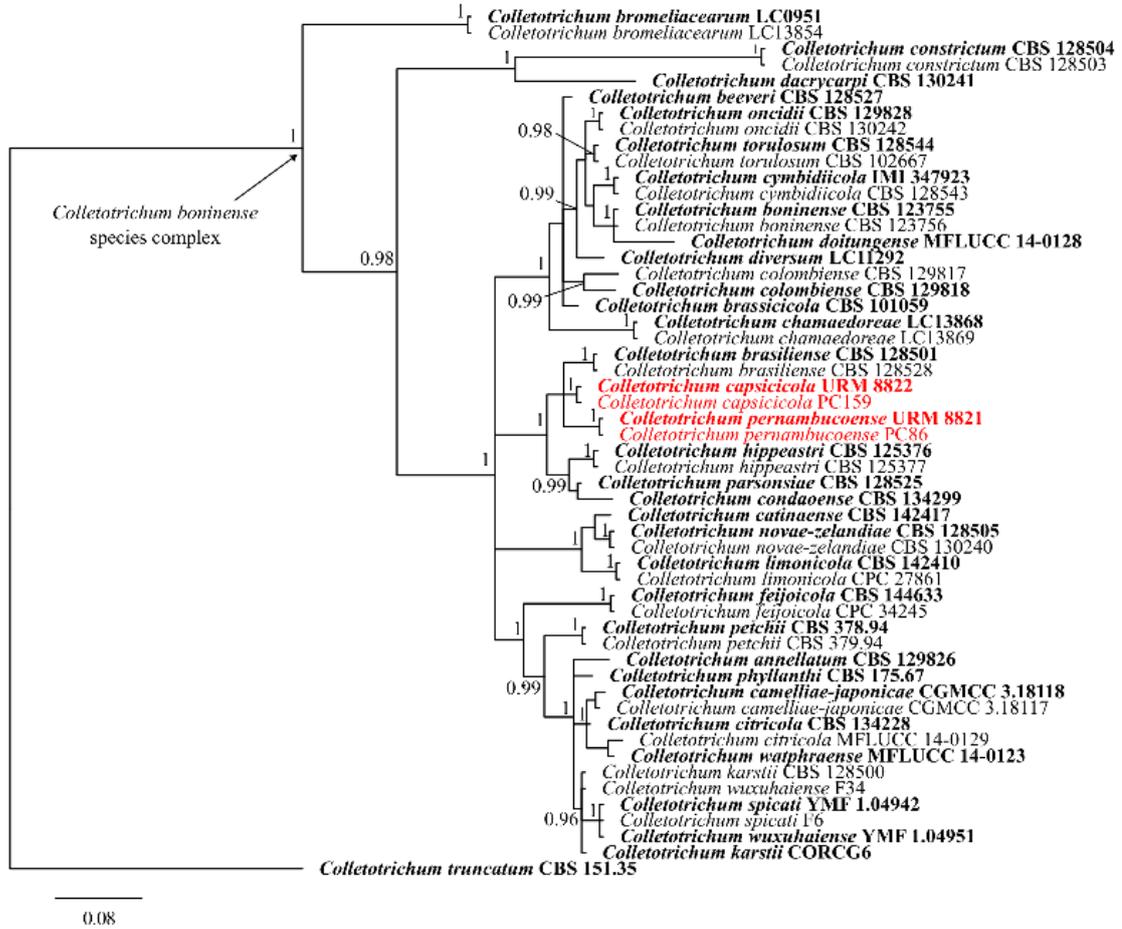


Fig. 3



Supplementary data 1



Legends to figures

Fig. 1. Phylogenetic tree generated from bayesian inference analysis based on combined *GAPDH*, ITS, *CHS-1* and *ACT* sequences of the *Colletotrichum boninense* species complex. Isolates obtained in this study are in red. Sequences from type species and the reference isolates are indicated in bold. Bayesian posterior probabilities (≥ 0.95) and maximum likelihood bootstrap ($\geq 70\%$) values are shown near nodes. The tree is rooted with *Colletotrichum truncatum* (CBS 151.35).

Fig. 2. *Colletotrichum pernambucoense* URM 8821. **A.** Colony on MEA after 7 days; **B.** Colony on OA after 7 days; **C.** Colony on PDA after 7 days; **D–E.** Conidiomata; **F.** Setae; **G–I.** Conidiophore and conidia; **J.** Conidia. Scale bars: **D–F** = 50 μm ; **G–J** = 10 μm .

Fig. 3. *Colletotrichum capsicicola* URM 8822. **A.** Colony on OA after 7 days; **B.** Colony on PDA after 7 days; **C.** Colony on MEA after 7 days; **D.** Conidiomata; **E.** Setae; **F–G.** Conidiophores; **H.** Conidia; **I–J.** Appressoria. Scale bars **D–E** = 50 μm ; **F–J** = 10 μm .

Supplementary data 1. Phylogenetic tree generated from bayesian inference analysis based on *GAPDH* sequences of the *Colletotrichum boninense* species complex. Isolates obtained in this study are in red. Sequences from type species and the reference isolates are indicated in bold. Bayesian posterior probabilities (≥ 0.95) values are shown near nodes. The tree is rooted with *Colletotrichum truncatum* (CBS 151.35).

APÊNDICE D: MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA “CHECK LIST”.

NGD

Oliveira et al. *Allophoma brasiliensis* in Brazilian Atlantic Forest biome

Allophoma brasiliensis J.L.V.R. Carvalho, J.D.P. Bezerra & Souza-Motta (*Didymellaceae*, Pleosporales): FIRST OCCURENCE IN AN AGRICULTURAL SITE FROM BRAZILIAN ATLANTIC FOREST

Thays G. L. Oliveira¹, Rejane M. F. Silva^{1*}, Alexandre R. Machado¹, Oliane M. C. Magalhães¹, Antonio F. Costa², Gladstone A. Silva¹

¹ Departamento de Micologia Prof. Chaves Batista, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, Recife, PE, Brazil; TGLO: thays.gabilins@hotmail.com <https://orcid.org/0000-0001-5415-3916>; RMFS: re.biologicas@gmail.com <https://orcid.org/0000-0002-5024-0286>; ARM: alexandre.machado@ufpe.br <https://orcid.org/0000-0001-7440-3097>; OMCM: olimicomed@gmail.com <https://orcid.org/0000-0001-7275-5304>; GAS: gladstonesilva@yahoo.com <https://orcid.org/0000-0002-5652-7800>

² Instituto Agrônômico de Pernambuco, Bongi, Recife, PE, Brazil; AFC: afelixc.ipa@gmail.com <https://orcid.org/0000-0001-9866-3504>

*Corresponding author

Abstract

Allophoma brasiliensis J.L.V.R. Carvalho, J.D.P. Bezerra & Souza-Motta is reported for the first time as endophyte from leaves of *Capsicum annuum* L. isolated in an agricultural site from Brazilian Atlantic Forest. For specie determination, morphological characters were analysed along with a multi-gene analysis performed using the ITS region of the rDNA, the partial large subunit nuclear ribosomal RNA gene (LSU rRNA), the partial second largest subunit of the RNA polymerase II gene subunit (*rpb2*), and the partial β -tubulin gene (*tub2*). A key to *Allophoma* Qian Chen & L. Cai species is provided.

Keywords

Bell pepper, endophytic fungi, multi-gene analysis, *Phoma*-like, taxonomy

Academic editor: [layout editor will complete]

Citation: [copyeditor will complete]

Introduction

The genus *Allophoma* Qian Chen & L. Cai was originally introduced by Chen et al. (2015) in a taxonomic review of *Phoma*-like genera within *Didymellaceae* to accommodate five species originally described as “*Phoma*”: *A. labilis* (Sacc.) Q. Chen & L. Cai (syn. *Phoma labilis*), *A. minor* (Aveskamp, Gruyter & Verkley) Q. Chen & L. Cai (syn. *Phoma minor*), *A. piperis* (Tassi) Q. Chen & L. Cai (syn. *Phoma piperis*), *A. tropica* (R. Schneid. & Boerema) Q. Chen & L. Cai (syn. *Phoma tropica*), and *A. zantedeschiae* (Dippen.) Q. Chen & L. Cai (syn. *Phoma zantedeschiae*) and the new species, *A. nicaraguensis* Q. Chen & L. Cai.

Allophoma is a monophyletic lineage in *Didymellaceae* (Chen et al. 2015) and currently comprising fifteen species (Hou et al. 2020a; Wijayawardene et al. 2020), being *Allophoma tropica* described as type species of the genus. The asexual morphological features of *Allophoma* are represented by one conidiomata pycnidial globose to flask-shaped with ostioles, pycnidial wall pseudoparenchymatous with 2–5-layered, conidiogenous cells phialidic ampulliform to doliiform and conidia variable in shape and size, mostly guttulate (Chen et al. 2015).

Allophoma species have been also isolated from coral (*Acropora formosa*) (Hou et al. 2020b), stems (Hou et al. 2020b), twigs (Chen et al. 2015) and leaves (Marin-Felix et al. 2019) of wide host range as saprobes (de Gruyter et al. 1993; Jayasiri et al. 2019) and/or as causal agents of leaf spot (de Gruyter et al. 1993; Yuan et al. 2021), dieback and canker diseases (Babaahmadi et al. 2018). The representatives of this genus were also found in other substrates as air (Chen et al. 2017), and causing human eye lesion (Valenzuela-Lopez et al. 2018).

The Atlantic Forest is one of the richest Neotropical hotspots in terms of diversity, encompassing 17 Brazilian states. However, only 12.4% of forest remnants and natural areas of the original vegetation remain (SOS Mata Atlântica 2017). Degraded areas, including by crop plantations, are remarkable within the heterogeneous ecosystems characteristic of the biome (Barbosa et al. 2022; Wilson et al. 2021), and several fungal species from cultivated areas were described in the last years (Oliveira et al. 2016; Silva et al. 2019).

Analyzing the diversity of endophytic fungi in leaves of *Capsicum annuum* (*Solanaceae*), cultivated under the conventional management system, we identified the isolates PC74 and PC75 as *Phoma*-like based on its morphological characters. After combined multi-gene sequence analysis of the ITS, LSU rRNA, *tub2* and *rpb2*, we identify

Allophoma brasiliensis J.L.V.R. Carvalho, J.D.P. Bezerra & Souza-Motta (*Didymellaceae*, Pleosporales) and we highlight the occurrence for the first time as endophyte in leaves of *Capsicum annuum* isolated in an agricultural site from Brazilian Atlantic Forest. In addition, we proposed a key to identification the species of the genus.

Methods

Collecting and isolation. Healthy leaf samples of *Capsicum annuum* L. were collected in 2021 in an agricultural area of conventional cultivation located in the municipality of Chã Grande (08°15'18"S, 35°29'47"W), Pernambuco, Brazil (Fig. 1). The agricultural area is inserted within the Brazilian Atlantic Forest biome and located at an altitude of 488 m. Endophytic fungi were isolated according to the methodology described by Araújo et al. (2002). The leaves were previously washing in running water. After, leaf discs were cut with a sterile metal cork punch (6 mm diameter) and disinfested with 70 % ethanol for 30 seconds, in sodium hypochlorite (3 % of active chlorine) for 2 minutes and finally washed three times in distilled and sterilized water. After isolation and purification, the colonies were kept in water with glycerol 10 % for further analysis.

Representative isolates were deposited in the culture collection of the Micoteca URM Profa. Maria Auxiliadora Cavalcanti WCDM 604 at the Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Brazil.

Morphological analysis. Isolates of *Allophoma* were cultured on potato dextrose agar (PDA) and malt extract agar (MEA), and incubated up to 15 days at room temperature in a natural (\pm 28 °C) day-night cycle. The isolates sporulated after 15 days, and general culture characteristics were observed (colonies were measured and macroscopic features examined), as well as reproductive structures. Micromorphological characters such as pycnidia (30), conidiogenous cells (three) and conidia (30) were randomly selected and measured. The average of the measurements was used to estimate the size of the structures. The colony colours were analysed according to Rayner's colour charts (Rayner 1970).

DNA extraction, PCR amplification, and sequencing. Fungal biomass was obtained from colonies grown on PDA plates at room temperature for up to 15 days. Genomic DNA extraction was performed, with the material previously ground, as described by Oliveira et al.

(2016). The primers ITS1/ITS4 (White et al. 1990), LR0R/LR5 (Vilgalys and Hester 1990; Vilgalys and Sun 1994), fRPB2-5F2/fRPB2-7cR (Liu et al. 1999; Sung et al. 2007) and Bt2a/Bt2b (Glass and Donaldson 1995), were used to amplify the ITS region of the rRNA (ITS), the partial large subunit nuclear ribosomal RNA gene (LSU rRNA), the partial second largest subunit of the RNA polymerase II gene (*rpb2*) subunit, and the partial β -tubulin gene (*tub2*), respectively. The PCR conditions for ITS and LSU rRNA were: an initial denaturation at 95 °C for 3 min, followed by 39 cycles of denaturation at 94 °C for 45 s, annealing at 58 °C for 1 min and extension at 72 °C for 1 min, with a final extension step at 72 °C for 7 min. The PCR conditions for *rpb2* was: an initial denaturation at 95 °C for 5 min, followed by 40 cycles of denaturation at 95 °C for 1 min, annealing at 57 °C for 2 min and extension at 72 °C for 90 s, with a final extension step at 72 °C for 10 min. The PCR conditions for *tub2* was: an initial denaturation at 94 °C for 5 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 45 s, annealing at 55 °C for 45 s and extension at 72 °C for 1 min, with a final extension step at 72 °C for 7 min. The amplification reactions were carried out in a final volume of 25 μ l. All products obtained from the amplification were purified using the enzyme Exonuclease I (Thermo Fisher Scientific) and Shrimp Alkaline Phosphatase (Cellco), and sequenced on the Multiuser Platform for Sequencing and Gene Expression of the UFPE, Centro de Biociências.

Sequence alignment and phylogenetic analysis. For the final molecular characterization of the species of *Allophoma*, were used four different markers: ITS, LSU rRNA, *rpb2* and *tub2*. The dataset was constructed with the sequences of our isolates together with sequences of type material and representative isolates, totaling 28 sequences of the 15 accepted species of *Allophoma*. *Stagonosporopsis loticola* (CBS 562.81) was used as the outgroup. The GenBank accession numbers of all sequences used in this study and the newly obtained sequences are shown in Table S1 (Supplemental data). Sequences were aligned using the online tool MAFFT v.7 (Katoh and Standley 2013) and manually edited with the MEGA v.7 software (Kumar et al. 2016).

The concatenated four-locus datasets were analyzed by maximum likelihood (ML) and bayesian inference (BI) using the RAxML HPC BlackBox v. 8.2.12 (Stamatakis 2014) and MrBayes v 3.2.7a on XSEDE (Ronquist et al. 2012), respectively, at the online server of the Cipres Science gateway portal (Miller et al. 2010). ML analyzes were performed with 1000 bootstrap replications using default parameters and the GTR + G + I model test. For BI analyses, the best nucleotide substitution model was estimated by MrModelTest v.2.3

(Nylander 2004) for each gene region separately (ITS = HKY + I, LSU = GTR + I, *rpb2* = SYM + G and *tub2* = GTR + G). BI analyzes were performed with two Markov Chain Monte Carlo (MCMC), 1×10^7 generations with a burn value of 25 %, and trees were sampled every 1000 generations. In the nodes, BI posterior probability (BPP) and ML bootstrap (ML–BS) values equal to or greater than 0.95 and 70 %, respectively, are presented. The ultimate phylogenetic tree was visualized in FigTree v. 1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). The concatenated alignment was deposited in the TreeBASE (study ID 29859).

Results

Allophoma brasiliensis J.L.V.R. Carvalho, J.D.P. Bezerra & Souza-Motta, 2022;
Brazilian Journal of Microbiology, emend. Figure 2A–J

Material examined. BRAZIL – Pernambuco • Chã Grande, Rancho Bela Vista; 08°15'18"S, 35°29'47"W; 488 m alt; 29.I.2021; T.G.L. Oliveira leg.; as endophytic fungi in leaves of *Capsicum annuum*; URM 8563 • *ibid.*; URM 8564.

Distribution. The new record was found as endophyte in leaves of *Capsicum annuum* in an agricultural area inserted in Brazilian Atlantic Forest.

Identification (colony characters, 28 °C, 15 days). PDA: colony regular and white margins, greenish olivaceous, black pycnidia forming a concentric ring, aerial mycelium sparse and whitish; opaque to greenish olivaceous reverse, white near margins. MEA: colony opaque to greenish olivaceous, covered by whitish flaky aerial mycelium, irregular margin, light brown to white near the colony margin; opaque to greenish olivaceous reverse.

Colony diameters, 15 days, in cm. PDA 28 °C 5.8; MEA 28 °C 5.8.

Micromorphology (28 °C, 15 days). PDA: *Conidiomata* pycnidial, produced on the agar surface or semi-immersed, mostly isolated, some grouped, globose or subglobose to flask-shaped, pale brown, some dark brown, thin-walled, glabrous, ostiolate, (60–)108–192(–216) × (60–)120–180(–192) μm. *Ostiole* single, slightly papillate. *Conidiogenous cells* phialidic, hyaline, globose to ampulliform, smooth, slightly papillate, 3.5–5.02(–6.31) × 2.2–3.67(–5.21) μm. *Conidia* oblong with both ends rounded, smooth- and thin-walled, hyaline, aseptate, without guttules, 3.1–4.7(–6.6) × 1.3–2.2 μm. *Conidial matrix* cream. *Chlamydozoospores* multicellular, mostly intercalary in chain, smooth, dark brown.

Comments. According to phylogenetic analyses, isolates URM 8563 and URM 8564 were grouped into the same highly supported clade (BPP = 0.95 and ML–BS = 100) together with

A. brasiliensis ex-type strain (URM 8453) and *A. brasiliensis* URM 8454, isolated from bat flies (*Trichobius* sp.) in Catimbau National Park, Brazil (Fig. 3). Morphological similarities between the endophytes URM 8563 and URM 8564 isolated from leaves of *C. annuum* were analyzed and compared with *A. brasiliensis* ex-type strain (URM 8453) which is characterized by presenting conidiomata pycnidial globose to subglobose, with a single ostiole [65–75(120) × (49)61–65(82) μm], conidiogenous cells ampulliform (10.5–15 × 10–11 μm), and conidia oblong with apices rounded [(1.8)3–3.5(4.5) × 1–2 μm] (Carvalho et al. 2022). Therefore, *A. brasiliensis* (URM 8563 and URM 8564) is reported for the first time as an endophytic fungus.

KEY TO THE *Allophoma* SPECIES

- 1a. Conidiomata pycnidial (sub-)globose to elipsoidal or flask-shaped.....2
- 1b. Conidiomata pycnidial ovoid3
- 2a. Conidiomata pycnidial up to 300 μm long.....4
- 2b. Conidiomata pycnidial from 301 to 635 μm long.....5
- 3a. Conidiomata pycnidial 120–210 × 90–140.....*A. cylindrispora*
- 3b. Conidiomata pycnidial 70–90 μm high × 68–85.....*A. siamensis*
- 4a. Ostiole 1 single slightly papillate, papillate or non-papillate.....6
- 4b. Ostioles 1-3 slightly papillate, papillate or sometimes non-papillate.....7
- 5a. Ostioles 1-3 slightly papillate, papillate or non-papillate.....8
- 5b. Ostioles 1-5 slightly papillate, papillate or non-papillate.....9
- 6a. Conidia oblong to ellipsoidal, hyaline, aseptate, with polar guttules.....10
- 6b. Conidia oval, oblong or ellipsoidal, hyaline, aseptate, eguttulate.....11
- 7a. Conidia oblong to cylindrical, hyaline, aseptate, with minutes guttules.....*A. thunbergiae*
- 7b. Conidia oblong to ellipsoidal, hyaline to pale brown, 0–1-septate, majority 1-septate, guttulate.....*A. hayatii*
- 8a. Conidia oblong, hyaline, aseptate, with 1–2 medium polar guttules.....*A. anatae*
- 8b. Conidia oblong, hyaline, aseptate, with 2 large polar guttules.....*A. alba*
- 8c. Conidia oblong to cylindrical, hyaline, aseptate, with 2 distinct pale green polar guttules.....*A. oligotrophica*
- 9a. Conidia ellipsoidal to ovoid or slightly allantoid, hyaline, aseptate, (0–)1–3(–4) minute guttules.....*A. minor*
- 9b. Conidia ellipsoidal to ovoid or oblong, hyaline, aseptate, 1–2 guttules.....12

| | |
|--|---------------------------|
| 10a. Conidial matrix whitish to pale luteous or ochraceous..... | 13 |
| 10b. Conidial matrix not recorded..... | <i>A. piperis</i> |
| 11a. Conidial matrix greyish and presence of chlamydospores in the mycelium..... | <i>A. zantedeschiae</i> |
| 11b. Conidial matrix cream and presence of chlamydospores in the mycelium.... | <i>A. brasiliensis</i> |
| 12a. Conidial matrix white-yellowish..... | <i>A. tropica</i> |
| 12b. Conidial matrix cream..... | <i>A. pterospermicola</i> |
| 13a. Negative NaOH spot-test on oatmeal agar..... | <i>A. nicaraguensis</i> |
| 13b. Positive NaOH spot-test on oatmeal agar..... | <i>A. labilis</i> |

Discussion

Studying the diversity of endophytic fungi present in bell pepper leaves, we isolated the endophytes PC74 and PC75, whose morphological characteristics belonged to the *Phoma*-like group. Based on combined multi-gene sequence analysis of the ITS, LSU rRNA, *rpb2* and *tub2*, the phylogenetic analyses indicated *Allophoma brasiliensis*, being reported for the first time as endophyte.

Other species of the genus *Allophoma* has been reported as endophyte of plant in different environments, being found in stem and wilted leaves of *Ageratina adenophora* in Yunnan Province, Southwest China (Fang et al. 2019), as well as in leaves of *Rhizophora apiculata* in Phetchaburi Province, Thailand (Doilom et al. 2017). Members of *Allophoma* are characterized by aseptate conidia that vary both in shape and size, being hyaline and mostly guttulate, and their pycnidia globose and ostiolate (Chen et al. 2015).

The endophytic isolates obtained in this study (URM 8563 and URM 8564) are similar to the description of *Allophoma brasiliensis* culture ex-type URM 8453 proposed by Carvalho et al. (2022), isolated from bat flies (*Trichobius* sp.) on Catimbau National Park, located in the Caatinga domain, encompassing parts of the municipalities of Buíque, Tupanatinga, and Ibimirim in the state of Pernambuco. The authors used macromorphological characters from colonies in OA, PDA and MEA cultivated at 27° C for 7 days in the dark and micromorphological characters such as conidiomata pycnidial, conidiomatal wall, conidiogenous cells and conidia for identification and confirmation of the species. Multi-gene analysis (ITS, LSU rRNA, *rpb2* and *tub2*) demonstrated high identity and phylogenetic relationship with our isolates (Fig. 3).

However, we have observed chlamydospores in our specimens, this was not reported by Carvalho et al. (2022). These authors also have found guttulated conidia, but this structure was not observed in our analysis. The pycnidia found in our isolates were larger than the observed by Carvalho et al. (2022), while the conidiogenous cells from URM 8563 e URM 8564 are smaller than those in the original species description.

Allophoma brasiliensis (URM 8563 e URM 8564), was found in an agricultural area in the municipality of Chã Grande as endophyte from healthy leaves of bell pepper (*Capsicum annuum*). This species is reported here for the first time in an agricultural site in Brazilian Atlantic Forest. In view of the new occurrence, the results of this study are relevant for global fungal diversity, indicating a new geographical distribution, in a different biome, and a new ecological lifestyle for this species.

Acknowledgements

The authors are grateful to the Hortaliça Center J.C. Alves e CIA LTDA for allowing access to cultivation areas to carry out the collections. This work was supported through a research grant from the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE (IBPG-0823-2.03/20). This research received financial support from the Universidade Federal de Pernambuco (Edital PROPG nº06/2022). Gladstone A. Silva thanks to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the Fellowship granted (Proc. 312227/2019-1).

Authors' Contributions

Conceptualization: TGLO, RMFS, ARM, OMCM, AFC, GAS. Data curation: TGLO, RMFS, ARM, OMCM, AFC, GAS. Methodology: TGLO, RMFS, GAS. Formal analysis: TGLO, RMFS, ARM, OMCM, AFC, GAS. Visualization: TGLO, RMFS, ARM, OMCM, AFC, GAS. Funding acquisition: GAS. Resources: GAS. Supervision: GAS, ARM, OMCM, TGLO. Project administration: GAS, TGLO. Writing – original draft: TGLO, GAS. Writing – review and editing: TGLO, GAS.

References

Araújo WL, Lima AOS, Azevedo JL, Marcon J, Sobral JK, Lacava PT (2002) Manual: isolamento de microrganismos endofíticos. Centro Acadêmico Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil, 86 pp.

Babaahmadi G, Mehrabi-Koushki M, Hayati J (2018) *Allophoma hayatii* sp. nov., an undescribed pathogenic fungus causing dieback of *Lantana camara* in Iran. Mycological Progress 17: 365–379. <https://doi.org/10.1007/s11557-017-1360-7>

Barbosa RN, Santos JEF, Bezerra JDP, Istel Ł, Houbraken J, Oliveira NT, Souza-Motta CM (2022) Brazilian Atlantic Forest and Pampa Biomes in the spotlight: an overview of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Talaromyces* (Eurotiales) species and the description of *Penicillium nordestinense* sp. nov. Acta Botanica Brasilica 36, e2021abb0390. <https://doi.org/10.1590/0102-33062021abb0390>

Carvalho JLVR, Lima JMS, Barbier E, Bernard E, Bezerra JDP, Souza-Motta CM (2022) Ticket to ride: fungi from bat ectoparasites in a tropical cave and the description of two new species. Brazilian Journal of Microbiology 53(4): 2077–2091. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00841-y>

Chen Q, Hou LW, Duan WJ, Crous PW, Cai L (2017) *Didymellaceae* revisited. Studies in Mycology 87(1): 105–159. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.06.002>

Chen Q, Jiang JR, Zhang GZ, Cai L, Crous PW (2015) Resolving the *Phoma* enigma. Studies in mycology 82: 137–217. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.10.003>

De Gruyter J, Noordeloos ME, Boerema GH (1993) Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) – I. 2. Section *Phoma*: additional taxa with very small conidia and taxa with conidia up to 7 µm long. Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi 15(3): 369–400.

Doilom M, Manawasinghe IS, Jeewon R, Jayawardena RS, Tibpromma S, Hongsanan S, Meepol W, Lumyong S, Jones EBG, Hyde KD (2017) Can ITS sequence data identify fungal endophytes from cultures? A case study from *Rhizophora apiculata*. Mycosphere 8(10): 1869–1892. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/10/11>

Fang K, Miao Y-F, Chen L, Zhou J, Yang ZP, Dong XF, Zhang HB (2019) Tissue-Specific and geographical variation in endophytic fungi of *Ageratina adenophora* and fungal associations with the environment. Frontiers in Microbiology 10: 2919. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02919>

Glass NL, Donaldson GC (1995) Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Applied and Environmental Microbiology 61(4): 1323–1330. <https://doi.org/10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995>

Hou L, Hernández-Restrepo M, Groenewald JZ, Cai L, Crous PW (2020a) Citizen science project reveals high diversity in *Didymellaceae* (Pleosporales,

Dothideomycetes). *MycoKeys* 65: 49–99. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.65.47704>

Hou LW, Groenewald JZ, Pfenning LH, Yarden O, Crous PW, Cai L (2020b) The *Phoma*-like dilemma. *Studies in mycology* 96: 309–396.

<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.05.001>

Jayasiri SC, Hyde KD, Jones EBG, McKenzie EHC, Jeewon R, Phillips AJL, Bhat DJ, Wanasinghe DN, Liu JK, Lu YZ, Kang JC, Xu J, Karunarathna SC (2019) Diversity, morphology and molecular phylogeny of Dothideomycetes on decaying wild seed pods and fruits. *Mycosphere* 10(1): 1–186. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/10/1/1>

Katoh K, Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772–780.

<https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>

Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33(7): 1870–1874.

<https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>

Liu YJ, Whelen S, Hall BD (1999) Phylogenetic relationships among ascomycetes: Evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16(12): 1799–

1808. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026092>

Marin-Felix Y, Hernández-Restrepo M, Iturrieta-González I, García D, Gené J, Groenewald JZ, Cai L, Chen Q, Quaedvlieg W, Schumacher RK, Taylor PWJ, Ambers C, Bonthond G, Edwards J, Krueger-Hadfield SA, Luangsa-Ard JJ, Morton L, Moslemi A, Sandoval-Denis M, Tan YP, Thangavel R, Vaghefi N, Cheewangkoon R, Crous PW (2019) Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. *Studies in mycology* 94: 1–124.

<https://doi.org/10.1016/j.simyco.2019.05.001>

Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. Gateway Computing Environments Workshop (GCE)

1–8. <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>

Nylander JAA (2004) MrModeltest Version 2. Program Distributed by the Author.

Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.

- Oliveira RJV, Bezerra JL, Lima TEF, Silva GA, Cavalcanti MAQ (2016) *Phaeosphaeria nodulispora*, a new endophytic coelomycete isolated from tropical palm (*Cocos nucifera*) in Brazil. *Nova Hedwigia* 103(1): 185–192. https://doi.org/10.1127/nova_hedwigia/2016/0343
- Rayner RW (1970) A mycological colour chart. Kew, CMI and British Mycological Society.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61(3): 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Silva RM, Oliveira RJ, Bezerra JD, Bezerra JL, Souza-Motta CM, Silva GA (2019) *Bifusisporella sorghi* gen. et sp. nov. (*Magnaporthaceae*) to accommodate an endophytic fungus from Brazil. *Mycological Progress* 18: 847–854. <https://doi.org/10.1007/s11557-019-01494-2>
- SOS Mata Atlântica (2017) Relatório Anual de atividades 2017. https://www.sosma.org.br/wp-content/uploads/2018/10/AF_RA_SOSMA_2017_web.pdf. Accessed on: 2023-06-21.
- Stamatakis A (2014) RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30(9): 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Sung GH, Sung JM, Hywel-Jones NL, Spatafora JW (2007) A multi-gene phylogeny of *Clavicipitaceae* (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44(3): 1204–1223. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.03.011>
- Valenzuela-Lopez N, Cano-Lira JF, Guarro J, Sutton DA, Wiederhold N, Crous PW, Stchigel AM (2018) Coelomycetous Dothideomycetes with emphasis on the families *Cucurbitariaceae* and *Didymellaceae*. *Studies in Mycology* 90: 1–69. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2017.11.003>
- Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology* 172(8): 4238–4246. <https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990>

Vilgalys R, Sun BL (1994) Ancient and recent patterns of geographic speciation in the oyster mushroom *Pleurotus* revealed by phylogenetic analysis of ribosomal DNA sequences.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 91(10): 4599–4603. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.10.4599>

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Eds.) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York, 315–322.

Wijayawardene NN, Hyde KD, Al-Ani LKT, Tedersoo L, Haelewaters D, Rajeshkumar KC, Zhao RL, Aptroot A, Leontyev DV, Saxena RK, Tokarev YS, Dai DQ, Letcher PM, Stephenson SL, Ertz D, Lumbsch HT, Kukwa M, Issi IV, Madrid H, Phillips AJL, Selbmann L, Pfliegler WP, Horváth E, Bensch K, Kirk PM, Kolaříková K, Raja HA, Radek R, Papp V, Dima B, Ma J, Malosso E, Takamatsu S, Rambold G, Gannibal PB, Triebel D, Gautam AK, Avasthi S, Suetrong S, Tindal E, Fryar SC, Delgado G, Réblová M, Doilom M, Dolatabadi S, Pawłowska J, Humber RA, Kodsueb R, Sánchez-Castro I, Goto BT, Silva DKA, de Souza FA, Oehl F, da Silva GA, Silva IR, Błaszowski J, Jobim K, Maia LC, Barbosa FR, Fiuza PO, Divakar PK, Shenoy BD, Castañeda-Ruiz RF, Somrithipol S, Lateef AA, Karunarathna SC, Tibpromma S, Mortimer PE, Wanasinghe DN, Phookamsak R, Xu J, Wang Y, Tian F, Alvarado P, Li DW, Kušan I, Matočec N, Maharachchikumbura SSN, Papizadeh M, Heredia G, Wartchow F, Bakhshi M, Boehm E, Youssef N, Hustad VP, Lawrey JD, Santiago ALCMA, Bezerra JDP, Souza-Motta CM, Firmino AL, Tian Q, Houbraken J, Hongsanan S, Tanaka K, Dissanayake AJ, Monteiro JS, Grossart HP, Suija A, Weerakoon G, Etayo J, Tsurykau A, Vázquez V, Mungai P, Damm U, Li QR, Zhang H, Boonmee S, Lu YZ, Becerra AG, Kendrick B, Brearley FQ, Motiejūnaitė J, Sharma B, Khare R, Gaikwad S, Wijesundara DSA, Tang LZ, He MQ, Flakus A, Rodriguez-Flakus P, Zhurbenko MP, McKenzie EHC, Stadler M, Bhat DJ, Liu JK, Raza M, Jeewon R, Nassonova ES, Prieto M, Jayalal RGU, Erdoğdu M, Yurkov A, Schnittler M, Shchepin ON, Novozhilov YK, Silva-Filho AGS, Liu P, Cavender JC, Kang Y, Mohammad S, Zhang LF, Xu RF, Li YM, Dayarathne MC, Ekanayaka AH, Wen TC, Deng CY, Pereira OL, Navathe S, Hawksworth DL, Fan XL, Dissanayake LS, Kuhnert E, Grossart HP, Thines M (2020) Outline of Fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere* 11(1): 1060–1456. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/11/1/8>

Wilson OJ, Mayle FE, Walters RJ, Lingner DV, Vibrans AC (2021) Floristic change in Brazil's Southern Atlantic Forest biodiversity hotspot: From the last glacial maximum to the

late 21st century. Quaternary Science Reviews 264:

107005. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2021.107005>

Yuan J, Zeng X-Y, Geng K, Wijayawardene NN, Bhat JD, Wu SP, Wang Y, Yang ZF (2021) *Allophoma* species (Pleosporales: *Didymellaceae*) associated with *Thunbergia grandiflora* in Guangxi Province, China. Biodiversity Data Journal 9: e63643.

<https://doi.org/10.3897/BDJ.9.e63643>

Supplemental Data

Table S1. Isolates used in this study, including the different markers with respective NCBI GenBank accessions numbers, and the culture code. GenBank accessions numbers in bold were generated in this work.

Figure Legends

Figure 1. New occurrence of *Allophoma brasiliensis* URM 8563.

Figure 2. *Allophoma brasiliensis* URM 8563. **A.** Detail of colony on PDA after 15 days. **B.** Detail of colony on MEA after 15 days. **C–D.** Conidiomata pycnidial. **E–G.** Conidiogenous cells and conidia. **H–I.** Conidia. **J.** Chlamydospores. Scale bars: C, D = 100 µm; E–J = 10 µm.

Figure 3. Phylogenetic tree generated from Bayesian inference analysis based on combined *tub2*, *rpb2*, ITS, and LSU rRNA sequences. Sequences from type species and the reference isolates are indicated in bold. The sequence obtained in this study is annotated in red. Bayesian posterior probabilities (above 0.95) and maximum likelihood bootstrap (above 70%) values are shown near nodes. The tree is rooted with *Stagonosporopsis loticola* (CBS 562.81).

Fig 1.

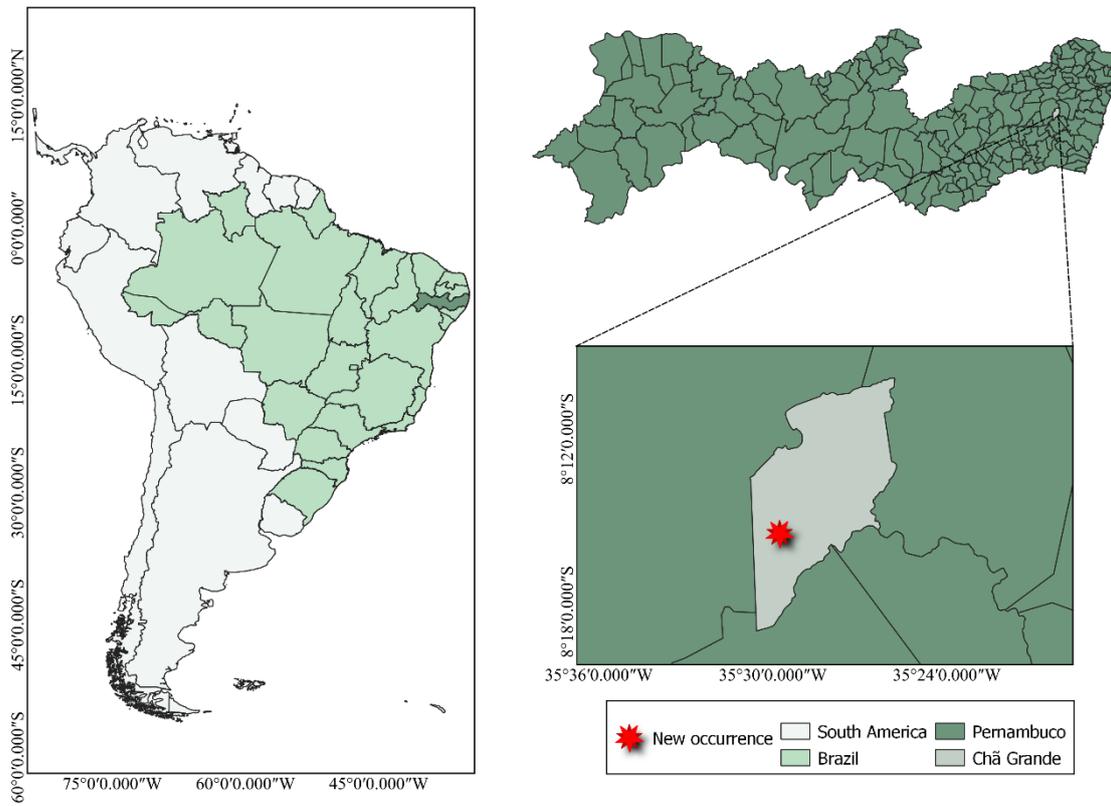


Fig 2.

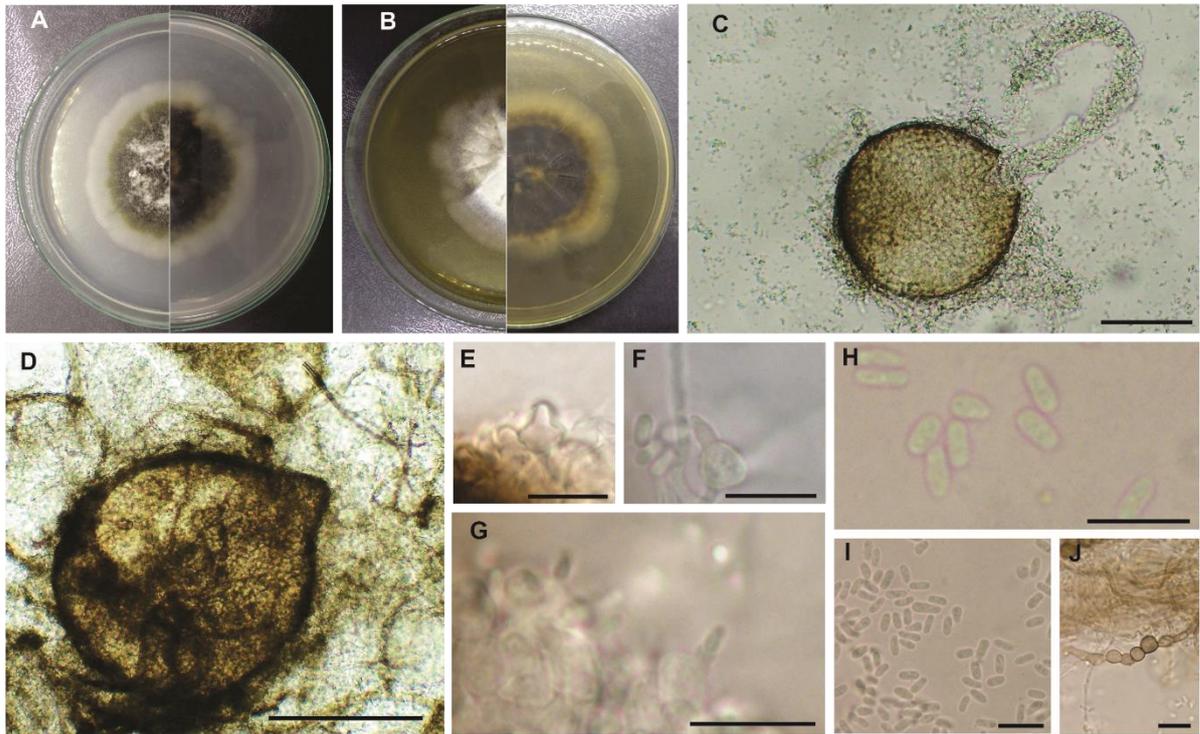


Fig 3.

