



Etiology of brown spot in quipá cladodes (*Tacinga inamoena* K. Schum)

Etiologia da mancha marrom em cladódios de quipá (*Tacinga inamoena* K. Schum)

INFANTE, Nayana Bruschi⁽¹⁾; SILVA, Maria Jussara Santos⁽²⁾;
FEIJÓ, Frederico Monteiro⁽³⁾; ARAÚJO FILHO, José Teodorico de⁽⁴⁾;
ASSUNÇÃO, Iraildes Pereira⁽⁵⁾; LIMA, Gaus Silvestre de Andrade⁽⁶⁾

⁽¹⁾ 0000-0003-1387-4658; Universidade Federal de Alagoas (UFAL) - Campus CECA; Doutoranda do PPG em Proteção de Plantas, Alagoas, BRAZIL. E-mail: nayanainfante@gmail.com.

⁽²⁾ 0000-0001-9418-854X; Universidade Federal de Alagoas (UFAL) - Campus CECA; Doutoranda do PPG em Proteção de Plantas, Alagoas, BRAZIL. E-mail: maria_jussara@hotmail.com.

⁽³⁾ 0000-0002-9412-2070; Universidade Federal de Alagoas (UFAL) - Campus CECA; Pesquisador do PPG em Proteção de Plantas, Alagoas, BRAZIL. E-mail: Frederico.agro2004@gmail.com.

⁽⁴⁾ 0000-0002-1193-4939; Universidade Federal de Alagoas (UFAL) - Campus CECA; Professor do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Alagoas, BRAZIL. E-mail: hircus4@gmail.com.

⁽⁵⁾ 0000-0001-5087-0168; Universidade Federal de Alagoas (UFAL) - Campus CECA; Professora do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Alagoas, BRAZIL. E-mail: iraildes.assuncao@ceca.ufal.br.

⁽⁶⁾ 0000-0003-2910-5896; Universidade Federal de Alagoas (UFAL) - Campus CECA; Prof. Dr. do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Alagoas, BRAZIL. E-mail: gausandrade@yahoo.com.br.

O conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos/as seus/as autores/as.

ABSTRACT

The quipá (*Tacinga inamoena*) is a cactus native to the Brazilian Caatinga. Studies on diseases in that plant species are non-existent, however, brown spots, of a previously unknown etiology, have been frequently observed in cladodes of quipá in the state of Alagoas. Preliminary data indicate that fungi of the *Fusarium* genus may be responsible for the disease, however, these data need to be confirmed using appropriate tools. The objective of this study was to identify and characterize *Fusarium* species associated with brown spot in cladodes of quipá in the state of Alagoas. Three *Fusarium* isolates were obtained from cladodes collected at different points in the backlands of the state of Alagoas. After confirmation of pathogenicity, the isolates were taxonomically positioned based on the concatenated analysis of the partial nucleotide sequences of the EF1- α and RPB2 genes, associated with the morphological analyzes. Two species belonging to the genus *Fusarium* were identified: *F. oxysporum* and *F. lunatum*, this being the first report of these species causing a brown spot in the quipá.

RESUMO

O quipá (*Tacinga inamoena*) é uma cactácea nativa da Caatinga brasileira. Estudos sobre doenças nessa espécie são inexistentes, no entanto, manchas marrons, de etiologia até então desconhecida, tem sido observada em cladódios de quipá no estado de Alagoas. Dados preliminares indicam que fungos do gênero *Fusarium* podem ser responsáveis pela doença, contudo, esses dados precisam ser confirmados utilizando ferramentas adequadas. O objetivo deste estudo foi identificar e caracterizar espécies de *Fusarium* associadas a mancha marrom em cladódios de quipá no estado de Alagoas. Três isolados de *Fusarium* foram obtidos a partir de cladódios coletados em diferentes pontos do sertão do estado de Alagoas. Após confirmação da patogenicidade, os isolados foram identificados com base na análise concatenada das sequências nucleotídicas parciais dos genes EF1- α e RPB2, associadas às análises morfológicas. Foram identificadas duas espécies pertencentes ao gênero *Fusarium*: *F. oxysporum* e *F. lunatum*, sendo este o primeiro relato destas espécies causando mancha marrom no quipá.

INFORMAÇÕES DO ARTIGO

Histórico do Artigo:

Submetido: 08/03/2022

Aprovado: 07/01/2022

Publicação: 01/04/2022



Keywords:

Cactaceae, *Fusarium*,
Bayesian inference

Palavras-Chave:

Cactaceae, *Fusarium*,
Inferência Bayesiana.

Introdução

Tacinga inamoena é uma cactácea nativa da Caatinga brasileira, também conhecida como palma quipá, guibá, gogóia e palma-de-ovelha, sendo a espécie mais difundida do gênero *Tacinga* (Menezes et al., 2011; Bezerra, 2016). Apresenta grande importância para o semiárido, por ser uma alternativa para alimentação animal na ausência de outras fontes nutricionais (Chaves & Barros, 2015).

Existem poucos estudos relacionados ao quipá, especialmente sobre a ocorrência de doenças e seus respectivos agentes causais. Recentemente, foram observadas manchas nos cladódios de quipá em plantas localizadas no município de Delmiro Gouveia, Alagoas. Os sintomas observados eram semelhantes aos de mancha marrom dos cladódios de palma forrageira miúda (*Nopalea cochenillifera*) (Souza et al., 2010; Feijó et al., 2016).

A doença é caracterizada por manchas de coloração marrom a preta que se estendem de uma face a outra do cladódio, causando perfurações devido à queda do tecido infectado. As manchas podem coalescer e causar queda dos cladódios infectados (Santos et al., 2006; Lima et al., 2011; Conforto et al., 2016). A literatura aponta que a mancha marrom da palma forrageira está associada a diferentes espécies fúngicas pertencentes a gêneros distintos, incluindo o gênero *Fusarium* (flores-flores et al., 2013; Feijó et al., 2016; 2019). No entanto, em quipá, sua etiologia é desconhecida.

Fusarium (família *Nectriaceae*) é um importante patógeno vegetal, que está pode associado a uma ampla gama de hospedeiras (Farr & Rossman, 2020). A identificação das espécies de *Fusarium* era inicialmente baseada na morfologia (Booth, 1971; Nelson et al., 1983), posteriormente, a região ITS passou a ser considerada, no entanto, tornou-se insuficiente por não identificar precisamente espécies desse gênero fúngico (Summerell, 2019). Atualmente, o uso de filogenia multilocus inferida por dados combinados da região ITS e dos genes EF1- α , RPB1 e RPB2, tem permitido maior confiabilidade na delimitação das espécies de *Fusarium* (Hyde et al., 2014; Summerell, 2019).

Assim, este estudo teve como objetivo identificar e caracterizar espécies de *Fusarium* associadas à mancha marrom em cladódios de quipá no estado de Alagoas.

Metodologia

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia Molecular do Centro de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Obtenção dos isolados

Os isolados foram obtidos a partir de cladódios de quipá apresentando sintomas de manchas marrons provenientes do município de Delmiro Gouveia, Alagoas, Brasil. No laboratório, os cladódios foram lavados em água corrente e secos com papel toalha esterilizado. Os isolamentos foram realizados removendo fragmentos do tecido sintomático na interface

entre o tecido necrótico e o tecido não sintomático, os quais foram desinfestados com solução de álcool 70% por 30 s, hipoclorito de sódio (1%) por 1 min, lavados duas vezes em água destilada estéril, e colocados para secar em papel de filtro estéril. Após a secagem, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo ágar batata dextrose (BDA) e mantidos em BOD a 25 ± 1 °C no escuro por 10 dias.

Após a formação das colônias, discos de 5mm contendo crescimento micelial do patógeno foram transferidos para novas placas contendo o mesmo meio de cultura até o surgimento das estruturas de reprodução para posterior identificação. As colônias de fungos foram depositadas na Coleção de Fitopatógenos da Universidade Federal de Alagoas (COUFAL).

Teste de patogenicidade

A patogenicidade dos isolados obtidos foi testada em cladódios saudáveis destacados de palma forrageira miúda, oriundos de um plantio localizado em Rio Largo - AL. Os mesmos foram lavados em água corrente e desinfestados com uma solução de NaOCl 1% por 3 min, enxaguados em água destilada e secos em temperatura ambiente. Em seguida, os cladódios foram feridos com auxílio de agulha previamente esterilizada, a ferida foi inoculada com discos de BDA com tamanho de 5 mm contendo estruturas fúngicas dos isolados. Para testemunha, foi utilizado discos contendo apenas BDA. Cada cladódio foi mantido em câmara úmida, onde foram embalados separadamente em sacos plásticos contendo algodão umedecido com água destilada esterilizada, por 48 horas, e posteriormente mantidos em incubadora Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD) a 25 ± 1 °C com fotoperíodo de 12 horas por até 10 dias. Foram utilizadas cinco repetições por isolado, sendo que cada repetição constituída de um cladódio com quatro feridas, sendo uma delas a testemunha (Flores-Flores et al. 2015).

Caracterização molecular

Para caracterização molecular, foram realizadas extrações de DNA genômico dos isolados obtidos, seguindo o protocolo CTAB adaptado de Doyle e Doyle (1987). As amplificações foram realizadas por PCR utilizando os primers EF1 e EF2 para o gene EF-1 α (O'donnell et al., 1998) e 5F2 e 7CR para o gene RPB2 (O'donnell et al., 2013). Os produtos amplificados foram enviados para purificação e sequenciamento na empresa Macrogen (Seul, Coréia do Sul).

As sequências de nucleotídeos obtidas foram montadas com o *software Codon Code Aligner* v. 6.0.2 (www.codoncode.com), e analisadas visualmente. O arranjo dos nucleotídeos em posições ambíguas, foram corrigidos por comparação das sequências senso e anti-senso. Sequências parciais obtidas para os genes EF1- α e RBB2 foram inicialmente analisadas com o algoritmo BLASTn e o banco de dados de nucleotídeos do *Genbank*

(www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) para determinar as espécies com as quais compartilharam maior identidade de sequência.

Sequências de espécies de *Fusarium* disponíveis no *GenBank* foram incluídas nas análises (tabela 1). Alinhamentos múltiplos das sequências nucleotídicas foram realizados utilizando a ferramenta *Muscle* (Edgar, 2004), implementado pelo programa Mega v.7 (Tamura et al., 2013). Os conjuntos de dados de EF1- α e RBB2 foram reconstruídas no portal Cipres (Miller et al., 2010) usando MrBayes v. 3.2.3 (Ronquist et al., 2012). O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi determinado para cada região genômica usando *MrModeltest* v. 2.3. As análises ocorreram por 10 milhões de gerações usando quatro cadeias e amostradas a cada 1000 gerações, para um total de 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores foram descartadas como uma fase de queima. Probabilidades posteriores foram determinadas a partir de uma árvore de consenso de regra da maioria gerada com as 7500 árvores restantes. As árvores foram visualizadas e editadas usando o programa *FigTree* v.1.4 (ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree) e *Inkscape* (https://inkscape.org/pt/).

Tabela 1. Isolados submetidos à análise de DNA neste estudo, incluindo detalhes sobre coleta de cultura e acessos ao *GenBank*.

Species	Culture Access Number	GenBank Access Number	
		TEF1-alpha	RPB2
<i>Fusarium ambrosium</i>	NRRL20438	-	JX171584.1
<i>F. delphinoides</i>	C26	KU711775.1	KU604380.1
<i>F. delphinoides</i>	NRRL 36160	KR673915.1	KR674023.1
<i>F. dimerum</i>	CBS 108944	KR673912.1	KM232363.1
<i>F. dimerum</i>	NRRL 36140	HM347133.1	HM347218.1
<i>F. faelciforme</i>	NRRL 43529	-	JX171653.1
<i>F. faelciforme</i>	NRRL 32721	DQ247041	EU329602.1
<i>F. faelciforme</i>	NRRL 43441	MH582417.1	MH582407.1
<i>F. foetens</i>	NRRL 38302	KU171723.1	JX171652.1
<i>F. inflexum</i>	NRRL 20433	AF008479.1	JX171583.1
<i>F. inflexum</i>	S6A1	KT032952	-
<i>F. lunatum</i>	CMM1288	-	KY549627.1
<i>F. lunatum</i>	NRRL 36168	-	JX171648.1
<i>F. lunatum</i>*	COUFAL0301	MT795191	MT795194
<i>F. oxysporum</i>	NRRL 52748	JF740824.1	F740996.1
<i>F. oxysporum</i>	NRRL 25097	JF740724.1	-
<i>F. oxysporum</i>	COUFAL0302	MT795192	MT795195

<i>F. oxysporum</i>	COUFAL0303	MT795193	MT795196
<i>F. phaseoli</i>	NRRL 22276	EF408415.1	JX171608.1
<i>F. penzigii</i>	CBS 317.34	EU926324.1	KM232362.1
<i>F. penzigii</i>	NRRL 20711	HM347132.1	HM347217.1
<i>F. plagianthi</i>	NRRL 22632	AF178354.1	JX171614.1
<i>F. solani</i>	NRRL 45880	FJ240352.1	EU329640.1
<i>F. virguliforme</i>	NRRL 31041	-	JX171643.1
<i>Neonectria ramulareae</i>	CBS.182.36	DQ789721.1	DQ789793.1

*Em negrito são os isolados obtidos no presente estudo

Caracterização cultural e morfológica

Para caracterização cultural, discos de meio de cultura contendo micélio do patógeno foram retirados das bordas das colônias (cultivadas por 7 dias) e transferidos para placas de Petri contendo BDA sintético. Os tratamentos foram mantidos em incubadora BOD a $25 \pm 1^\circ$ C e fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições por espécie, sendo cada repetição uma placa de Petri. Foi observada a coloração das colônias e o aspecto do micélio aéreo.

Para a caracterização morfológica, 50 macroconídios e 50 microconídios de cada espécie foram medidos por imagens capturadas por câmera digital (*Olympus IX2-SLP*) acopladas a um microscópio óptico com ampliação de 400x, através do *software CellSenses Standard (Samsung SDC-415 ®)*. As características morfológicas foram baseadas no *The Fusarium Laboratory Manual*, de Leslie e Summerell (2006).

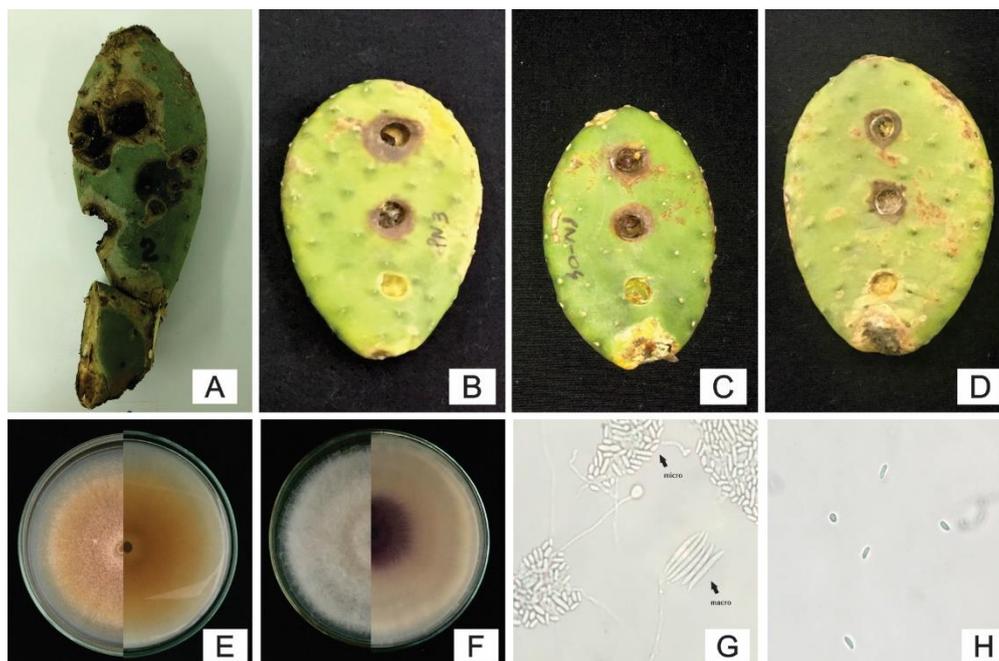
Resultados

Foram obtidos três isolados de *Fusarium* (COFAL0301, COUFAL0302, COUFAL0303) oriundos do município de Delmiro Gouveia, Alagoas, Brasil.

Teste de patogenicidade

Todos os isolados causaram sintomas nos cladódios de quipá. Os sintomas foram observados dez dias após as inoculações, consistindo de lesões circulares e necróticas (figura 1), similares aos observados em condições de campo. Não foram observados sintomas nos tratamentos controles. Por fim foram realizados reisolamentos dos patógenos a partir dos tecidos doentes, cumprindo assim os postulados de Koch.

Figura 1. A. Sintomas em campo; B - lesões causadas pelo isolado da espécie *F. lunatum*; C- D - lesões causadas pelos isolados da espécie *F. oxysporum*. E - Coloração frente e verso da colônia; F - coloração frente e verso da colônia; G – Macro e microconídios de *Fusarium oxysporum* H – microconídios da espécie *Fusarium lunatum*.



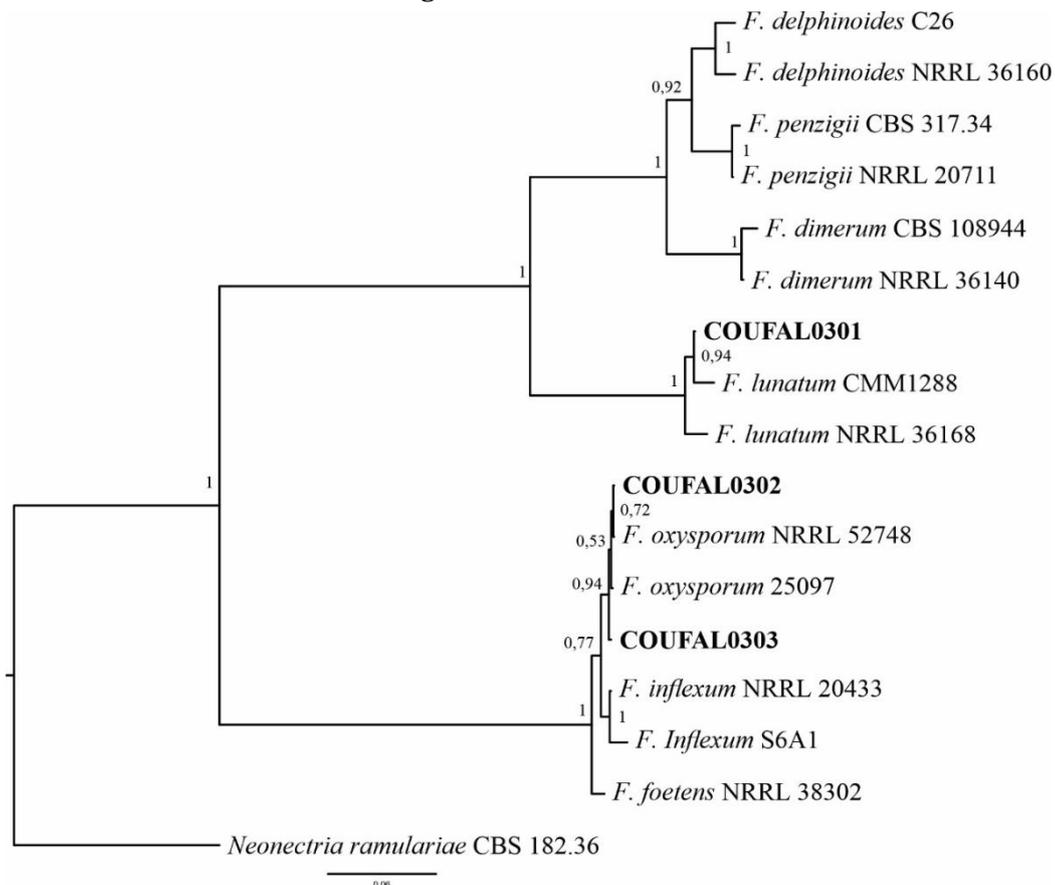
Fonte: Dados da Pesquisa.

Análise filogenética

Aproximadamente 668 bases foram determinadas para EF1- α e 882 bases para RPB2 para a espécie *F. oxysporum* e 598 bases para EF1- α e 771 para bases RPB2 para a espécie *F. lunatum*. A análise de congruência não revelou conflito entre os conjuntos de dados das sequências EF1- α e RPB2, portanto, foram combinados. O conjunto de dados combinados dos dois locus, incluiu 17 táxons com *Neonectria ramulariae* (CBS 182.36) como um táxon de grupo externo. O alinhamento apresentou 1643 caracteres, dos quais 579 são sítios informativos parcimoniosos, 949 são sítios conservados e 688 sítios variáveis. Para as análises filogenéticas de IB foram selecionados, de acordo com os Critério de Informação de Akaike (AIC), os modelos GTR+G (TEF) e GTR+I+G (RPBII).

Os resultados mostraram que os isolados COUFAL0302 e COUFAL0303 agruparam com a espécie *F. oxysporum*, pertencente ao complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (FOSC), enquanto o isolado COUFAL0301 agrupou com a espécie *F. lunatum* pertencente ao complexo espécies *Fusarium dimerum* (FDSC) (figura 2).

Figura 2. Árvore filogenética de inferência bayesiana baseada em sequências concatenadas dos genes EF1- α e RPB2. *Neonectria ramulariae* foi utilizado como outgroup. Os isolados provenientes deste estudo estão em negrito.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Caracterização morfofocultural

Os isolados de *F. oxysporum* produziram microconídios com formato obovoide a elíptico com variações de comprimento e largura de 13,05 - 7,61 μm e 4,56 - 2,02 μm , respectivamente. Os macroconídios eram falcados com comprimento variando de 52,5 - 27,2 μm e largura variando de 6,26 - 2,93 μm . As colônias mostraram coloração rosa claro no verso e avermelhadas no reverso. O isolado de *F. lunatum* produziu apenas microconídios de formato alantoide com comprimento variando de 9,84 - 6,02 μm e largura variando de 4,10 - 2,36 μm . A coloração das colônias no verso e reverso eram de coloração laranja (Figura 2).

Discussão

O presente trabalho traz o primeiro estudo sobre etiologia da mancha marrom em cladódios de quipá. Essa doença ocorre na palma forrageira miúda no nordeste brasileiro e está associada a muitas espécies fúngicas (Feijó et al. 2019; Conforto et al. 2019). Em quipá, a doença e os respectivos agentes etiológicos eram desconhecidos até então, e utilizando uma abordagem polifásica, foi possível identificar, com base em análises filogenéticas de duas regiões genômicas, combinadas com análises morfológicas, dois complexos de espécies

pertencentes ao gênero *Fusarium*: complexo de espécies *Fusarium oxysporum* (FOSC) e complexo de espécies *Fusarium dimerum* (FDSC).

Esses complexos apresentam características morfológicas bastante semelhantes, dificultando a identificação de espécies com base apenas em métodos fenotípicos (Kavas et al. 2009). Dessa forma, passou-se a utilizar técnicas moleculares, inicialmente baseadas na região ITS, porém, seu uso foi bastante debatido devido ao nível de informatividade dessa região (Hyde et al., 2014). Com isso a delimitação de espécies passou a ser realizada por filogenia multilocus com a utilização de genes altamente informativos, como: TEF1- α , RPB1 e RPB2 em conjunto com dados morfológicos e de patogenicidade, abordagem conhecida como polifásica (O'donnell et al., 2010). Com base nessa metodologia foram identificadas no presente estudo *F. oxysporum* (FOSC) e *F. lunatum* (FDSC) causando manchas em cladódios de quipá.

Fusarium oxysporum é considerada a espécie mais importante dentro do gênero *Fusarium* por causar uma série de doenças em muitos hospedeiros de importância econômica em todo mundo (Geiser et al., 2013), inclusive em cactáceas, onde já foi relatada infectando cactos ornamentais no Brasil, México e Itália (Farr & Rossman, 2020), palma gigante (*Opuntia ficus-indica*) e palma miúda (*N. cochenillifera*) no Brasil (Souza et al., 2010; Santiago et al., 2018). A espécie *F. lunatum* já foi identificada em *Opuntia dillenii*, no Haiti, *Gymnocalycium damsii*, na Alemanha, em *O. ficus-indica*, no México (2013) e em *N. cochenillifera* no Brasil (Farr & Rossman, 2020)

Este estudo traz os primeiros relatos de patógenos nessa espécie nativa, mas não é o primeiro registro de fungos em quipá. Estudos anteriores identificaram, com base em análises filogenéticas, fungos endofíticos associados a essa cactácea, incluindo *F. oxysporum* e *Fusarium* sp. (Bezerra, 2016). Isso pode explicar o aparecimento de doenças nessa espécie nativa, uma vez que os fungos endofíticos muitas vezes são patógenos latentes, ou seja, capazes de causar doenças em plantas estressadas ou quando o hospedeiro entra no processo de senescência (Hyde et al., 2014).

Os dados aqui reportados são de grande importância para *T. inamoena* que é uma das espécies de cactos mais comumente encontrada na Caatinga brasileira (Taylor et al., 2015). Endêmica desse ecossistema, esta espécie apresenta potencial para o comércio internacional de plantas selvagens, segundo a *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (CITES) (Meiado et al., 2015), além do grande potencial econômico como ornamental e para alimentação animal (Souza et al., 2007) podendo ainda contribuir para programas nacionais de conservação da biodiversidade (Meiado et al., 2015). Sendo assim, estudos voltados a problemas fitossanitários são de extrema relevância para a conservação dessa espécie na flora brasileira.

Por outro lado, esses resultados trazem uma grande preocupação, uma vez que essa planta nativa pode servir como hospedeira alternativa e potencial fonte de inóculo para outras cactáceas cultivadas em grande escala no sertão nordestino como *N. cochenillifera* e *O. ficus*,

indica que é a segunda cultura mais plantada no estado de Alagoas, alcançando 6.591 hectares no ano de 2017, com uma produção média de 278.951 toneladas (IBGE, 2017)

Sendo assim, estudos adicionais são necessários para que se possa conhecer a real diversidade de espécies e/ou gêneros fúngicos associados a mancha marrom em quipá, uma vez que, a mancha marrom, ocorrendo em palma forrageira, é causada por muitos gêneros/espécies distintas.

Conclusões

Com base nas análises filogenética e morfocultural, as espécies *Fusarium lunatum* e *Fusarium oxysporum* são agentes etiológicos da mancha marrom em cladódios de quipá no estado de Alagoas.

REFERÊNCIAS

- Benjamin C. R., Slot A. (1969). *Fungi of Haiti*. Sydowia 23: p.125–163.
- Bezerra, J. D. P. (2016). *Fungos endofíticos em cactos de áreas de caatinga preservada e com atividade de agricultura familiar: diversidade e estudo filogenético*. Tese Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco.
- Booth, C. (1971). *The Genus Fusarium Commonwealth Agricultural Bureaux*. Farnham, Royal, Bucks, 237p.
- Lima Cabral, G. A, Sampaio, E. V. S. B, Silva, J. (2013). Estrutura espacial e biomassa da parte aérea em diferentes estádios sucessionais de Caatinga, em Santa Terezinha, Paraíba. *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 6, n.3, p. 566-574.
- Chaves, E. M. F, Barros, R. F. M. (2015). Cactáceas: recurso alimentar emergencial no semiárido, Nordeste do Brasil. *Gaia scientia*, v. 9, p 129-135.
- Confort, C., Lima, N. B., Garcete-Gómez, J. M., Câmara, M. P. S., Michereff, S. J. (2016). First report of cladode brown spot in cactus prickly pear caused by *Neofusicoccum batangarum* in Brazil. *Plant Disease*, v. 100, p. 1238. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-15-1298-PDN>
- Confort, C., Lima, N. B., Silva, F. J. A., Câmara, M. P. S., Maharachchikumbura, S., Michereff, S. J. (2019). Characterization of fungal species associated with cladode brown spot on *Nopalea cochenillifera* in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*. v. 155, p.1179-94. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01847-3>
- Doyle, J. J., Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry*. v.19, p.11-15.
- Edgar, R. C. (2004). Muscle: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res*. v.32, p.1792–1797.
- Farr, D. F., Rossman, A. Y. (2019). *Fungal database: Fungus-host distributions*. Available from: <<http://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/fungushost/fungushost.cfm>. 23 jun. 2019> Accessed: Jun. 23.
- Feijó, F. M., Ramos-Sobrinho, R., Silva, M. J. S., Barbosa, L. F., Pinho, D. B., Assunção, I. P., Lima, G. S. A. (2016). First report of cladode and foot rots caused by *Pythium aphanidermatum* on cactus (*Nopalea cochenillifera*). *Plant Disease*. v. 100, p. 1797-1797. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-15-1507-PDN>
- Feijo, F. M., Silva, M. J. S., Nascimento, A. D., Infante, N. B., Ramos-Sobrinho, R., Assunção, I. P., Lima, G. S. (2019). Botryosphaeriaceae species associated with the pickly pear cactus, *Nopalea cochenillifera*. *Tropical Plant Pathology*. v.44, p. 452. <https://doi.org/10.1007/s40858-019-00299-8>
- Flores-Flores, R., Velázquez-Del Valle, M. G., León-Rodríguez, R., Flores-Moctezuma, H. E., Hernández-Lauzardo, A. N. (2013). Identification of fungal species associated with cladode spot of prickly pear and their sensitivity to chitosan. *Journal of phytopathology*. v.161, p.544-552. <https://doi.org/10.1111/jph.12104>
- Geiser, D.M., Aoki, T., Bacon, C. W., Baker, S. E., Bhattacharyya, M. K., Brandt, M. E., ... & Zhang, N. (2013). One fungus, one name: defining the genus *Fusarium* in a scientifically robust way that

- preserves longstanding use. *Phytopathology*. v. 103, p.400–8.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-12-0150-LE>
- Hyde, K.D., Nilsson, R. H., Alias, S. A., Ariyawansa, H. A., Blair, J. E., Cai, L., ... & Zhou, N. (2014). One stop shop: backbone trees for important phytopathogenic genera: I. *Fungal Diversity*. v.67, p. 21-125. <https://doi.org/10.1007/s13225-014-0298-1>
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (2017). *Censo agro 2017*. Available from: https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?loalidade=27&tema=76582> Accessed: Jan 25, 2020.
- Kvas, M., Marasas, W. F. O., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J., & Steenkamp, E. T. (2009). Diversity and evolution of *Fusarium* species in the *Gibberella fujikuroi* complex. *Fungal Diversity*. v. 34, p 1-21. <http://hdl.handle.net/2263/13444>
- Lima, G.S., Assunção, I. P., Martins, R. B., Santos, H. V., Michereff, S. J. (2011). Development and validation of a standard area diagram set for assessment of *Alternaria* spot on the cladodes of the prickly pear cactus. *Journal of Plant Pathology*. v.93, p. 691- 695.
<http://www.jstor.org/stable/41999045>
- Meiado, M. V, Machado, M. C., Zappi, C. D., Taylor, N. P., Siqueira-Filho, J. A. (2015). Ecological attributes, geographic distribution and endemism of cacti from the São Francisco watershed. *Gaia Scientia*. v. 9, p. 40-53.
- Menezes, M. O., Taylor, N. P., Machado, M. C., Coelho, P. J., Correia, D. (2011). Diversity and distribution of Cactaceae in Ceará state, northeastern Brazil. *Bradleya*, n, 29, p. 13-42.
<https://doi.org/10.25223/brad.n29.2011.a3>
- Miller, M. A., Pfeiffer, W, Schwartz, T. (2010). Creating the Cipres Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *2010 gateway computing environments workshop (GCE)*. Ieee, p. 1-8.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium Species: an Illustrated Manual for Identification*. Philadelphia: Pennsylvania State University Press.
- Oliveira, L.F., Feijó, F. M., Mendes, A. L., Neto, J. D., Netto, M. S., Assunção, I. P., Lima, G. S. (2018). Identification of *Colletotrichum* species associated with brown spot of cactus prickly pear in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, v. 43, p.247-53. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0215-3>
- O'donnell, K., Cigelnik, E., & Nirenberg, H. I. (1998). Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*, v. 90 p. 465-493.
<https://doi.org/10.1080/00275514.1998.12026933>
- O'donnell, K., Sutton, D. A., Rinaldi, M. G., Sarver, B. A., Balajee, S. A., Schroers, H. J., ... Geiser, D. M. (2010). Internet-accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 48 p.3708-3718.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00989-10>
- O'donnell, K., Rooney, A. P., Proctor, R. H., Brown, D. W., McCormick, S. P., Ward, T. J., ... Geiser, D. M. (2013). Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetics and Biology*, v. 52, p. 20. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2012.12.004>
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., ... Huelsenbeck, J. P. (2012). Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Systematic Biology*, v.61, p. 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Santiago, M.F., Santos, A. M. G., Inácio, C. P., Neves, R. P., Andrade, D. E. G. T., Santos, D. C., Assis, T. C., Doyle, V. P., Vieira, W. A. S., Veloso, J. S., Camâra, M. P. S., Laranjeira, D. (2018). First Report of a Member of the *Fusarium oxysporum* Species Complex Causing Cladode Rot in *Nopalea cochenillifera* in Brazil. *Plant Disease*, v. 102, p. 2652.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-12-17-1977-PDN>
- Santos, D. D., Farias, I., Lira, M. D. A., Santos, M. D., Arruda, G. D., Coelho, R. S. B., ... Melo, J. D. (2006). *Manejo e utilização da palma forrageira (Opuntia e Nopalea) em Pernambuco*. Recife: IPA.
- Schroers, H.J., O'donnell, K., Lamprecht, S. C., Kammeyer, P. L., Johnson, S., Sutton, D. A., ... Summerbell, R. C. (2009). Taxonomy and phylogeny of the *Fusarium dimerum* species group. *Mycologia*, v. 101, p.44-70. <https://doi.org/10.3852/08-002>
- Souza, A. C. M. D., Gamarra-Rojas, G., Andrade, S. A. C., & Guerra, N. B. (2007). Características físicas, químicas e organolépticas de quipá (*Tacinga inamoena*, *Cactaceae*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 29, p. 292-295. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000200020>
- Souza, A. E. F, Nascimento, L. C., Araújo, E., Lopes, E. B., Souto, F. M. (2010). Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*

- Mill.) no semiárido paraibano. *Revista Biotemas*, v. 23, p. 11 – 20.
<https://doi.org/10.5007/2175-7925.2010v23n3p11>
- Summerel, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: Current status of the genus. *Annual Review of Phytopathology*, v. 7, p.323-39. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100204>
- Swart, W. J., Swart, V. R. (2003). An Overview of Research on Diseases of Cactus Pear in South Africa. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, v.15, p.115-120.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, v.30, p.2725–2729.
<https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Taylor, T. N., Taylor, E. L. (2000). *The rhynie chert ecosystem: a model for understanding fungal interactions*. New York: p. 31-47.