



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

***Leandria momordicae*: Neotipificação e gama de
hospedeiras**

Maria Isabella de Souza Feitosa

**Recife-PE
2022**

MARIA ISABELLA DE SOUZA FEITOSA

***Leandria momordicae*: NEOTIPIFICAÇÃO E GAMA DE HOSPEDEIRAS**

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

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Ailton Reis

Coorientador: Leonardo Silva Boiteux

**RECIFE
MAIO-2022**

Leandria momordicae: NEOTIPIFICAÇÃO E GAMA DE HOSPEDEIRAS

MARIA ISABELLA DE SOUZA FEITOSA

Tese defendida e aprovada em: 30/05/2022

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Ailton Reis

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Alexandre Reis Machado (UFRPE)

Prof. Dr. André Angelo Medeiros Gomes (UFRPE)

Profa. Dra. Kamila Câmara Correia (UFCA)

Prof. Dr. Maruzanete Pereira de Melo (UFPI)

**RECIFE
MAIO-2022**

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

- F3111 Feitosa, Maria Isabella de Souza Feitosa
Leandria momordicae: Neotipificação e gama de hospedeiras / Maria Isabella de Souza Feitosa Feitosa. - 2022.
92 f. : il.
- Orientador: Ailton Reis.
Coorientador: Leonardo Silva Boiteux.
Inclui referências.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,
Recife, 2022.
1. Pleosporales. 2. taxonomia. 3. mancha zonada. 4. Cucurbitaceae. 5. gama de hospedeiras. I. Reis, Ailton, orient.
II. Boiteux, Leonardo Silva, coorient. III. Título

CDD 632

*Quão melhor é adquirir a sabedoria do que o ouro! e
quão mais excelente é adquirir a prudência do que a
prata!*

Provérbios 16:16

Aos meus pais, José Zito Feitosa e Valdenice de Souza Feitosa, e ao meu irmão, Moisés de Souza Feitosa, pelos sábios ensinamentos de caráter e honestidade, pela motivação e apoio incondicional, e antes de tudo, pelo amor sem reservas.

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu melhor Amigo, por me guiar e ser na minha vida inesgotável Fonte de misericórdia, alegria e esperança... por me permitir viver tantas bênçãos, e me ajudar a superar as adversidades.

Ao meu pai, José Zito Feitosa e a minha mãe, Valdenice Feitosa, que são minha maior fonte de inspiração e garra pra vencer, por todo amor e apoio, e por muitas vezes colocar as suas necessidades 'no bolso' para suprir as minhas, eterna gratidão. Ao meu irmão, Moisés Feitosa, meu copanheirinho de desabafos e de pesamentos críticos, pela amizade e apoio.

Aos meus familiares que estão/estiveram sempre na torcida pelo meu sucesso, especialmente a minha madrinha e tia, Petrucia Menezes e ao meu padrinho, Duarte Ferro, meu avô, José Ribamar Feitosa (*in memoriam*), a minha tia Luisa Feitosa (*in memoriam*), ao tio Job Menezes e sua família pela ótima acolhida no Recife, e aos demais, avós, tios (as), primos (as), e amigos (as), duas ou três linhas não seriam suficientes para citá-los.

À minha orientadora dos tempos de IC na UNEB, Dra. Cristiane da Paz, que me apresentou os caminhos da Fitopatologia, e me prestou grande incentivo quando quis regressar à Fitopatologia no doutorado, mesmo quando pensei ser um sonho distante.

Ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela grande oportunidade de cursar o doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

À sociedade brasileira que por meio dos impostos pagos, fomentaram a minha educação desde o ensino fundamental, e por contribuírem para o desenvolvimento científico do país.

À Empraba Hortaliças pela ótima infraestrutura cedida para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao corpo docente do PPGF da UFRPE pelos conhecimentos transmitidos. Especialmente ao Dr. Marcos Câmara, quando no início do curso, me sugeriu ir a Brasília desenvolver a tese, ideia que já tinha me passado vagamente pela mente, antes mesmo de ingressar no curso. E ao Dr. Marco Gama pelo dia em que me vi obstinada a desistir do curso, e não ter me encorajado a fazê-lo, gratidão, pois, muito provavelmente, teria me arrependido.

Ao meu orientador Dr. Ailton Reis, pela orientação, por tantos conhecimentos transmitidos, pelo ótimo acolhimento, presteza, pelo bom convívio, e por ter sido sempre disponível e humilde, o que tornou essa jornada mais leve.

Ao meu coorientador Dr. Leonardo Boiteux, por todo o apoio prestado para os sequenciamentos genômicos e pelas boas contribuições na elaboração da tese.

À Dra. Josiene Veloso, pelo suporte na realização das análises filogenéticas, e por toda paciência na transmissão de conhecimentos.

Ao Dr. Danilo Pinho, da Universidade de Brasília (UnB), por se dispor gentilmente a ajudar nas análises morfológicas, bem como seu aluno Gustavo.

Ao Dr. Nuno Madeira por ter cedido algumas sementes para realização dos experimentos.

Aos componentes da banca, Dr. Alexandre Machado, Dr. André Gomes, Dra. Kamila Correia e Dr. Maruzanete Melo, por aceitarem o convite e pelas contribuições que farão.

Ao Francisco Costa, do Laboratório de Genômica do CNPH, pela gentileza em realizar os sequenciamentos genômicos.

À todos os integrantes e ex- integrantes do Laboratório de Fitopatologia do CNPH (funcionários e estagiários), Alba, Beatriz, Breno, Breno Ribeiro, Cléia, David, Débora, Dra. Alice, Dr. Carlos, Dr. Valdir, Ellen, Fabiana, Cleberly, Luana, Marciel, Roberta, Ruan, Ruthe, Tiago, Wagner e Welington, pela troca de conhecimentos, pelo bom convívio e pelos momentos descontraídos. Especialmente a Alba e Fabiana, por me ensinarem os protocolos da biologia molecular. A Beatriz, Breno e Ruan, pela ajuda em alguns momentos. A Alba e a Débora, primeiras amigas que Brasília me proporcionou.

Aos funcionários da Embrapa, especialmente a Danielle pela companhia enquanto aguardávamos o metrô, ao Iran pelas conversas descontraídas, e até pelas piadas ‘aperreando meu juízo’, ao José Luiz pelas várias caronas durante a pandemia.

À Dra. Neide e sua sobrinha Sarah, por terem me acolhido tão gentilmente assim que cheguei em Brasília, sem nem me conhecerem previamente.

Ao Sr. Nivaldo e Sra. Silvanira, donos da kitnet onde residi, pelo laço de amizade para além da relação inquilina-proprietários, por me acolherem tão bem, e por me fazerem me sentir em casa mesmo estando a mais de 1500 km da minha casa.

Aos colegas e amigos que o PPGF me proporcionou...Alejandro, Bárbara, Leandro Velez e Marilene, bons companheiros na jornada de estudos para a qualificação, por dividirmos ansiedades e risadas. A Cássia, Erivaldo, Karolina, Júnior Estrela e Mayara, pelos momentos de estudos, e boas conversas, bem como a Grazielle e Kledson, ótimas companhias de almoço no RU, e pelos momentos descontraídos.

Às amigas que Recife me proporcionou, Isabel Cesária e Suzilaine Cavalcante, ótimas companheiras de apartamento e de estudos (Suzilaine), pelo ótimo convívio, pelo suporte emocional que me proporcionaram nos momentos em que mais precisei (Em todo tempo ama

o amigo e para hora da angústia nasce o irmão – Pv 17:17), e pelos incontáveis momentos divertidos.

SUMÁRIO

Sumário

RESUMO GERAL	10
GENERAL ABSTRACT	12
Capítulo I	14
Introdução Geral	14
<i>Leandria momordicae</i> : Neotipificação e gama de hospedeiras	16
1 Família Cucurbitaceae	16
1.1 Distribuição e Importância	16
1.2. Aspectos Botânicos	18
1.3 Principais Doenças das Cucurbitáceas	18
2 Mancha Zonada em Cucurbitáceas	19
2.1 Importância da Doença	19
2.2 Sintomas da Mancha zonada	19
2.3. Gama de Hospedeiras de <i>Leandria momordicae</i>	20
2.4 Características Morfológicas e Culturais do Patógeno	20
2.5 Cultivo do Patógeno	21
2.6 Condições Favoráveis ao Desenvolvimento do Patógeno	21
2.7 Manejo da Doença	22
2.7.1 Medidas Culturais	22
2.7.2 Controle Químico	23
2.8 Variabilidade Genética em Isolados de <i>Leandria momordicae</i>	23
2.9 Caracterização Molecular	24
2.10 Histórico da classificação taxonômica de <i>Leandria momordicae</i>	25
Capítulo II	36
Neotipificação de <i>Leandria momordicae</i>	36
Capítulo III	73
Novas hospedeiras naturais e experimentais de <i>Leandria momordicae</i> Rangel na família Cucurbitaceae	73
Capítulo IV	91
Conclusões Gerais	91

RESUMO GERAL

Leandria momordicae é o agente etiológico da mancha zonada, importante doença das cucurbitáceas, especialmente do pepino (*Cucumis sativus*) e do chuchu (*Sechium edule*). A doença encontra-se amplamente distribuída em todo território brasileiro. Embora tenha sido descrito pela primeira vez a mais de um século, e apesar de sua importância, o patógeno nunca foi classificado taxonomicamente de maneira adequada. Além disso, não existe um isolado tipo, depositado em uma coleção micológica de referência. Essas inconsistências têm sido comentadas por muitos taxonomistas de fungos. Acredita-se que a gama de espécies hospedeiras do patógeno seja extensa, dentro da família Cucurbitaceae e muitas ainda não tenham sido relatadas. Neste sentido, o trabalho teve como objetivos: (i) classificar taxonomicamente *Leandria mormodicae*, por meio de análises de caracteres morfológicos e moleculares, sustentadas por análises filogenéticas; (ii) Depositar um isolado tipo (neótipo) de *L. momordicae* em uma coleção micológica de referência; (iii) e avaliar a reação de espécies de cucurbitáceas, convencionais e PANCs, à isolados de *L. momordicae* de modo a acrescentar informações que auxiliem nas práticas de manejo da mancha zonada. Foram realizadas observações dos caracteres morfológicos, e as análises filogenéticas foram feitas com base nas sequências das regiões genômicas ITS, LSU e SSU, utilizando os primers ITS5/ITS4, LROR/LR5 e NS1/NS4, respectivamente. Não há sequências de isolados de *L. momordicae* depositadas no Genbank. Por meio da ferramenta Blast verificou-se que as sequências obtidas apresentaram maior nível de identidade com sequências de fungos pertencentes a ordem Pleosporales, as quais foram incluídas nas análises. Verificou-se que as sequências consenso dos 31 isolados de *L. momordicae* se agruparam em um clado distinto de todos os isolados depositados no GenBank incluídos nas análises, e portanto, *L. momordice* não foi admitida em nenhuma das famílias de Pleosporales representadas. Assim, sugere-se a criação de uma nova família, Leandriaceae para abrigar *L. momordicae*. Observou-se ainda variação intraespecífica entre os isolados de *L. momordicae*, em termos de sequências das regiões genômicas analisadas. Em adição, um ex-tipo e um neotipo (DOA2157 e COAD3403, respectivamente) foram depositados no Herbário da Universidade de Viçosa (VIC). As características morfológicas dos isolados analisados assemelharam-se àquelas originalmente descritas para *L. mormodicae*, que ocorreram há mais de um século. Para os testes de gama de hospedeiras, 12 isolados de *L. momordicae* oriundos de 5 espécies (sendo 6 genótipos) de cucurbitáceas e de diferentes

localidades geográficas do Brasil foram inoculados em 11 espécies da família Cucurbitaceae (sendo 12 genótipos). Os genótipos foram avaliados quanto à reação aos isolados (resistente ou susceptível), e, à severidade da doença, por meio do tamanho das lesões (cm). Todos os genótipos foram susceptíveis a todos os isolados do patógeno. Foram registradas três novas hospedeiras experimentais de *L. momordicae*: abóbora moranga (*Cucurbita maxima*), maxixe (*Cucumis anguria*) e pepininho-do-mato (*Melothria pendula*). Também foram registradas outras duas novas hospedeiras naturais do patógeno: abobrinha (*Cucurbita pepo*) e chuchu-de-vento (*Cyclanthera pedata*). Os isolados não foram necessariamente mais agressivos às suas hospedeiras de origem, demonstrando uma não especificidade por hospedeira.

Palavras-chaves: Pleosporales, taxonomia, mancha zonada, Cucurbitaceae, gama de hospedeiras, novas hospedeiras.

GENERAL ABSTRACT

Leandria momordicae is the etiological agent of net spot, an important disease of cucurbits, especially cucumber (*Cucumis sativus*) and chayote (*Sechium edule*). The disease is widely distributed throughout Brazil. Although it was first described more than a century ago, and despite its importance, the pathogen has never been properly taxonomically classified. Furthermore, there is not a type isolate deposited in a mycological reference collection. Many fungal taxonomists have commented these inconsistencies. The range of host species for the pathogen is believed to be extensive, within the Cucurbitaceae family, and many have not yet been reported. In this sense, this work aimed to: (i) taxonomically classify *Leandria momordicae*, through analyzes of morphological and molecular characters, supported by phylogenetic analyzes; (ii) Deposit a type isolate (neotype) of *L. momordicae* in a reference mycological collection; and (iii) evaluate the reaction of cucurbit species, both conventional and PANCs, to *L. momordicae* isolates in order to add information that helps in the management practices of net spot. Observations of morphological characters were performed, and phylogenetic analyzes were performed based on the sequences of the genomic regions ITS, LSU and SSU, using the primers ITS5/ITS4, LROR/LR5 and NS1/NS4, respectively. There are no sequences of *L. momordicae* isolates deposited in Genbank. Using the Blast tool, it was found that the sequences obtained showed a higher level of identity with sequences of fungi belonging to the order Pleosporales, which were included in the analyzes. Contigs from the sequences of the 31 *L. momordicae* isolates were found to cluster in a clade distinct from all the isolates deposited in GenBank included in the analyzes, and therefore, *L. momordice* was not admitted to any of the Pleosporales families represented. Thus, it is suggested the creation of a new family, Leandriaceae to shelter *L. momordicae*. In addition, an ex-type and a neotype (DOA2157 and COAD3403, respectively) were deposited in the Herbarium of the University of Viçosa (VIC). For host range tests, 12 *L. momordicae* isolates from 5 plant species (6 genotypes) of Cucurbitaceae and from different geographic locations in Brazil were inoculated into 11 species of the Cucurbitaceae family (12 genotypes). The genotypes were evaluated for the reaction to the isolates (resistant or susceptible), and, for the severity of the disease, through the size of the lesions (cm). All genotypes were susceptible to all pathogen isolates. Three new experimental hosts of *L. momordicae* were recorded: pumpkin squash (*Cucurbita maxima*), gherkin (*Cucumis anguria*) and “pepininho-do-mato” (*Melothria pendula*). Two other new

natural hosts of the pathogen were also recorded: zucchini (*Cucurbita pepo*) and caigua (*Cyclanthera pedata*). The isolates were not necessarily more aggressive to their original hosts, demonstrating a non-host specificity.

Key-words: Pleosporales, taxonomy, net spot, host range, Cucurbitaceae, new hosts.

Capítulo I



Introdução Geral

***Leandria momordicae*: Neotipificação e gama de hospedeiras**

INTRODUÇÃO GERAL

1 Família Cucurbitaceae

1.1 Distribuição e Importância

As cucurbitáceas encontram-se amplamente distribuídas pelo mundo, embora apresentem maior ocorrência em regiões de clima tropical e subtropical (SCHAEFER; RENNER, 2011). A família Cucurbitaceae abriga aproximadamente 95 gêneros e 980 espécies. Na América tropical ocorrem cerca de 53 gêneros nativos e 325 espécies (SCHAEFER; RENNER, 2011). No Brasil, foram relatados 30 gêneros e 200 espécies (RESENDE; BORGES; GONÇALVES, 2013).

Cucurbitaceae se subdivide em duas subfamílias bem definidas, Zanonioideae e Cucurbitoideae. Nesta última, encontram-se alguns gêneros como *Citrullus*, *Cucumis*, *Cucurbita* e *Luffa*, os quais compreendem a maior parte das espécies de cucurbitáceas de importância econômica (HENEIDAK; KHALIK, 2015). Estima-se que Cucurbitaceae esteja entre as 15 famílias de hortaliças mais cultivadas no Brasil, das quais as espécies mais expressivas, são: *Cucumis melo* L. (melão), *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai (melancia), *Cucurbita moschata* Duchesne ex Lam. (abóbora), *Cucurbita maxima* Duchesne (moranga), *Cucurbita pepo* L. (abobrinha), *Cucumis sativus* L. (pepino), *Sechium edule* Jacq. (chuchu), *Cucumis anguria* L. (maxixe) (HENZ, 2009). Em um ranking das 10 hortaliças mais consumidas no Brasil em 2018, a abóbora ocupa o 6º lugar, e o chuchu o 9º, e dentre as frutas, a melancia o 3º e o melão o 9º (IBGE, 2022).

De acordo com dados da FAO (2022), a produção mundial das principais espécies de cucurbitáceas ultrapassou 255,3 milhões de toneladas em 2016. Alguns dados referentes aos volumes produzidos das principais cucurbitáceas cultivadas no Brasil apresentados a seguir foram extraídos do censo agropecuário do IBGE (2017). Foram produzidos um total de 25.126 toneladas de melão, 150.210 toneladas de melancia, 273.451 toneladas de abóbora e moranga, 158.518 de abobrinha, 27.039 toneladas de maxixe, 184.161 toneladas de pepino, 271.344 toneladas de chuchu. Todas essas hortaliças são de consumo bastante popular no Brasil, mas o maxixe é notadamente mais apreciado pelos nordestinos e nortistas. Em destaque, o pepino é um fruto que pode ser consumido com muita versatilidade, podendo ser bem utilizado em saladas, sanduíches, sopas ou em conservas. Além disso, tem uso bastante consolidado pela indústria cosmética e farmacêutica devido ao alto teor de antioxidantes que possui, o que lhe confere propriedades antienvhecimento, anticancerígena, etc (CARVALHO et al., 2013).

Quanto ao chuchu, apesar do fruto ser a parte comestível mais conhecida, os ramos e folhas tenras podem também serem consumidas, podendo ser adicionados em saladas. No México, as raízes são comercializadas para consumo (DOMINGUES et al., 2011).

A família cucurbitaceae abriga também algumas espécies de hortaliças PANC (Plantas Alimentícias Não Convencionais). A utilização de PANCs na alimentação humana remonta ao período pré-histórico. Entretanto, a maioria das pessoas não as reconhece como tal, pois foram caindo no desuso ao longo dos anos, e portanto, a produção e comércio dessas plantas e seus produtos se tornaram muito baixas (KINUPP; LORENZI, 2014). Devido à falta de conhecimento, as pessoas frequentemente relacionam essas espécies às ervas daninhas sendo, portanto, muitas vezes ignoradas ou até temidas nas lavouras. Essas espécies geralmente apresentam distribuição geográfica limitada. Apesar de muitas apresentarem consumo pouco popular, exercem importância na culinária regional e na cultura de alguns grupos populacionais, hábitos cultivados principalmente por pessoas de mais idade (MADEIRA et al., 2013; MADEIRA; KINUPP, 2016).

As PANCs por serem frequentemente rústicas, apresentam um bom nível de resistência às variações de fatores ambientais, como o excesso de chuvas, e temperaturas altas ou baixas. Essas plantas, na maioria das vezes, são pouco exigentes por insumos externos. Além disso, as PANCs possuem grande diversidade de compostos funcionais, muitas vezes resultantes de processos metabólicos fomentados pela exposição às adversidades climáticas (PASCHOAL et al., 2015). As hortaliças PANC podem ser uma alternativa interessante na agricultura familiar, tanto para a subsistência quanto para a comercialização dos seus produtos, como alimentos, insumos agroindustriais, e suplementos alimentares com propriedades nutricionais e farmacológicas (BOTREL et al., 2020). Neste sentido, algumas cucurbitáceas merecem destaque, como: abóbora d'água (*Lagenaria* spp.), Bucha (*Luffa* spp.), chuchu de vento (*Cyclanthera pedata* (L.) Schrad.), croá (*Sicana odorifera* Naudin), melão-de-são-caetano/nigauri (*Momordica charantia* L.) e quiabo-de-metro (*Trichosanthes cucumerina* L.) (YUYAMA et al., 1999; FERNANDES et al., 2005; MADEIRA et al., 2013; SOARES; GAUDIOSO, 2013; AGUIAR et al., 2014; LOPES, 2020; SILVA; SOUZA, 2020). Apesar do potencial que apresentam, são escassas as informações na literatura sobre o cultivo e manejo dessas espécies.

Como visto, a família Cucurbitaceae possui muitas espécies de importância econômica já consolidada, bem conhecidas do prato do brasileiro, como também muitas hortaliças PANCs, em sua maioria pouco conhecidas, mas com grande potencial para serem melhor exploradas. De maneira geral, os produtos das cucurbitáceas se destinam sumariamente à alimentação

humana, em alguns casos são utilizados na alimentação animal, ou ainda como ornamentais e medicinais. Em relação aos aspectos nutricionais, os frutos constituem uma importante fonte de minerais e vitaminas (principalmente A e C), na forma de carotenóides e ácido ascórbico (ROMANO et al., 2008). As sementes, possuem alto valor nutricional devido à grande quantidade de ácidos graxos insaturados (BISOGLI, 2002; FEIJÓ, 2005).

1.2. Aspectos Botânicos

As cucurbitáceas podem ser monóicas ou dióicas, apresentam plantas com hábito de crescimento diversificado, sendo a maioria trepadeira herbácea, embora existam espécies lenhosas, perenes ou anuais, raramente arbustos (*Acanthosicyos*) ou árvores (*Dendrosicyos*) (KOCYAN et al., 2007; HENEIDAK; KHALIK, 2015). O sistema radicular é diverso, variando desde um sistema superficial, laxo, ramificado, com raízes principal e secundárias delicadas, sublenhosas e lisas, a profundo e tuberoso, com raízes principal e secundárias robustas, lignificadas, fibrosas, lisas ou verrucosas (GOMES-KLEIN, 1996). As folhas, estão sempre dispostas de maneira alternas espiraladas, são simples ou compostas, frequentemente palmado-lobadas, sem estípulas e com dentes cucurbitóides, com nervuras convergindo nesses dentes e que terminam em um ápice glandular expandido e mais ou menos translúcido (LIMA, 2010). As flores são unissexuadas, actinomorfas, diclamídeas, com hipanto em flores de ambos os sexos, sépalas e pétalas (3-6, respectivamente), estames (3-5), ovário ínfero, os frutos são frequentemente bacoides ou peponídeos (SCHAEFER; RENNER, 2011).

1.3 Principais Doenças das Cucurbitáceas

As cucurbitáceas são vulneráveis ao ataque de diversos patógenos, que implicam na redução da produtividade de espécies cultivadas, acredita-se haver mais 200 doenças que as afetam (ZITTER et al., 1996). Dentre as principais doenças foliares, se destacam: míldio (*Pseudoperonospora cubensis* Berk, M.A. Curtis), oídio (*Podosphaera xanthii* U. Braun & N. Shish.), antracnose (*Colletotrichum orbiculare* Berk. & Mont.), mancha de *Cercospora* (*Cercospora* spp., *C. citrulina* Cooke), mancha de alternaria (*Alternaria cucumerina* (Ellis & Everh.) Elliott, *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl) e mancha zonada (*Leandria momordicae* Rangel) (TÖFOLI e DOMINGUES, 2018), que encontra-se descrita nos tópicos seguintes.

2 Mancha Zonada em Cucurbitáceas

2.1 Importância da Doença

No que diz respeito às doenças de etiologia fúngica, a mancha zonada ou mancha reticulada, causada pelo fungo *Leandria momordicae* Rangel, é a principal doença do pepineiro e uma das principais do chuchuzeiro, sendo a produção limitada quando as condições climáticas são favoráveis ao desenvolvimento do patógeno e os métodos de controle não forem utilizados ou não forem eficientes (MORETTO et al., 1993; REBELO 2003; REIS; FEITOSA, 2021). A doença encontra-se amplamente distribuída em praticamente todo território brasileiro (HASAGAWA, 2015). Em cultivos de pepino, em praticamente todas as regiões produtoras do Brasil, a mancha zonada tem sido considerada a principal doença da cultura (REIS; FEITOSA, 2021). Também têm sido relatados prejuízos na cultura do chuchu. Nesta cultura, a doença tem apresentado maior importância no Norte e Nordeste do país (SARMIENTO et al., 1999; CARDOSO et al., 2001; REIS; FEITOSA, 2021).

2.2 Sintomas da Mancha zonada

Os sintomas da mancha zonada se iniciam nas folhas mais velhas, progredindo para as mais jovens (HASAGAWA, 2015). Se caracterizam por pequenas manchas nas folhas, que se tornam visíveis a partir de 5 dias após infecção (BLAZQUEZ, 1983). No estágio inicial, as lesões consistem de pequenos pontos necróticos com centro amarelado, que se tornam esbranquiçado (CARDOSO et al., 2001). Com o desenvolvimento da doença, entre 7 a 10 dias após infecção, as lesões aumentam e tomam formas angulares, e entre 10 a 15 dias, em estágio avançado de infecção se tornam arredondadas, com aspecto de rede, caracterizadas por manchas de coloração branca intercaladas com manchas escuras com o passar do tempo, as lesões podem crescer e coalescer e o tecido se torna bastante quebradiço (BLAZQUEZ, 1983). Em ataques severos o limbo foliar pode ficar muito comprometido (CARDOSO et al, 2001; HASAGAWA, 2015), o que resulta na diminuição da capacidade fotossintética da planta. Conseqüentemente, leva a uma diminuição na taxa de translocação de substâncias de reserva, refletindo em menor produtividade. Os sintomas são visualizados apenas no limbo foliar, não sendo observados no pecíolo e nas hastes (HASAGAWA, 2015). Os conídios são produzidos na superfície abaxial das folhas, no centro de lesões em estado de desenvolvimento avançado, em condições de elevada umidade uma grande massa de esporos é observada (BLAZQUEZ, 1983).

Os sintomas da mancha zonada podem, muitas vezes, ser confundidos com os sintomas de outras doenças. O que levou a um diagnóstico tardio da doença no estado de São Paulo, onde

foi relatada pela primeira vez por Tokeshi & Kurosawa (1967), embora os sintomas tenham sido constatados anos antes em áreas com plantio de pepino. Entretanto, os sintomas foram atribuídos a outras doenças, como míldio (*Pseudoperonospora cubensis* (Berk, M.A. Curtis) Rostovzev), antracnose (*Colletotrichum orbiculare* (Berk. & Mont.) e mancha angular (*Pseudomonas syringae* pv. *Lacrymans* (Smith & Bryan) Young) (LOPES; SINIGAGLIA; AZEVEDO FILHO, 1999).

2.3. Gama de Hospedeiras de *Leandria momordicae*

A potencial gama de espécies hospedeiras de um patógeno pode ser, em algumas situações, previsível, tendo em vista, que geralmente, tendem a infectar espécies de plantas filogeneticamente mais relacionadas (GILBERT; WEBB, 2007; MORRIS; MOURY, 2019). Esse conceito muito provavelmente se aplica a *L. momordicae*, devido ao fato de que até o momento, este fungo ter sido relatado apenas atacando espécies da família Cucurbitaceae (REBELO 2003; REIS; FEITOSA, 2021; FARR; ROSMMAN, 2022). Na literatura algumas cucurbitáceas são frequentemente apontadas como hospedeiras desse patógeno são elas: melão-de-são-caetano, pepino, chuchu, melão e melancia, com maior ocorrências nas três primeiras (MAUBLANC; RANGEL, 1915; BLAZQUEZ, 1983; CARDOSO et al., 2001; REBELO, 2003; REBELO et al., 2005; HASEGAWA 2015; REIS; FEITOSA, 2021). Além dessas, já foram também relatadas como hospedeiras, abóbora d'água, bucha, e nabo-do-diabo (*Bryonia cretica* L. subsp. *dioica* Jacq. Tutin) (REBELO et al., 2005). Estas últimas, podem ser enquadradas em hortaliças PANCs hospedeiras de *L. momordicae*, mas, vale frisar que foram documentadas como tal, apenas por Rebelo et al. (2005), evidenciando que são escassos os registros de PANCs hospedeiras do patógeno. Isso, muito provavelmente, se deve ao fato dessas plantas serem raramente objeto de estudo. Além disso, deve-se levar em consideração que *L. momordicae* têm sido um patógeno pouco estudado ao longo dos anos, apesar da sua importância para culturas economicamente importantes, como pepino e chuchu. Diante disso, se torna evidente a necessidade da realização de pesquisas envolvendo esse patógeno, pois, acredita-se que muitas hospedeiras do fungo ainda não tenham sido relatadas.

2.4 Características Morfológicas e Culturais do Patógeno

Leandria momordicae produz micélio ramificado, muitas vezes granular, com hifas hialinas e septadas. Os conidióforos se formam nas extremidades das hifas, na maioria das vezes de formação solitária, mas podem também serem conjugados, são eretos e hialinos, possuem de 3 a 6 septos, medem de 10 a 30 µm de comprimento e de 5 a 12 µm de diâmetro. Os conídios

são diferenciados a partir da septação transversal da célula superior do conidióforo. São esféricos, muriformes, medem de 27 a 50 µm de diâmetro, são constituídos por 7 a 18 células esféricas, medindo de 5 a 12 µm de diâmetro cada. Quando jovens são hialinos, e quando maduros, marrons. Os conídios são frequentemente encontrados na superfície inferior das folhas (MAUBLANC; RANGEL, 1915; BLAZQUEZ, 1983).

As características culturais das colônias do patógeno são bastante variáveis, quanto ao aspecto do micélio, coloração e velocidade de crescimento, essas características sofrem influência de fatores como luminosidade, aeração, temperatura e meio de cultura. Mas, é comum observar variações entre isolados, mesmo quando são submetidos às mesmas condições de cultivo. Quanto ao aspecto do micélio, podem ser verticalizados ou horizontalizados, podem ter aspecto cotonoso ou ser ralo. A coloração da cultura pode ser bastante variável, branca, centro rosa-claro com bordos brancos, creme-amarelado, cinza-claro, bege. Pode ainda serem observados anéis concêntricos com diferentes cores. A velocidade de crescimento pode ser bastante variável, de 1,36 a 2,31 mm/dia (REBELO, 2003).

2.5 Cultivo do Patógeno

O isolamento e cultivo de *L. momordicae* em meio de cultura é bastante laborioso, pois este fungo, geralmente, cresce muito lentamente e produz pouca quantidade de esporos. Talvez essa seja a principal justificativa para o fato de ter sido um fungo pouco estudado ao longo dos anos. Quanto às condições ideais de cultivo de *L. momordicae*, se desenvolve na presença ou ausência de luminosidade, com temperatura entre 18 °C e 24 °C (acima disso, pode não esporular) Rebelo (2003). Esse autor avaliou o crescimento e esporulação de isolados de *L. momordicae* cultivados em diferentes meios de cultura: ASA (200 g abóbora, 20 g sacarose, 10 g ágar), BSA200 (200 g de batata, 50 g de sacarose, 10 g de ágar), BSA500 (500 g de batata, 20 g de sacarose, 10 g de ágar), CSA (200 g chuchu, 20 g sacarose, 10 g ágar), PSA (200 g plantas de pepino, 20 g sacarose, 10 g ágar) e V8 (200 ml de suco V8 Campbell Soup®, 3,2 g de CaCO₃, 16 g ágar) - a exceção do V8 que adiciona-se 0,800 L de água destilada, os demais são preparados com 1,0 L. Rebelo (2003) verificou maior crescimento micelial ao utilizar CSA e ASA, e maior capacidade de esporulação, em V8 e BSA500, em ASA, CSA e PSA, não houve esporulação.

2.6 Condições Favoráveis ao Desenvolvimento do Patógeno

A doença ocorre em condições ambientais de elevada umidade relativa do ar e temperaturas amenas (entre 18 e 25°C) (CARDOSO et al., 2001; REIS; FEITOSA, 2021). A disseminação dos propágulos ocorre principalmente através do vento. A presença de plantas de melão, melancia, abóbora, melão-se-são-caetano e outras cucurbitáceas selvagens, embora menos afetada pelo patógeno, podem constituir potencial fonte de inóculo, podendo contribuir para a ocorrência ou agravamento da doença em pepino e chuchu, por exemplo, que são os principais hospedeiras cultivadas de *L. momordicae* (CARDOSO et al., 2001).

2.7 Manejo da Doença

A doença pode ser bastante severa, principalmente nas culturas do pepino e do chuchu. Quando as condições são favoráveis ao patógeno, as plantas podem ser destruídas em um curto período, de uma a duas semanas. A escassez de conhecimento sobre os mecanismos de sobrevivência do patógeno em restos de cultura tem dificultado o manejo adequado da doença (LOPES; SINIGAGLIA; AZEVEDO FILHO, 1999; HASAGAWA, 2015; REIS, FEITOSA, 2021). O controle deve ser, sempre que possível preventivo. Porém, quando a doença já se encontra estabelecida na lavoura, deve-se adotar estratégias que promovam a redução do inóculo, de modo a diminuir a taxa de progresso da doença (HASAGAWA, 2015; REIS; FEITOSA, 2021). Medidas de controle cultural juntamente com o controle químico, constituem importantes ferramentas no manejo da mancha zonada. Embora tenham sido detectados acessos de pepino com níveis elevados de tolerância (BLAZQUEZ, 1983; MORETTO et al. 1993; LOPES; SINIGAGLIA; AZEVEDO FILHO, 1999) ou de resistência vertical (HASAGAWA 2015), ainda existe uma escassez de cultivares comerciais resistentes ao patógeno (REIS; FEITOSA, 2021).

2.7.1 Medidas Culturais

A adoção de algumas medidas culturais pode auxiliar no manejo da mancha zonada, dentre as quais se destacam: destruição de restos culturais; evitar o plantio próximo a outras cucurbitáceas hospedeiras; eliminar plantas espontâneas de cucurbitáceas, sejam cultivadas ou não, que possam abrigar o patógeno e favorecer a multiplicação de inóculo; evitar a irrigação por métodos que promovam o molhamento das folhas, de modo a não proporcionar a manutenção de um microclima favorável ao patógeno; evitar a alta densidade de plantas, visando o arejamento interno do cultivo. A rotação de culturas com plantas não hospedeiras

também tem sido um método preconizado de controle (CARDOSO, 2001; REIS; FEITOSA, 2021). Neste sentido, conhecer a gama de hospedeiras de *L. momordicae* é indispensável para uma eficiente implementação dessas práticas (FRY, 1982; REIS; FEITOSA, 2021).

2.7.2 Controle Químico

No que diz respeito ao controle químico na cultura do pepino, a utilização de fungicidas, é datada desde a década de 1970, como nas pesquisas realizadas por Robbs e Viegas (1978) visando o controle da doença por meio da aplicação de fungicidas de contato (Clorotalonil, Mancozeb e Maneb, e cúpricos), sendo mais tarde observado o uso de sistêmicos como o Tiofanato metílico como único princípio ativo, ou em misturas com óxido de cobre e Tiram, como reportados em estudos de Silva et al. (1982). Em condições epidêmicas estes fungicidas não são eficazes (KIMATI et al., 1997)

Atualmente, os fungicidas utilizados no controle da doença são em sua maioria sistêmicos e com o desenvolvimento da classe das estrobirulinas, novas formulações se tornaram disponíveis. Existem 15 fungicidas registrados para cultura do pepino. Entretanto, apenas quatro princípios ativos diferentes estão registrados para o controle da mancha zonada nesta cultura, dos quais, dois são misturas entre princípios ativos, pertencentes a duas classes distintas de fungicidas (isoflufenicidato + benzimidazol), os demais pertencem à classe das estrobilurinas, triazóis, isoflufenicidato, e benzimidazóis. Na cultura do chuchu há apenas um produto com registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, para a abóbora há dois, para a melancia e o melão há sete (AGROFIT, 2022). Alguns dos pontos negativos da utilização dos pesticidas no controle da doença é que, em alguns casos os fungicidas podem não ser eficientes, quando as condições ambientais são altamente favoráveis ao desenvolvimento do patógeno, o que pode levar a aplicações em doses e frequência exageradas. Em plantios em que são feitas colheitas diárias, como no caso de pepino para picles, aplicações frequentes não são recomendadas, por não ser respeitado o período de carência, implicando em maior risco à saúde humana (REBELO, 2003; REBELO; REBELO, 2010).

2.8 Variabilidade Genética em Isolados de *Leandria momordicae*

A variabilidade genética dos fungos é resultante da ocorrência de mecanismos como: mutação, recombinação meiótica ou reprodução sexuada, recombinação parassexual, herança citoplasmática, heterocarose e transposons. De maneira geral, a mutação é mecanismo que

mais gera variabilidade, pois é o que ocorre mais frequentemente (CASELA; GUIMARÃES, 1996). Até o momento, *L. momordicae* não possui fase sexual conhecida, portanto, pode-se inferir que à exceção da recombinação meiótica, os demais mecanismos possivelmente podem contribuir para a variabilidade do patógeno. É comum verificar anastomose de hifas em culturas de *L. momordicae*, o que sugere a ocorrência de parassexualidade na espécie (VIEGAS, 1946). Rebelo (2003) avaliou a variabilidade genética em isolados de *L. momordicae* por meio da constatação de polimorfismos em sequências de DNA utilizando a técnica de AFLP (polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado), e concluiu que haviam perfis moleculares diferentes entre os isolados de diferentes hospedeiras.

2.9 Caracterização Molecular

Os avanços no campo da biologia molecular possibilitaram o desenvolvimento e/ou primoramento das técnicas moleculares, que se tornaram importantes ferramentas para a identificação de fungos. Essas técnicas apresentam vantagens como possibilitar resultados rápidos, alta sensibilidade e reprodutibilidade, pois não sofrem influência de possíveis alterações no fenótipo do indivíduo. Por meio de caracteres moleculares, o reconhecimento de espécies leva em consideração a divergência molecular entre linhagens intimamente relacionadas com base em dados de sequência de DNA, que podem ser analisados estatisticamente para inferir relações filogenéticas. Dessa forma, são ferramentas de suma importância para investigações taxonômicas, seja para reconhecer e/ou classificar novas espécies, ou mesmo para elucidar dúvidas taxonômicas, fornecendo, portanto, uma abordagem complementar às técnicas tradicionais baseadas nos caracteres morfológicos dos indivíduos (DAS et al., 2014). Para *L. momordicae*, a realização de um estudo filogenético contemplando essa abordagem, envolvendo marcadores moleculares, possibilitaria elucidar dúvidas taxonômicas que a permeia por mais de um século, visto que até o momento, a taxonomia de *L. momordicae* foi embasada apenas em características morfológicas e culturais, não havendo sequências do genoma do patógeno disponíveis em bancos de dados (GenBank).

Dentre as técnicas moleculares mais aplicadas na identificação e classificação taxonômica de fungos, se destaca a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que permite a amplificação de fragmentos de DNA (ácido desoxirribonucleico). A técnica possibilita a identificação de organismos em diferentes níveis taxonômicos por meio da utilização de *primers* específicos. Além disso, os produtos da PCR, ao serem sequenciados fornecem subsídio à análises voltadas à compreensão das relações evolutivas entre organismos, fundamentais na

taxonomia moderna. Para realização de análises filogenéticas, recomenda-se a utilização de vários loci de genes e vários indivíduos por espécie, para que se obtenha resultados sustentados por um bom nível de confiança (HELED; DRUMMOND, 2009).

As regiões não codificantes do genoma são muito utilizadas em estudos filogenéticos, devido a grande quantidade de polimorfismos que expressam entre os táxons e que podem consistir em bons marcadores para delimitá-los (DUTRA, 2008). Neste sentido, se destaca a região ITS (espaçador interno transcrito) do DNA ribossômico, indicada como *barcode* universal para a identificação de espécie de fungos (SCHOCH et al., 2012). Embora, ITS nem sempre seja suficiente para identificar todas as espécies dentro de um gênero, delimitar espécies estreitamente relacionadas, bem como identificar espécies crípticas pertencentes a complexos de espécies (KISS, 2012). A região ITS, está localizada entre os genes 18S e 28S, e flanqueia o 5.8S. É constituída por dois por fragmentos de DNA (ITS I e ITS II) que apresentam importantes fontes de variação, que podem ser amplificados usando iniciadores universais (WHITE et al., 1990; TRIGIANO et al., 2010; DAS et al., 2014).

Os genes 18S e 28S já mencionados, que correspondem a subunidade pequena (SSU) e a subunidade grande (LSU) (VILGALYS; HESTER, 1990; TRIGIANO et al., 2010), são também bastante utilizados como marcadores filogenéticos. Embora 28S muitas vezes seja capaz de identificar ao nível de espécie, 18S se destaca mais, pelo número de sequências depositadas publicamente, nas últimas décadas, e devido a muitos primers específicos terem sido projetados para fungos.

Regiões codificadoras de proteínas como o fator de alongação da tradução 1 α (TEF -1 α), é altamente conservada e informativa entre espécies relacionadas, sendo um gene de cópia única (GEISER et al. 2004), podendo ser utilizada na identificação aos níveis intra e interespecíficos (O'DONNELL et al., 1998; CARBONE; KOHN, 1999). O gene nuclear correspondente a segunda maior subunidade da RNA polimerase II (RPB2), é muito utilizado em estudos filogenéticos envolvendo Ascomycota. Schoch et al. (2009) afirma ser este gene mais informativo que os marcadores ribossômicos.

2.10 Histórico da classificação taxonômica de *Leandria momordicae*

Apesar da importância da mancha zonada, a taxonomia de *L. momordicae* nunca foi muito bem esclarecida. *Leandria* é apontado como um gênero duvidoso por Clements e Shear (1954) e Carmichael et al. (1980), pois não havia certeza de onde *L. momordica* estava

taxonomicamente posicionada. Somado a isso, o patógeno, também não se encontra listado na publicação de Barnett e Hunter (1998).

O primeiro relato de *Leandria momordicae* ocorreu há mais de um século, em 1913. Eugênio Rangel a descreveu a partir de um isolado obtido de melão-de-são-caetano, em Niterói-RJ, Brasil. Ao descrever o fungo, o autor acrescentou: "*ajuntarei que este cogumello é parasita virulento e agressivo*". A denominação do gênero foi uma homenagem ao botânico brasileiro Frei Leandro do Sacramento, enquanto que a espécie faz menção ao gênero da espécie botânica na qual o patógeno foi observado (MAUBLANC; RANGEL, 1915). Pouco tempo depois, em 1915 e em 1916, em Indiana e Ohio (Estados Unidos) respectivamente, Osner observou a presença de uma ‘nova’ doença em pepineiros. O autor classificou a nova espécie fúngica como sendo um hifomiceto, pertencente à família Dematiaceae, e a nomeou como *Stemphylium cucurbitacearum* (OSNER, 1918). Até hoje a fase perfeita do patógeno é desconhecida. Apesar dessa família ter sido extinta, o termo ‘fungos demaciaceos’ continua sendo utilizado pelos micologistas usualmente. Os fungos descritos nesses dois relatos, apresentavam características semelhantes, no entanto, Osner, ao que parece, não tinha conhecimento do relato de Rangel quando publicou seu artigo (BLAZQUEZ, 1983).

Em 1931, Saccardo ao se referir a *L. momordicae*, mencionou que *S. cucurbitacearum* Osner era o mesmo patógeno descrito primeiramente por Rangel, prevalecendo portanto, a nomenclatura do primeiro registro (SACCARDO, 1931). Mais tarde em 1947, W. H. Burkholder examinou o espécime-tipo depositado por Osner no Herbário da Universidade de Cornell, e verificou que estava contaminado com a bactéria *Pseudomonas lachrymans* (CHUPP, 1947). Em 1973, Blazquez, relatou a doença pela primeira vez na Florida (Estados Unidos), em pepineiros. Na ocasião, o patógeno foi identificado por M. B. Ellis, e um isolado depositado no Commonwealth Mycological Institute (CMI), na Inglaterra, cuja codificação era 162659. Porém, ao pesquisar o código no HerbIMI verifica-se que não se atribui a *L. mormodicae*. Blazquez comparou as descrições (sintomas e morfologia do patógeno) feitas por Rangel e Osner, com as características por ele observadas, e concluiu que se assemelhavam mais às descritas por Rangel, por fim, Blazquez conclui o seu trabalho, sugerindo que doença fosse chamada de ‘net spot’, em substituição ao ‘*Stemphylium leafspot*’ designado por Osner.

Até o momento, os estudos taxonômicos envolvendo *L. mormodicae* foram embasados apenas em observações morfológicas e culturais. Não há registro de pesquisas dessa natureza que contem com o suporte de análises moleculares. Assim, há que se considerar, que, as características morfológicas e culturais dos microorganismos estão sujeitas à alterações em função do ambiente ao qual são expostos (PHOTITA et al., 2005). Diante disso, ao se objetivar

elucidar a classificação taxonômica de *L. momordicae*, deve-se lançar mão de uma abordagem polifásica, que combina aspectos fenotípicos e genotípicos o que torna essa classificação, robusta, com um bom nível de confiança.

Diante do exposto, os objetivos dessa tese foram: (i) classificar taxonomicamente *Leandria mormodicae* Rangel, por meio de análises de caracteres morfológicos e moleculares, sustentadas por inferência filogenéticas; (ii) Depositar um neótipo de *L. momordicae* em uma coleção micológica; (iii) Depositar sequências de DNA do patógeno no GenBak; (iii) e avaliar a reação de espécies de cucurbitáceas, convencionais e PANCs, à isolados de *L. momordicae* de modo a acrescentar informações que auxiliem nas práticas de manejo da mancha zonada.

Referências bibliográficas

AGROFIT – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2022. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 03/05/2022.

AGUIAR, A. T. E.; GONÇALVES, C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; TUCCI, M. L. S.; CASTRO, C. E. F. **Instruções Agrícolas para as Principais Culturas Econômicas**. 7^a. ed. Campinas: Instituto Agrônomo, 2014, 452 p.

ALMEIDA, D.P.F. **Cucurbitáceas hortícolas**. Universidade do Porto, p. 2, 2002.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. 1998. **Illustrated genera of imperfect fungi**. Burgess Publishing Co., Minneapolis, MN. 218 p.

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

BLAZQUEZ, C. H. Net Spot of Cucumbers. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n. 5, p. 534-536, 1983.

BOTREL, N.; FREITAS, S. C.; FONSECA, M. J. de O.; MELO, R. A. de C. e; MADEIRA, N. R. Valor nutricional de hortaliças folhosas não convencionais cultivadas no Bioma Cerrado. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 23, p. 1-8, 2020.

CARBONE, I.; KOHN, L.M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **Mycologia**, v. 91, n. 3, 553–556, 1999.

CARDOSO, M. O.; BOHER, B.; ÁVILA, A. C.; ASSIS, L. A. G. **Doenças das cucurbitáceas no estado do Amazonas**. Brasília: Embrapa Amazônia Ocidental, 2001. 14 p. (Circular Técnica, 9).

CARMICHAEL, J. W.; KENDRICK, W. B.; CONNERS, L. L.; SIGLER, L. **Genera of hyphomycetes**. Edmonton, Canadá: University of Alberta, p. 386, 1980.

CARVALHO, A. D. F.; AMARO, G. B.; LOPES, J. F.; VILELA, N. J.; MICHEREFF FILHO, M.; ANDRADE, R. **A cultura do pepino**. Brasília: Embrapa/CNPH, 2013. 18p. (Circular técnica, 113).

CASELA, C. R.; GUIMARÃES, F. B. Especialização fisiológica de fungos fitopatogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 4, p. 75-93, 1996.

CHUPP, C. *Stemphylium cucurbitacearum* on cucumber. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 31, n.12, p. 479-480, 1947.

CLEMENTS, F. E.; SHEAR, C. L. **The genera of fungi**. New York: Afner Publishing Co. p. 399, 1954.

DAS, S.; DASH, H. R.; MANGWANI, N.; CHAKRABORTY, J.; KUMARI, S. Understanding molecular identification and polyphasic taxonomic approaches for genetic relatedness and phylogenetic relationships of microorganisms. **Journal of Microbiological Methods**, v. 103, p. 80-100, 2014.

DOMINGUES, R. J.; TOFOLI, J. G.; FERRARI, J. T.; AZEVEDO FILHO, J. A. Principais doenças fúngicas do chuchuzeiro (*Sechium edule*) no estado de São Paulo. **Instituto Biológico**, São Paulo, v.73, n.1, p.5-9, 2011.

DUTRA, C. G. **Filogeografia de *Passiflora ovalis***. 2008. 45 f. Monografia (Curso de Ciências Biológicas: Ênfase Molecular, Celular e Funcional: Bacharelado) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

FAO (Food and Agriculture Organization). FAOSTAT - Food and agriculture data. 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em: 15/07/2022.

FARR, D.F.; ROSSMAN, A.Y. 2022. **Fungal Databases**, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Disponível em: <<https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>>. Acesso em: 26 abr. 2022.

FEIJÓ, S. **Técnicas para execução de experimentos sob ambiente protegido para a cultura da abobrinha italiana**. 2005. 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

FERNANDES, L. A.; ALVES, D. S.; JUNIOR RAMOS, S.; OLIVEIRA, F. A.; COSTA, C. A.; MARTINS, E. R. Nutrição mineral de plantas de maxixe-do-reino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 7, p.719-722, 2005.

FRY, W. E. **Principles of plant disease management**. Orlando: Academic Press, 1982. 186 p.

GEISER, D. M.; JIMÉNEZ-GASCOL, M. M.; KANG, S.; MAKALOWSKA, I.; VEERARAGHAVAM, N.; WARD, T. J.; ZHANG, N.; KULDAU, G.; O'DONNELL, K. FUSARIUM ID v.1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, n. 5-6, p. 473-479, 2004.

GILBERT, G. S.; WEBB, C. O. Phylogenetic signal in plant pathogen–host range. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 12, p. 4979-4983, 2007.

GOMES-KLEIN, V. L. Cucurbitaceae do Estado do Rio de Janeiro: Subtribo Melothriinae E. G. O. Muell et F. Pax. **Arquivo do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, v. 34, n. 2, p.93-172, 1996.

HASEGAWA, J. M. **Mancha mortal**. Revista Cultivar HF, 2015. Disponível em : <https://revistacultivar.com.br/artigos/mancha-mortal> Acesso em: 09 abr. 2022.

HEIDEN, G.; BARBIERI R. L.; NEITZKE, R.S. **Chaves para a identificação das espécies de abóbora (Cucurbita, Cucurbitaceae) cultivadas no Brasil**. Pelotas: Embrapa/CPACT, 2007. 31p. (Documentos, 197).

HELED, J.; DRUMMOND, A. J. Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Molecular biology and Evolution*. Chicago, v. 27, n. 3, p. 570-580, 2009.

HENEIDAK, S.; KHALIK, K. A. Seed coat diversity in some tribes of Cucurbitaceae: implications for taxonomy and species identification. *Acta Botanica Brasilica*, Brasília, v. 29, n.1, p. 129-142, 2015.

HENZ. **Hortalças**. In: HENZ, G. P.; ALCÂNTARA, F. A. **Hortas**. 1ª. ed. Coleção 500 perguntas 500 respostas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. cap. 1, p. 237.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2018. Pesquisa de Orçamentos Familiares. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/saude/24786-pesquisa-de-orcamentos-familiares-2.html?edicao=31309&t=sobre> Acesso em: 02 fev. 2022.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. SIDRA 2017: Sistema IBGE de recuperação automática [on line]. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6957#resultado>. Acesso em: 04/05/2022.

KIMATI, H.; FERNANDES, N. G.; KUROZAWA, C.; BRIGNANI NETO, F.; BETTIOL, W. **Guia de fungicidas agrícolas**. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997. 225 p. KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. p.768.

KISS, L. Limits of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences as species barcodes for fungi. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, Washington, v. 109, n. 27, p. E1811, 2012.

LIMA, L. F. P. **Estudos taxonômicos e morfológicos em Cucurbitaceae brasileiras.** 2010. 232 f. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LOPES, 2020. **Bucha vegetal é opção ecológica.** Disponível em:
<<https://portal.tce.go.gov.br/-/bucha-vegetal-e-opcao-ecologica>> Acesso: 08 abr. 2022.

LOPES, M. E. B. M.; SINIGAGLIA, C.; AZEVEDO FILHO, J. A. Controle químico da mancha zonada (*Leandria momordicae*) em pepino. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 74, p. 25-33, 1999.

MADEIRA, N. R.; KINUPP, V. F. Experiências com as plantas alimentícias não convencionais no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 37, n. 295, p. 7-11, 2016.

MADEIRA, N. R.; SILVA, P. C.; BOTREL, N.; MENDONÇA, J. L.; SILVEIRA, G. S. R.; WOODS, M. **Manual de Produção de Hortaliças Tradicionais.** 1ª. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças. 2013. 155p.

MAUBLANC, A.; RANGEL, E. Alguns fungos do Brasil, novos ou mal conhecidos. **Boletim de Agricultura**, São Paulo, v.16, p. 310-328, 1915.

MORETTO, K. C. K.; BARRETO, M.; CHURATA-MASCA, M. G. C. Avaliação de genótipos de pepino quanto à resistência à mancha zonada (*Leandria momordica*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, p. 407-411, 1993.

MORRIS, C. E.; MOURY, B. Revisiting the Concept of Host Range of Plant Pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, San Francisco, v. 57, p. 1-28, 2019.

O'DONNELL K.; KISTLER H.C.; CIGELNIK E.; PLOETZ R.C. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. **Proceedings National Academy of the Science**, (PNAS), Washington, v.95, p. 2044-2049, 1998.

OSNER, G. A. *Stemphylium* leaf spot of cucumbers. **Journal Agriculture Research**, Washington, D.C., v. 13, n. 5, p. 295-306, 1918.

PASCHOAL, V.; SOUZA, N. S. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC)**. In: CHAVES, D. F. S. (org.). **Nutrição clínica funcional: compostos bioativos dos alimentos**. São José do Rio Preto: VP Editora, 2015. p. 302-323.

PHOTITA, W.; TAYLOR, P. W. J.; FORD, R.; HYDE, K. D.; LUMYONG, S. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. **Fungal Diversity**, Mae taeng, v. 18, p. 117-133, 2005.

REBELO, A. M; REBELO, J. A. (2010). **Uso de óleos essenciais na inibição do crescimento in vitro de *Leandria momordicae***. In: 50ª Congresso Brasileiro de Química, 2010, Cuiabá. Anais [...]. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2010, p. 2.

REBELO, J. A. **Mancha reticulada (*Leandria momordica* Rangel) em cucurbitáceas**. 2003. 230 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande de Sul, Porto Alegre.

REBELO, J. A.; PORTO, M. D. M.; STUKER, H. Patogenicidade de *Leandria momordicae* em cucurbitáceas. Florianópolis: Epagri/Agropecuária Catarinense, 2005. v.8, 84-86 p. (Nota científica).

REIS, A.; FEITOSA, M.I.S. **Identificação e manejo da mancha zonada do pepino e do chuchu**. Brasília: Embrapa/CNPH, 2021. 10 p. (Comunicado Técnico, 127).

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

ROMANO, C, M.; STUMPF, E. R. T.; BARBIERI, R. L.; BEVILAQUA, G. A. P.; RODRIGUES, W. F. **Polinização manual em abóboras**. Pelotas: Embrapa/CPACT, 2008. 27 p. (Documentos Embrapa, 225).

SACARDO, P. A. **Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum**. Michigan: J.W. Edwards, v. 25, p. 849, 1931.

SARMIENTO, J. R. R.; MORETTO, K. C. K.; CHURATA-MASCA, M. G. C. Controle da pinta-preta em tomateiro e da mancha-zonada em pepino por meio de bicarbonato de sódio e óleo vegetal. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, 1999.

SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). **Taxon**, v. 60, n.1, p. 122-138, 2011.

SCHOCH, C. L.; CROUS, P. W.; GROENEWALD, J. Z.; BOEHM, E. W. A.; BURGESS, T. I.; GRUYTER, J.; HOOG, G. S.; DIXON, L. J.; GRUBE, M.; GUEIDAN, C.; HARADA, Y.; HATAKEYAMA, S.; HIRAYAMA, K.; HOSOYA, T.; HUHNDORF, S. M.; HYDE, K. D.; JONES, E. G. B.; KOHLMAYER, J.; KRUYSS, A.; LI, Y. M.; LUCKING, R.; LUMBSCH, H. T.; MARVANOVÁ, L.; MBATCHOU, J. S.; McVAY, A. H.; MILLER, A. N.; MUGAMBI, G. K.; MUGGIA, L.; NELSEN, M. P.; NELSON, P.; OWENSBY, C. A.; PHILLIPS, A. J. L.; PHONGPAICHIT, S.; POINTING, S. B.; PUJADE-RENAUD, V.; RAJA, H. A.; PLATA, E. R.; ROBBERTSE, B.; RUIBAL, C.; SAKAYAROI, J.; SANO, T.; SELBMANN, L.; SHEARER, C. A.; SHIROUZU, T.; SLIPPERS, B.; SUETRONG, S.; TANAKA, K.; VOLKMANN-KOHLMEYER, B.; WINGFIELD, M. J.; WOOD, A. R.; WOUDEBERG, J. H. C.; YONEZAWA, H.; ZHANG, Y.; SPATAFORA, J. W. A class-wide phylogenetic assessment of Dothideomycetes. **Studies in Mycology**, v. 64, p. 1–15, 2009.

SCHOCH, C.L.; SEIFERT, K.A.; HUHNDORF, S.; ROBERT, V.; SPOUGE, J.L.; LEVESQUE, C.A.; CHEN, W and Fungal Barcoding Consortium. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi **The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**, Washington, v. 109, n.16, p. 6241-6246, 2012.

SILVA, J. A.; CRUZ FILHO, J.; ZAMBOLIN, L. Avaliação de eficiência de fungicidas no controle da mancha zonada (*Leandria momordicae*) no pepino. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 7, n. 3, p. 501. 1982.

SILVA, T. D.; SOUZA, P. G. V. D. *Momordica charantia* L., uma planta medicinal e seu potencial antitumoral: uma revisão sistemática. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v. 6, n. 11, p. 92949-92962, 2020.

SOARES, A. L. R.; GAUDIOSO, T. K.; Entre o sushi e o churrasco: gastronomia, culinária e identidade étnica entre imigrantes japoneses. **Habitus**, Goiânia, v. 11, n. 1, p.77-94, 2013.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. Doenças fúngicas. Capítulo 8. 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. ISBN: 978-65-86383-01-0. Disponível em: <https://doi.org/10.7476/9786586383010.0010>

TOKESHI, H.; KUROZAWA, C. **Nova mancha foliar em pepino causada por *Leandria momordica* Rangel**. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE OLERICULTURAS DO BRASIL, 7 e 8, 1967/68. Rio de Janeiro. Resumos...Rio de Janeiro: CSOB, 1968. p.98.

TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. **Fitopatologia: Conceitos e exercícios de laboratório**. Porto Alegre: Artmed, 2010, 576 p.

VIEGAS, A. P. Alguns fungos do Brasil XIII. Hifomicetos. **Bragantia**. Campinas, v. 6. n. 8. p. 353-442, 1946.

VILGALYS, R.; HESTER, M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. **Journal of Bacteriology**, v. 172, n. 471, p. 4238-4246, 1990.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics**. In INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. PCR Protocols: A guide to Methods and Applications. San Diego: Academic Press, 1990, Cap 38, p. 315-322.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; MACEDO, S. H. M.; YUYAMA, K.; FÁVARO, D. I. T.; AFONSO, C. VASCONCELLOS, M. B. A. Composição química, elementos essenciais e não essenciais no quiabo de metro (*Trichosanthes cucumerina* L.) e pepino (*Benincasa*

hispidia (Thunb.) Cong.) da região amazônica, AM. **Rev. da UA. Série: Ciências Agrárias**, v.8, n. 1-2, p. 53-6, 1999.

ZITTER, T. A. HOPKINS, D. L.; THOMAS, C. E. Compendium of cucurbits diseases. and a new classification of the gourd family (Cucurbitaceae). **Taxon**, v. 60, p. 122–138, 1996.

Capítulo II

Neotipificação de *Leandria momordicae*

A ser submetido: **Fungal Biology**

1 **Neotipificação de *Leandria momordicae* e descrição de uma nova família em**
2 **Pleosporales: Leandriaceae**

3 Maria Isabella de S. Feitosa¹; Leonardo S. Boiteux^{1,2}; Maria Esther de N. Fonseca²; Josiene S.
4 Veloso; Danilo B. Pinho³; Marcos P. S. Câmara²; Ailton Reis^{1,2*}

5 ¹ Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-
6 900, Recife, Pernambuco, Brasil.

7

8 ² Centro Nacional de Pesquisa em Hortaliças (CNPq), Empresa Brasileira de Pesquisa
9 Agropecuária (Embrapa), 70275-970, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

10

11 ³ Instituto de Ciências Biológicas (IB), Universidade de Brasília (Unb), 70910-900, Brasília,
12 Distrito Federal, Brasil.

13

14 *Autor correspondente:

15 Endereço de E-mail: ailton.reis@embrapa.br (Ailton Reis)

16

17 **Resumo**

18 *Leandria momordicae* Rangel é o agente etiológico da mancha zonada, importante doença das
19 cucurbitáceas, especialmente do pepino (*Cucumis sativus*) e do chuchu (*Sechium edule*).
20 Embora o patógeno tenha sido descrito pela primeira vez a mais de um século, seu
21 posicionamento taxonômico nunca foi bem esclarecido. Além disso, não há um isolado tipo,
22 depositado em uma coleção micológica de referência. Neste sentido, o trabalho teve como
23 objetivos: (i) classificar taxonomicamente *L. momordicae*, por meio de análises morfológicas e
24 filogenéticas; (ii) Depositar um neótipo de *L. momordicae* em uma coleção micológica; (iii)
25 Depositar sequências de DNA do patógeno no GenBank. As análises morfológicas foram
26 realizadas por meio de observações e medições das estruturas morfológicas, e as análises
27 filogenéticas, com base nas sequências das regiões genômicas, ITS, LSU, e SSU. As
28 características morfológicas foram bastante semelhantes as descritas por Rangel (primeiro
29 relato). Não há sequências de isolados de *L. momordicae* depositadas no Genbank. Por meio
30 da ferramenta Blast do NCBI, verificou-se que as sequências obtidas apresentaram maior nível
31 de identidade com sequências de fungos pertencentes a ordem Pleosporales, as quais foram
32 incluídas nas análises. Verificou-se que todas as sequências dos 31 isolados de *L. momordicae*
33 se agruparam em um clado distinto dos demais isolados incluídos nas análises filogenéticas.

34 Portanto, *L. momordice* não foi admitida em nenhuma das famílias de Pleosporales
35 representadas. Assim, sugere-se a criação de uma nova família, Leandriaceae para abrigar *L.*
36 *momordicae*. Em adição, um ex-tipo e um neotipo (DOA2157 e COAD3403) foram
37 depositados no Herbário da Universidade Federal de Viçosa (VIC).

38

39 **Palavras-chaves:** Cucubitáceas, Pleosporales mancha zonada, taxonomia.

40

41 **Abstract**

42 *Leandria momordicae* Rangel is the etiological agent of Net Spot, an important Cucurbitaceae
43 disease, especially for cucumber (*Cucumis sativus*) and chayote (*Sechion edule*). Though the
44 pathogen was described for the first time more than a century ago, its taxonomic positioning
45 has not been clarified yet. Moreover, there is not a standard isolate, which is deposited in a
46 reference mycological collection. Thus, this work has as aims: (i) To clarify taxonomically
47 *Leandria momordicae* Rangel by morphological and phylogenetic analyses; (ii) To deposit a
48 neotype of *L. momordicae* in a mycological collection; (iii) To deposit sequences of DNA from
49 the pathogen in GenBank. The morphological analyses were made through observations and
50 measurements of morphological structures, and the phylogenetic analyses were made based on
51 the sequences of the genomic regions ITS, LSU and SSU. The morphological characteristics
52 were similar to those described by Rangel (first report). There are no sequences of *L.*
53 *momordicae* deposited in GenBank. By the use of the tool Blast, in NCBI, was verified that the
54 sequences obtained showed greater identity levels with fungal sequences of the order
55 Pleosporales, which were included in the analyses. It was seen that all sequences from the 31
56 isolates of *L. momordicae* grouped at a distinct clade from the other isolates included in the
57 phylogenetical analysis. Therefore, it is suggested the creation of a new family, Leandriaceae,
58 to include *L. momordicae*. In addition, an ex-type and a neotype (DOA2157 and COAD3403)
59 were deposited in the Federal University of Viçosa Herbarium (VIC).

60

61 **Key-words:** Cucurbits, Pleosporales, net spot, taxonomy

62

63 **1. Introdução**

64

65 *Leandria momordicae* Rangel é o agente etiológico da mancha zonada, importante
66 doença que acomete cucurbitáceas, especialmente o pepino e o chuchu. A doença encontra-se
67 amplamente distribuída no território brasileiro, ocorrendo em todas as regiões. Nas lavouras de
68 pepino localizadas no Centro-oeste, Sudeste e Sul, a mancha zonada tem sido apontada como a
69 principal doença da cultura. Prejuízos nos plantios de chuchu também têm sido relatados, sendo
70 que nesta cultura relatos indicam que a doença tem apresentado maior importância no Norte e
71 Nordeste (Sarmiento et al., 1999; Cardoso et al., 2001; Reis e Feitosa, 2021).

72 Os sintomas da doença consistem em manchas foliares angulares ou arredondadas,
73 esbranquiçadas e quebradiças, que podem coalescer, comprometendo toda extensão do limbo
74 foliar (Cardoso et al., 2001; Hasagawa, 2015; Reis e Feitosa, 2021), resultando na diminuição
75 da capacidade fotossintética da planta. Em ataques severos aos pepineiros, as plantas podem
76 morrer em uma a duas semanas. No campo, o diagnóstico da doença pode ser difícil, pois outras
77 doenças que também acometem cucurbitáceas podem apresentar quadro sintomatológico
78 parecido com o da mancha zonada, tais como o míldio (*Pseudoperonospora cubensis*),
79 antracnose (*Colletotrichum orbiculare*) e mancha angular (*Pseudomonas syringae* pv.
80 *lacrymans*) (Lopes et al., 1999; Reis e Suaste-Dzul, 2021). Esse fato, provavelmente, levou à
81 relatos mais tardios da doença, em algumas localidades, como em São Paulo, onde a doença foi
82 relatada pela primeira vez por Tokeshi e Kurosawa em 1967, embora os mesmos sintomas
83 tenham sido constatados anos antes em áreas com plantio de pepino, porém foram confundidos
84 com outras doenças (Tokeshi e Kurosawa, 1967).

85 Apesar da importância da mancha zonada, a taxonomia de *L. momordicae* nunca foi
86 muito bem esclarecida. *Leandria* é apontado como um gênero duvidoso por Clements e Shear
87 (1954) e Carmichael et al. (1980), pois não havia certeza de onde *L. momordica* estava
88 taxonomicamente posicionada. Somado a isso, o patógeno, também não se encontra listado na
89 publicação de Barnett e Hunter (1998).

90 O primeiro relato do patógeno ocorreu há mais de um século, em 1913, quando, Eugênio
91 Rangel o descreveu a partir de um isolado obtido de melão-de-são-caetano (*Momordica*
92 *charantia* L.), em Niterói-RJ, Brasil. A denominação do gênero foi uma homenagem ao
93 botânico brasileiro Frei Leandro do Sacramento, enquanto que a espécie faz menção ao gênero
94 da espécie botânica na qual o patógeno observado (Maublanc e Rangel, 1915). Pouco tempo
95 depois, em 1915 e em 1916, em Indiana e Ohio (Estados Unidos) respectivamente, Osner
96 observou a presença de uma ‘nova’ doença em pepineiros. O autor classificou a nova espécie
97 fúngica como sendo um hifomiceto, pertencente à família Dematiaceae, e a nomeou de
98 *Stemphylium cucurbitacearum* (Osner, 1918). Até hoje a fase sexual do patógeno é

99 desconhecida. Apesar dessa família ter sido extinta, o termo ‘fungos demaciaceos’ continua
100 sendo utilizado pelos micologistas usualmente. Os fungos descritos nesses dois relatos,
101 apresentavam características semelhantes, no entanto, Osner, ao que parece, não tinha
102 conhecimento do relato de Rangel quando publicou seu artigo (Blazquez, 1983).

103 Em 1931, Saccardo ao se referir a *L. momordicae*, menciona *Stemphylium*
104 *cucurbitacearum* Osner como sendo o mesmo patógeno descrito primeiramente por Rangel,
105 prevalendo portanto, a nomenclatura do primeiro registro (Saccardo, 1931). Mais tarde em
106 1947, W. H. Burkholder examinou o espécime-tipo depositado por Osner no Herbário da
107 Universidade de Cornell, e verificou que estava contaminado com a bactéria *Pseudomonas*
108 *lachrymans* (Chupp, 1947). Em 1973, Blazquez, relatou a doença pela primeira vez na Florida
109 (Estados Unidos), em pepineiros. Na ocasião, o patógeno foi identificado por M. B. Ellis, e um
110 espécime foi depositado no Commonwealth Mycological Institute (CMI), na Inglaterra, cuja
111 codificação era 162659, embora, ao pesquisar o código no HerbIMI, verifica-se que não se
112 atribui a *Leandria mormodicae*. Blazquez comparou as descrições (sintomas e morfologia do
113 patógeno) feitas por Rangel e Osner, com as características por ele observadas, e concluiu que
114 se assemelhavam mais às descritas por Rangel, por fim, Blazquez conclui o seu trabalho,
115 sugerindo que doença fosse chamada de ‘net spot’, em substituição ao ‘*Stemphylium leafspot*’
116 designado por Osner.

117 Até o momento, os estudos taxonômicos envolvendo *L. mormodicae* foram embasados
118 apenas em observações morfológicas e culturais. Não há registro de pesquisas dessa natureza
119 que contem com o suporte de análises moleculares. Assim, há que se considerar, que, as
120 características morfológicas e culturais dos microorganismos estão sujeitas às alterações em
121 função do ambiente ao qual são expostos (Photita et al., 2005). Neste sentido, as técnicas
122 moleculares possuem a vantagem de serem altamente sensíveis e não sofrerem influência de
123 alterações no fenótipo do indivíduo. Dentre essas técnicas, se destaca a PCR (Reação em Cadeia
124 da Polimerase), que permite a amplificação de fragmentos de DNA (ácido desoxirribonucleico).
125 Esta técnica possibilita a identificação de organismos em diferentes níveis taxonômicos por meio
126 da utilização de primers específicos. Além disso, os produtos da PCR, ao serem sequenciados
127 fornecem subsídio à análises voltadas à compreensão das relações evolutivas entre organismos,
128 fundamentais na taxonomia moderna. Dessa maneira, as técnicas moleculares, possibilitam uma
129 abordagem complementar às técnicas tradicionais, permitindo a identificação e classificação
130 taxonômica dos fungos de maneira mais precisa (Das et al., 2014). Para *L. momordicae*, esse
131 tipo de abordagem possibilitaria elucidar as dúvidas taxonômicas que a permeia por mais de
132 um século.

133 Dessa forma, o objetivo desse trabalho esclarecer o posicionamento taxonômico de *L.*
 134 *mormodicae*, por meio de análises dos caracteres morfológicos e de análises filogenéticas.

137 2. Material e Métodos

139 2.1 Obtenção e armazenamento dos isolados

140 Folhas de espécies de cucurbitáceas (cultivadas ou silvestres) com sintomas de mancha
 141 zonada foram coletadas em áreas produtoras de cucurbitáceas no Centro-oeste, Nordeste,
 142 Sudeste e Sul do Brasil (Figura 1).



152 **Figura 1:** Sintomas de mancha zonada. A: niguari. B. melão-de-são-caetano. C. Chuchu. D.
 153 pepino.

154 As folhas foram conduzidas ao Laboratório de Fitopatologia da Empresa Brasileira de
 155 Pesquisa Agropecuária (Embrapa) – Centro de Pesquisa Embrapa Hortaliças (CNPq), em
 156 Brasília-DF, Brasil, onde foram examinadas em lupa estereoscópica. Ao serem constatados a
 157 presença de esporos com aspecto morfológico típico de *L. mormodicae*, realizou-se os
 158 isolamentos, pelo método direto e monospórico, onde, os esporos visualizados foram retirados
 159 diretamente das lesões e individualmente transferidos para placas contendo meio ágar-água
 160 (16g de ágar e 1000 ml de água destilada). Após 48h do isolamento, ao se observar a germinação
 161 do esporo, este foi transferido para placa de Petri contendo meio V8 ágar (200 ml de suco V8
 162 Campbell Soup®, 3,2 g de CaCO₃, 16 g ágar e 800 ml de água destilada) (Tuite, 1969), para
 163 estimular o desenvolvimento do patógeno. As placas foram incubadas em câmara germinadora
 164 BOD (Biochemical Oxygen Demand), à 18°C, e fotoperíodo de 12/12 h (claro/escuro).

165 Com aproximadamente 20 dias de cultivo, os isolados foram preservados de duas
 166 formas, em tubos contendo água destilada esterilizada (ADE) e em tubos contendo glicerol a

167 35%, mantidos em câmara fria (10°C) e em ultrafreezer (-80°C), respectivamente. Na tabela 1
 168 estão contidos todos os isolados obtidos, com as respectivas informações: código do isolado,
 169 local de coleta, hospedeiro e ano de coleta.

170

171 **Tabela 1.** Informações dos isolados de *Leandria*, obtidos de plantas de cucurbitáceas em quatro
 172 macrorregiões geográficas do Brasil.

Isolado	Local de coleta	hospedeiro	Ano de coleta
EH2555	Vargem Bonita-DF	nigauri (<i>Momordica charantia</i> L.)	2019
EH2606	Jaguaquara-BA	pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	2019
EH2608	Jaguaquara-BA	chuchu (<i>Sechium edule</i> Sw.)	2019
EH2609	Jaguaquara-BA	chuchu (<i>Sechium edule</i> Sw.)	2019
EH2616	Jaguaquara-BA	pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	2019
EH2525	Vitória de Santo Antão-PE	melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i> L.)	2019
EH2626	Vitória de Santo Antão-PE	melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i> L.)	2019
EH2629	Camocim de São Félix-PE	abobrinha (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	2019
EH2669	Brazlândia-DF	chuchu (<i>Sechium edule</i> Sw.)	2020
EH2670	Brazlândia-DF	chuchu (<i>Sechium edule</i> Sw.)	2020
EH2672	Ceilândia-DF	pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	2020
EH2673	Brazlândia-DF	chuchu (<i>Sechium edule</i> Sw.)	2020
EH2674	Brazlândia-DF	melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i> L.)	2020
EH2675	Ceilândia-DF	pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	2020
EH2676	Ceilândia-DF	pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	2020
EH2677	Ceilândia-DF	pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	2020
EH2678	Brazlândia-DF	melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i> L.)	2020
EH2714	Recanto das Emas-DF	nigauri (<i>Momordica charantia</i> L.)	2021
EH2715	Recanto das Emas-DF	nigauri (<i>Momordica charantia</i> L.)	2021
EH2716	Recanto das Emas-DF	nigauri (<i>Momordica charantia</i> L.)	2021
EH2717	Gama-DF	chuchu-de-vento (<i>Cyclanthera pedata</i> (L.) Scharad)	2021
EH2718	Gama-DF	chuchu-de-vento (<i>Cyclanthera pedata</i> (L.) Scharad)	2021
EH2719	Gama-DF	chuchu-de-vento (<i>Cyclanthera pedata</i> (L.) Scharad)	2021
EH2720	Gama-DF	chuchu-de-vento (<i>Cyclanthera pedata</i> (L.) Scharad)	2021
EH2721	Gama-DF	chuchu-de-vento (<i>Cyclanthera pedata</i> (L.) Scharad)	2021
EH2722	Gama-DF	chuchu-de-vento (<i>Cyclanthera pedata</i> (L.) Scharad)	2021
EH2803	Santa Maria do Jetibá-ES	chuchu (<i>Sechium edule</i> Sw.)	2021
EH2804	Santa Maria do Jetibá-ES	chuchu (<i>Sechium edule</i> Sw.)	2021
EH2805	Tijucas-SC	melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i> L.)	2021
EH2806	Tijucas-SC	melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i> L.)	2021
EH2807	Tijucas-SC	melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i> L.)	2021

173

174

175 2.2 Caracterização morfológica

176 Foram realizadas análises morfológicas e morfométricas com base na observação dos
 177 conídios, conidióforos, células conidiogênicas e hifas do patógeno. Nesse sentido, foram

178 preparadas culturas do fungo pela técnica de microcultivo, de modo a possibilitar a observação
179 detalhada de estruturas íntegras. O preparo das microculturas ocorreu da seguinte maneira: em
180 uma placa de Petri contendo meio V8 CaCO₃ ágar, foram recortados quatro pequenos
181 quadrados (menor que uma lamínula), que foram dispostos em pontos equidistantes da placa, e
182 em cada um lados do quadrado foram depositados uma pequena quantidade de crescimento
183 fúngico, e sobre o quadrado foi disposta uma lamínula esterilizada, sob a qual cresceria o
184 patógeno. Oito dias após constante crescimento, as lamínulas foram removidas cuidadosamente
185 das placas com auxílio de uma pinça, e colocadas sobre lâminas de vidro contendo uma gota de
186 lactoglicerol. Após a preparação da lâmina, a cultura foi visualizada em microscópio óptico
187 com câmara acoplada conectado a um computador, onde foi realizada a captura das imagens
188 utilizando o programa Imaging Processing Analising System Leica ® Qwin. Foram
189 fotografados pelo menos 30 exemplares de cada estrutura, que tiveram medidas mensuradas
190 utilizando o software Leica® LAS EZ. As características observadas através das análises foram
191 comparadas às descrições documentadas na literatura para o patógeno (Maublanc e Rangel,
192 1915).

193

194 **2.3 Preparo e depósito do neótipo**

195 O isolado EH2678 foi cultivado em meio V8 ágar (mantido nas mesmas condições
196 descritas no tópico 2.1). Após 20 dias de crescimento, culturas do isolado foram recortadas
197 junto com o meio de cultura, e coladas em moldes circulares confeccionados em papelão, sendo
198 mantidas em caixas gerbox contendo sílica-gel, para favorecer o processo de secagem das
199 culturas. Após esse processo, foram enviadas ao Herbário da Universidade de Viçosa (VIC) de
200 onde receberam a codificação VIC4754. Junto com as culturas secas foram também enviadas
201 para depósito, culturas do isolado preservadas em ADE e em Glicerol, DOA 2157 e COAD
202 3403, respectivamente.

203

204 **2.4 Extração do DNA**

205 Todos os isolados previamente preservados (Tabela 1), foram repicados em meio V8
206 ágar, e incubados nas condições mencionadas no tópico 2.1. Após esse período, quando havia
207 micélio suficiente, realizou-se a extração do DNA dos isolados pelo método de Dellaporta
208 (1983) modificado por Boiteux (1999). Inicialmente, em câmara de fluxo laminar, realizou-se
209 a raspagem do micélio com auxílio de bisturi, e o transferiu para microtubo de 2,0 mL, onde
210 foram colocadas duas esferas de carboneto de tungstênio de 3mm, em seguida, foram
211 adicionados 1 mL de tampão de extração (50 mM EDTA pH 8,0; 100 mM Tris-HCl pH 8,0;

212 400 mM de NaCl e 10 mM de β -Mercaptoetanol) e 0,14 mL de dodecil sulfato de sódio a 10%
213 (SDS). Posteriormente, os tubos foram colocados em um moinho de esferas TissueLyser II,
214 Qiagen® para triturar o micélio. As amostras foram submetidas a 3 ciclos de agitação de 3
215 minutos cada. Posteriormente, as amostras foram levadas ao ultrafreezer (-80°C) por 15
216 minutos, e depois para o banho-maria (65°C) por 15 minutos, em seguida, adicionou-se 0,25
217 mL de acetato de potássio 5 mM, e foram agitadas em vortex por 20 segundos. Outra vez,
218 foram colocadas no ultrafreezer, por 8 minutos, e depois foram centrifugadas por 15 minutos a
219 9000 RPM. Em seguida, o sobrenadante (0,9 mL) foi transferido para um microtubo contendo
220 0,54 mL de isopropanol, e as amostras foram homogenizadas no vortex e postas no ultrafreezer
221 por 8 minutos. Posteriormente, as amostras foram submetidas a centrifugação por 10 minutos a
222 14000 RPM, após esse processo, o sobrenadante foi descartado, e o *pellet* formado no fundo
223 do tubo foi lavado com etanol 70% (0,6 mL) por 3 vezes, em 3 ciclos de centrifugação por 2
224 minutos a 14000 RPM. As amostras (*pellet*) foram colocadas para secar em câmara de fluxo
225 por 4 horas, e posteriormente foram ressuspensas em TE com RNase (0,1 mL), sendo as
226 amostras postas em banho-maria por 1 h a 37°C, e em seguida armazenadas em freezer a -20°C.
227 A qualidade dos DNAs extraídos foi avaliada em gel de agarose (1%).

228

229 **2.5 Amplificação e purificação do DNA**

230 Por meio de reações de PCR foram amplificadas três regiões gênicas de todos os
231 isolados, correspondentes ao espaçador interno transcrito (ITS rDNA), a subunidade grande do
232 ribossomo (LSU rDNA) e a subunidade pequena do ribossomo (SSU rDNA). Para amplificação
233 de ITS foram utilizados os primers ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS4
234 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (WHITE et al. 1990), para LSU foram LROR (5'-
235 ACCCGCTGAACTTAAGC-3') e LR5 (5'-ATCCTGAGGGAACTTC-3') (VILGALYS;
236 HESTER, 1990), e para SSU, NS1 (5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC-3') e NS4 (5'-
237 CTTCCGTC AATTCCTTTAAG -3') (WHITE et al., 1990). Em cada reação de PCR continham
238 25 μ L, composto por: 17,05 μ L de água ultrapura (Milli-Q®), 2,5 μ L de tampão 10x, 0,75 μ L
239 de MgCl₂ (50mM), 0,5 μ L de dNTP (10 mM) 0,2 μ L de Taq polimerase (5U/ μ L)
240 (Invitrogen®), 1,0 μ L de cada primer (10 μ M) e 2 μ L de DNA genômico (20 ng). As
241 amplificações foram realizadas em um termociclador Bio-Rad® T100™, programado da
242 seguinte maneira: desnaturação inicial à 95°C por 3 minutos, seguida de 35 ciclos de
243 desnaturação a 95 °C por 30 segundos, anelamento a 55 °C por 50 segundos e extensão a 72 °C
244 por 1,50 minutos, e extensão final de 72 °C por 10 minutos. Posteriormente, os produtos da
245 PCR foram corados com Gel Red® e visualizados em gel de agarose (1%), após eletroforese

246 em tampão 0,5x TBE (Tris-Ácido Bórico-EDTA), e registrado em fotodocumentador L-PIX-
247 TOUCH (Loccus ®). Os amplicons obtidos foram purificados utilizando o Kit PureLink
248 (Invitrogen ®), e posteriormente sequenciados pelo método de Sanger et al., (1977).

249

250 **2.6 Alinhamento das sequências e análises filogenéticas**

251 As leituras das sequências foram analisadas, e as sequências de consenso foram
252 montadas usando o pacote Staden (Staden et al., 1998). As sequências geradas para cada região
253 do gene foram submetidas a pesquisa no banco de dados de nucleotídeos GenBank do NCBI
254 utilizando a ferramenta Blast com a finalidade de identificar sequências intimamente
255 relacionadas. Sequências representando ex-tipos e sequências relacionadas publicadas foram
256 recuperadas do GenBank. Os alinhamentos de sequências de um único gene foram estimados
257 usando o programa online MAFFT v.7 ([http:// mafft. cbrc. jp/align ment/ server/ large. html](http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/large.html))
258 (KATOH e TOH 2013; KATOH et al., 2019), usando o G- Estratégia INS-i com parâmetros
259 padrão para abertura e extensão de lacunas e matriz de pontuação de 200PAM / $\kappa=2$
260 nucleotídeos. Regiões de alinhamento não confiáveis foram filtradas mascarando resíduos com
261 pontuações abaixo do ponto de corte mais baixo usando GUIDANCE2
262 (<http://guidance.tau.ac.il/>) (SELA et al., 2015), e as pontuações de confiança de alinhamento
263 foram calculadas sob os seguintes parâmetros: MAFFT como algoritmo MSA; max-
264 iterate=1000; método de alinhamento par a par=par global; 100 réplicas de bootstrap. Sempre
265 que necessário, a otimização manual dos alinhamentos resultantes foi realizada usando MEGA
266 7 (KUMAR et al., 2016). Os genes foram concatenados e particionados em matrizes
267 multigênicas usando SequenceMatrix v.1.8 (VAIDYA et al., 2011). As relações filogenéticas
268 para alinhamentos de gene único e concatenados foram inferidas usando Máxima
269 Verossimilhança (ML) e Inferência Bayesiana (BI). Alinhamentos de cada gene foram
270 combinados e particionados para formar uma supermatriz concatenada usando SequenceMatrix
271 1.8 (VAIDYA et al., 2011), onde as sequências ausentes foram codificadas como dados
272 ausentes.

273 As análises de ML foram realizadas usando IQ-TREE v. 2.1.2 (NGUYEN et al., 2015).
274 Os modelos de substituição de melhor ajuste foram selecionados pelo ModelFinder
275 (KALYAANAMOOORTHY et al., 2017; MINH et al., 2020) de acordo com o Bayesian
276 Information Criterion (BIC). A confiabilidade dos suportes de ramificação foi inferida usando
277 o teste de razão de verossimilhança aproximada de Shimodaira-Hasegawa (SH-aLRT-Guindon
278 et al. 2010) e o suporte de bootstrap ultrarrápido (UFboot) (MINH et al., 2013; HOANG et al.,
279 2017) com 1000 réplicas. Análises adicionais de ML foram realizadas usando RAxML-HPC2

280 v8.2.12 (STAMATAKIS, 2014) para suporte de inicialização rápida (RAxML-BS),
 281 implementado no CIPRES Science Gateway (<https://www.phylo.org/portal2/home.action>) (MILLER et al., 2010). As buscas em árvore de ML foram realizadas com 1000
 282 pseudoreplicatas (-m GTRGAMMA -p 12345 -k -f a -N 1000 -x 12345) sob o modelo GTR-
 283 GAMMA.
 284 GAMMA.

285 As análises de BI foram conduzidas no MrBayes 3.2.6 (RONQUIST et al., 2012)
 286 também implementados no CIPRES Science Gateway (MILLER et al., 2010). MrModeltest 2.3
 287 (NYLANDER, 2004) que foi usado para determinar o modelo de substituição de DNA
 288 apropriado usando o Critério de Informação de Akaike (AIC). Quatro cadeias de Markov Chain
 289 Monte Carlo (MCMC) foram conduzidas por 5×10^7 gerações, com amostragens a cada 1000
 290 gerações. A estacionaridade e convergência das cadeias MCMC Bayesianas foram verificadas
 291 usando Tracer v 1.5 (RAMBAUT e DRUMMOND, 2010), e as probabilidades posteriores (PP)
 292 foram calculadas após descartar os primeiros 25% de gerações como burn-in. Os clados foram
 293 considerados bem suportados quando suporte ML bootstrap (≥ 70 para RAxML-BS; UFboot \geq
 294 95 e SH-aLRT ≥ 80) e BI-PP $\geq 0,95$.

295 As árvores filogenéticas foram visualizadas no FigTree v1.4.3 (RAMBAUT, 2012) e
 296 editadas no software Adobe Illustrator CS6 (Adobe Systems, EUA).

297

298 3. Resultados

299

300 3.1 Análises filogenéticas

301 As sequências de consensus obtidas para cada gene (ITS, LSU e SSU) dos 31 isolados
 302 de *L. momordicae*, mostraram alta similaridade com espécies pertencentes às famílias da ordem
 303 Pleosporales quando comparadas à pesquisa no banco de dados do GenBank por meio da
 304 ferramenta Blastn. As sequências geradas neste estudo foram depositadas no GenBank. Na
 305 Tabela 2 encontram-se as informações das sequências dos isolados incluídos nas análises
 306 filogenéticas, tanto os obtidos do GenBank como dos isolados de *L. momordicae* depositados
 307 no banco de dados. A classificação filogenética dos novos táxons foi realizada por meio da
 308 análises dos genes individuais e do dataset concatenado.

309

310 Tabela 2. Sequências dos isolados utilizados nas análises filogenéticas obtidas e depositadas no
 311 GenBank.

Taxon	Strain/Isolate number	SSU	LSU	ITS
<i>Aigialus grandis</i>	BCC 20000	GU479739	GU479775	-
<i>Stagonospora perfecta</i>	CBS 135099		KF251761	KF251258

<i>Alfoldia vorosii</i>	CBS 145501T	MK589346	MK589354	JN859336
<i>Alternaria elegans</i>	CBS 109159T	KC584527	KC584271	KC584195
<i>Alternariaster helianthi</i>	CBS 327.69T	KC584627	KC584369	KC609335
<i>Anniculicola aquatica</i>	MFLUCC 16-1123T	MK106108	MK106096	-
<i>Amorocoelephoma cassiae</i>	MFLUCC 17-2283T	NG_065775	MK347956	MK347739
<i>Amorosia littoralis</i>	-	AM292056	AM292055	AM292047
<i>Anastomitrabeculia didymospora</i>	MFLU 20-0694 T	MW412977	MW412978	MW413900
<i>Anastomitrabeculia didymospora</i>	MFLU 20-0695	MW413898	MW413899	MW413897
<i>Anteaglonium gordoniae</i>	MFLUCC 17-2431T	NG_065778	NG_066312	NR_163338
<i>Aquasubmersa japonica</i>	HHUF 30469T	NG_062426	NG_057138	NR_154739
<i>Aquasubmersa mircensis</i>	MFLUCC 11-0401T	NG_061141	NG_042699	JX276954
<i>Astrosphaeriella fusispora</i>	MFLUCC 10-0555	KT955443	KT955462	-
<i>Astrosphaeriella stellata</i>	MFLUCC10-0095	JN846741	JN846720	JN846709
<i>Atrocalyx acutisporus</i>	KT 2436T	LC194299	LC194341	LC194475
<i>Bambusicola massarinia</i>	MFLUCC 11-0389T	JX442041	JX442037	JX442033
<i>Berkleasium crunisia</i>	BCC 17023	-	DQ280271	DQ280265
<i>Berkleasium typhae</i>	BCC 12536	-	DQ280275	DQ280264
<i>Bimuria novae-zelandiae</i>	CBS 107.79	AY016338	AY016356	MG813173
<i>Brevicollum hyalosporum</i>	MFLUCC 17-0071T	MG602202	MG602200	MG602204
<i>Byssothecium circinans</i>	CBS 675.92	GU205235	AY016357	OM337536
<i>Camarographium koreanum</i>	CBS 117159T		JQ044451	JQ044432
<i>Coniothyrium multiporum</i>	CBS 353.65		MH870247	MH858605
<i>Coniothyrium palmarum</i>	CBS 400.71	EU754054	MH871954	MH860184
<i>Coniothyrium palmarum</i>	CBS 758.73	EU754055	EU040225	
<i>Crassiparies quadrisporus</i>	HHUF 30409T	LC100017	LC100025	NR_148185
<i>Crassiperidium octosporum</i>	MAFF 246406	LC373092	LC373116	LC373104
<i>Crassiperidium octosporum</i>	MAFF 242971T	NG_065689	NG_066389	NR_161016
<i>Crassoascoma potentillae</i>	CGMCC 3.20483 T	OK161236	OK161257	OK161240
<i>Cryptoclypeus ryukyensis</i>	KT 3534T	LC194305	LC194347	LC194481
<i>Cryptocoryneum japonicum</i>	HHUF 30482T	NG_065118	NG_059035	NR_153938
<i>Cryptocoryneum pseudorilstonei</i>	CBS 113641T	LC194322	NG_059036	NR_153941
<i>Cucurbitaria berberidis</i>	CBS 363.93	GQ387545	GQ387606	JF740191
<i>Cyclothyriella rubronotata</i>	CBS 141486T	NG_061252	KX650507	NR_147651
<i>Cyclothyriella rubronotata</i>	CPC 27604	-	MH107933	MH107886
<i>Decaisnella formosa</i>	BCC 25616	GQ925833	GQ925846	-
<i>Delitschia chaetomioides</i>	SMH 3253.2	-	GU390656	-
<i>Delitschia winteri</i>	AFTOL-ID 1599	DQ678026	DQ678077	-
<i>Dendryphion fluminicola</i>	MFLUCC 17-1689T	-	MG208141	NR_157490
<i>Didymella exigua</i>	CBS 183.55T	GU296147	MH868977	MH857436
<i>Didymellocamarosporium tamaricis</i>	MFLUCC 14-0241T	KU848182	KU848183	
<i>Didymosphaeria rubi-ulfifolii</i>	MFLUCC 14-0023	KJ436588	KJ436586	MK646049
<i>Dothidothia negundinicola</i>	MFLUCC 16-1157	MK751760	MK751815	MK751725
<i>Dothidothia robiniae</i>	MFLUCC 16-1175T	MK751762	MK751817	MK751727
<i>Fenestella mackenziei</i>	MFLUCC 16-1451T	KY563077	KY563074	KY563071
<i>Fissuroma calami</i>	MFLUCC 13-0836T	NG_062430	MF588993	-
<i>Flammeascoma bambusae</i>	MFLU 11-0143T	KP753952	NG_059553	NR_132915
<i>Fuscostagonospora cytisi</i>	MFLUCC 16-0622T	KY770977	KY770978	

<i>Fuscostagonospora sasae</i>	CBS 139687	AB797258	AB807548	
<i>Fusculina eucalypti</i>	CBS 120083T	-	DQ923531	DQ923531
<i>Fusculina eucalyptorum</i>	CBS 145083T	-	MK047499	NR_161140
<i>Gordonomyces mucovaginus</i>	CBS 127273T	-	NG_057941	MH864326
<i>Halobyssothecium obiones</i>	MFLUCC 15-0381T	MH376745	MH376744	MH377060
<i>Halothia posidoniae</i>	BBH 22481T	GU479752	GU479786	-
<i>Hermatomyces iriomotensis</i>	HHUF 30518	LC194325	LC194367	LC194483
<i>Hermatomyces krabiensis</i>	MFLUCC 16-0249	KX525746	KX525742	KX525750
<i>Hermatomyces trangensis</i>	BCC80741T	KY790602	KY790600	KY790598
<i>Heterosporicola chenopodii</i>	CBS 448.68T	EU754088	EU754187	FJ427023
<i>Hongkongmyces pedis</i>	HKU35T	KF314117	NG_056287	NR_149338
<i>Hypsostroma caimitalense</i>	GKM1165	-	GU385180	-
<i>Hypsostroma saxicola</i>	SMH5005	-	GU385181	-
<i>Latorua caligans</i>	CBS 576.65		KR873266	KR873232
<i>Lentithecium clioninum</i>	KT1149AT	AB797250	AB807540	LC014566
<i>Lepidosphaeria nicotiae</i>	AFTOL-ID 1576	-	DQ678067	-
<i>Leptosphaeria cichorium</i>	MFLUCC 14-1063T	KT454728	KT454712	KT454720
<i>Leptospora chromolaenae</i>	MFLUCC 17-1421T	MN994598	MN994552	MN994575
<i>Libertasomyces platani</i>	CPC 29609 T	-	KY173507	KY173416
<i>Libertasomyces quercus</i>	CBS 134.97 T	-	DQ377883	KY929152
<i>Ligninsphaeria jonesii</i>	GZCC 15-0080	-	KU221038	-
<i>Ligninsphaeria jonesii</i>	MFLUCC 15-0641	-	NG_059642	-
<i>Lignosphaeria thailandica</i>	MFLUCC 11-0376T	-	KP888645	KP899139
<i>Lindgomyces cigarospora</i>	G619	KX655805	KX655804	KX655794
<i>Lindgomyces ingoldianus</i>	ATCC 200398	NG_016531	AB521736	NR_119938
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2555)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2606)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2608)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2609)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2616)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2625)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2626)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2629)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2669)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2670)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2672)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2673)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2674)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2675)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2676)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2677)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2678)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2714)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2615)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2716)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2717)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2718)	-	-	-	-

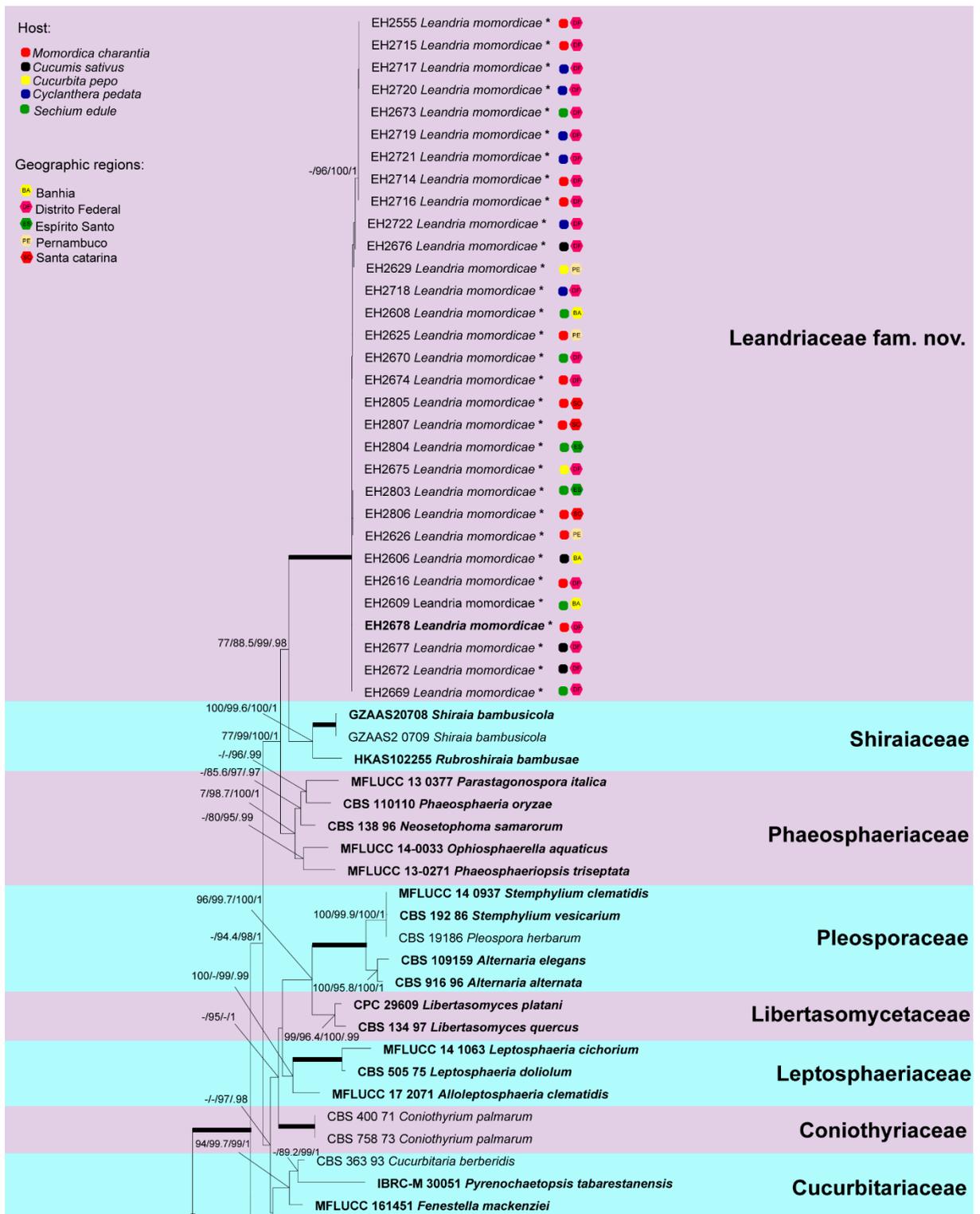
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2719)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2720)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2721)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2722)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2803)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2804)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2805)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2806)	-	-	-	-
<i>Leandria momordicae</i> (EH-2807)	-	-	-	-
<i>Longicorpus striataspora</i>	MFLUCC 18-0267T	MK035973	MK035988	MK035966
<i>Longiostiolum tectonae</i>	MFLUCC 12-0562T	KU712459	KU764700	KU712447
<i>Lophiostoma macrostomum</i>	KT508	AB618691	AB619010	-
<i>Lophiotrema eburnoides</i>	KT 1424-1	LC001706	LC001707	LC001709
<i>Macrodiplodiopsis desmazieri</i>	CBS 140062=CPC:24971T		NG_058182	NR_132924
<i>Magnicamarosporium iriomotense</i>	HHUF 30125T	NG_060999	NG_059389	NR_153445
<i>Massaria gigantisporea</i>	CBS125593T	HQ599447		HQ599397
<i>Massaria inquinans</i>	WU 30527T	HQ599444		HQ599402
<i>Massarina eburnea</i>	CBS 473.64	AF164367	GU301840	AF383959
<i>Massarioramusclicola chiangraiensis</i>	MFLUCC 17-2240 T	MH040229	MH040228	MH040227
<i>Mauritiana rhizophorae</i>	BCC 28866T	GU371832	GU371824	
<i>Melanomma japonicum</i>	MAFF 239634	NG_065122	NG_060360	NR_154215
<i>Melanomma pulvis-pyrius</i>	CBS 124080T	GU456302	GU456323	
<i>Misturatosphaeria aurantiacinetata</i>	GKM 1238 T		GU385173	
<i>Multiseptospora thailandica</i>	MFLUCC 11-0183T	KP753955	NG_059554	NR_148080
<i>Murispora galii</i>	MFLUCC 13-0819T	KT709182	KT709175	KT736081
<i>Mytilinidion acicola</i>	EB 0349T	GU323185	GU323209	-
<i>Mytilinidion californicum</i>	EB 0385T	GU323186	GU323208	-
<i>Neoaquastroma bauhiniae</i>	MFLUCC 16-0398T	NG_070696	NG_067814	NR_165217
<i>Neastrophaeriella krabiensis</i>	MFLUCC 11-0025T	JN846739	JN846729	JN846715
<i>Neobambusicola strelitziae</i>	CBS 138869T		NG_058125	NR_137945
<i>Neomassaria fabacearum</i>	MFLUCC 16-1875T	NG_061245	KX524145	-
<i>Neomassaria formosana</i>	NTUCC 17-007	MH714759	MH714756	-
<i>Neomassarina thailandica</i>	MFLUCC 17-1432	MT214420	MT214467	MT214373
<i>Neophaeosphaeria agaves</i>	CPC 21264 T	-	KF777227	KF777174
<i>Neophaeosphaeria filamentosa</i>	CBS 102202	GQ387516	GQ387577	JF740259
<i>Neoroussoella bambusae</i>	MFLUCC 11-0124T	-	KJ474839	KJ474827
<i>Neosetophoma samarorum</i>	CBS 138.96T	GQ387517	GQ387578	KF251160
<i>Neotestudina rosatii</i>	CBS 690.82	DQ384069	DQ384107	-
<i>Nigrograna mackinnonii</i>	CBS 674.75	NG_061081	GQ387613	NR_132037
<i>Nigrograna obliqua</i>	CBS 141475	KX650512		KX650558
<i>Occultibambusa bambusae</i>	MFLUCC 13-0855	-	KU863112	KU940123
<i>Occultibambusa jonesii</i>	GZCC 16-0117	KY628324	KY628322	-
<i>Ophiosphaerella aquaticus</i>	MFLUCC 14-0033T	KX767090	KX767089	KX767088
<i>Palmiascoma gregariascomum</i>	MFLUCC 11-0175T	KP753958	NG_059557	NR_154316
<i>Parabambusicola thysanolaenae</i>	KUMCC 18-0147T	NG_067681	NG_066435	NR_164044
<i>Paradicthyarthrinium aquatica</i>	MFLUCC 16-1116T		NG_064501	NR_158861
<i>Paradicthyarthrinium diffractum</i>	MFLUCC 13-0466	KP753960	KP744498	KP744455

<i>Paraphaeosphaeria michotii</i>	MFLUCC 13-0349T	KJ939285	KJ939282	KJ939279
<i>Parastagonospora italica</i>	MFLUCC 13-0377T	MG520985	KU058724	KU058714
<i>Paucispora quadrispora</i>	KT 843T	AB618692	AB619011	LC001734
<i>Phaeoseptum terricola</i>	MFLUCC 10-0102T	MH105780	MH105779	MH105778
<i>Phaeosphaeria oryzae</i>	CBS 110110T	GQ387530	KF251689	KF251186
<i>Phaeosphaeriopsis triseptata</i>	MFLUCC 13-0271T	KJ522484	KJ522479	KJ522475
<i>Phoma herbarum</i>	CBS 615.75	NG_061066	EU754186	KF251212
<i>Pleomassaria siparia</i>	CBS 279.74T		MH872591	MH860853
<i>Pleospora herbarum</i>	CBS 191.86	GU238232	DQ247804	KC584239
<i>Polyschema terricola</i>	CBS 301.65	EF204519	EF204504	MH858576
<i>Preussia funiculata</i>	CBS 659.74T	GU296187	GU301864	-
<i>Prosthemia betulinum</i>	VM20040721	AB553644	AB553754	AB554085
<i>Prosthemia betulinum</i>	CBS 127468T	-	MH875932	MH864496
<i>Pseudoastrophaeriella bambusae</i>	MFLUCC 11-0205T	KT955455	KT955475	-
<i>Pseudoastrophaeriella thailandensis</i>	MFLUCC 11-0144T	KT955457	KT955478	NR_154244
<i>Pseudoberkleasium chiangmaiense</i>	MFLUCC 17-1809T	-	MK131260	MK131259
<i>Pseudoberkleasium pandanicola</i>	KUMCC 17-0178T	MH260344	MH260304	MH275071
<i>Pseudochaetosphaeronema larense</i>	CBS 640.73T	NG_061147	NG_057978	NR_132038
<i>Pseudocoleodictyospora tectonae</i>	MFLUCC 12-0385T	NG_061232	KU764709	NR_154338
<i>Pseudocoleodictyospora thailandica</i>	MFLUCC 12-0565T	NG_062417	KU764701	NR_154337
<i>Pseudolophiostoma vitigenum</i>	HHUF 26930T	NG_060998	AB619015	NR_154374
<i>Pseudolophiotrema elymicola</i>	KT 1450T	LC194339	LC194381	LC194505
<i>Pseudomassariosphaeria grandispora</i>	CBS 613.86	GU296172	GU301842	-
<i>Pseudoneoconiothyrium rosae</i>	MFLUCC 15-0052T	MG829138	MG829032	MG828922
<i>Pseudotetraploa longissima</i>	HC 4933T	AB524471	AB524612	AB524796
<i>Pyrenochaetopsis tabarestanensis</i>	IBRC-M 30051T	KF803344	KF803343	KF730241
<i>Quadricrura bicornis</i>	yone 153T	AB524472	AB524613	AB524797
<i>Quercicola guttulospora</i>	MFLUCC 18-0481	MK347899T	MK348010	MK347791
<i>Ramusculicola thailandica</i>	MFLUCC 13-0284T	KP899131	KP888647	KP899141
<i>Roussoella nitidula</i>	MFLUCC 11-0634	-	KJ474842	KJ474834
<i>Rubroshiraia bambusae</i>	HKAS102255T	MK804704	MK804658	MK804678
<i>Salsuginea ramicola</i>	KT 2597.2T	GU479768	GU479801	-
<i>Salsuginea ramicola</i>	KT 2597.1 GZAAS2.0708T = CGMCC 3.15200 = MFLUCC 13-0408	GU479767	GU479800	-
<i>Shiraia bambusicola</i>			KC460982	GQ845414
<i>Shiraia bambusicola</i>	GZAAS2.0709		KC460983	GQ845413
<i>Sporormia fimetaria</i>	UPS:Dissing Gr.81.194 T	-	GQ203729	GQ203769
<i>Stemphylium clematidis</i>	MFLUCC 14-0937T	MT226696	MT214583	MT310628
<i>Striatiguttula nypae</i>	MFLUCC 18-0265T	MK035977	MK035992	MK035969
<i>Striatiguttula phoenicis</i>	MFLUCC 18-0266T	MK035980	MK035995	MK035972
<i>Subglobosporium tectonae</i>	MFLUCC 12-0393T	NG_061233	KU764703	NR_154426
<i>Sublophiostoma thailandica</i>	MFLUCC 11-0185	KX534222	KX534216	MW136275
<i>Sublophiostoma thailandica</i>	MFLUCC 11-0207T	KX534218	KX534212	MW136257
<i>Sulcatispora berchemiae</i>	HHUF 29097T	NG_06484	NG_059390	NR_153444
<i>Sulcosporium thailandica</i>	MFLUCC 12-0004T	KT426564	KT426563	MG520958
<i>Tetraplophaeria sasicola</i>	KT 563T	AB524490	AB524631	AB524807
<i>Thyridaria acaciae</i>	CBS 138873T	-	NG_058127	KP004469
<i>Thyridaria broussonetiae</i>	CBS 141481T	NG_063067		NR_147658

<i>Thyrostroma celtidis</i>	MFLUCC 16-1186T	MK751767	MK751822	MK751732
<i>Torula aquatica</i>	MFLUCC 16-1115T	-	MG208146	MG208167
<i>Torula pluriseptata</i>	MFLUCC 14-0437	KY197862	KY197855	MN061338
<i>Trematosphaeria grisea</i>	CBS 332.50	NG_062930	NG_057979	NR_132039
<i>Trematosphaeria pertusa</i>	CBS 122368T	FJ201991	NG_057809	NR_132040
<i>Uzbekistanica rosae-hissaricae</i>	MFLUCC 17-0819	NG_061297	MG829087	MG828975
<i>Verruculina enalia</i>	BCC 18402	GU479771	GU479803	-
<i>Westerdykella ornata</i>	CBS 379.55T	GU296208	GU301880	NR_103587
<i>Wicklowia aquatica</i>	CBS 125634T	NG_061099	MH875044	-
<i>Wicklowia submersa</i>	MFLUCC 18-0373T	MK637643	MK637644	NG_073668

312

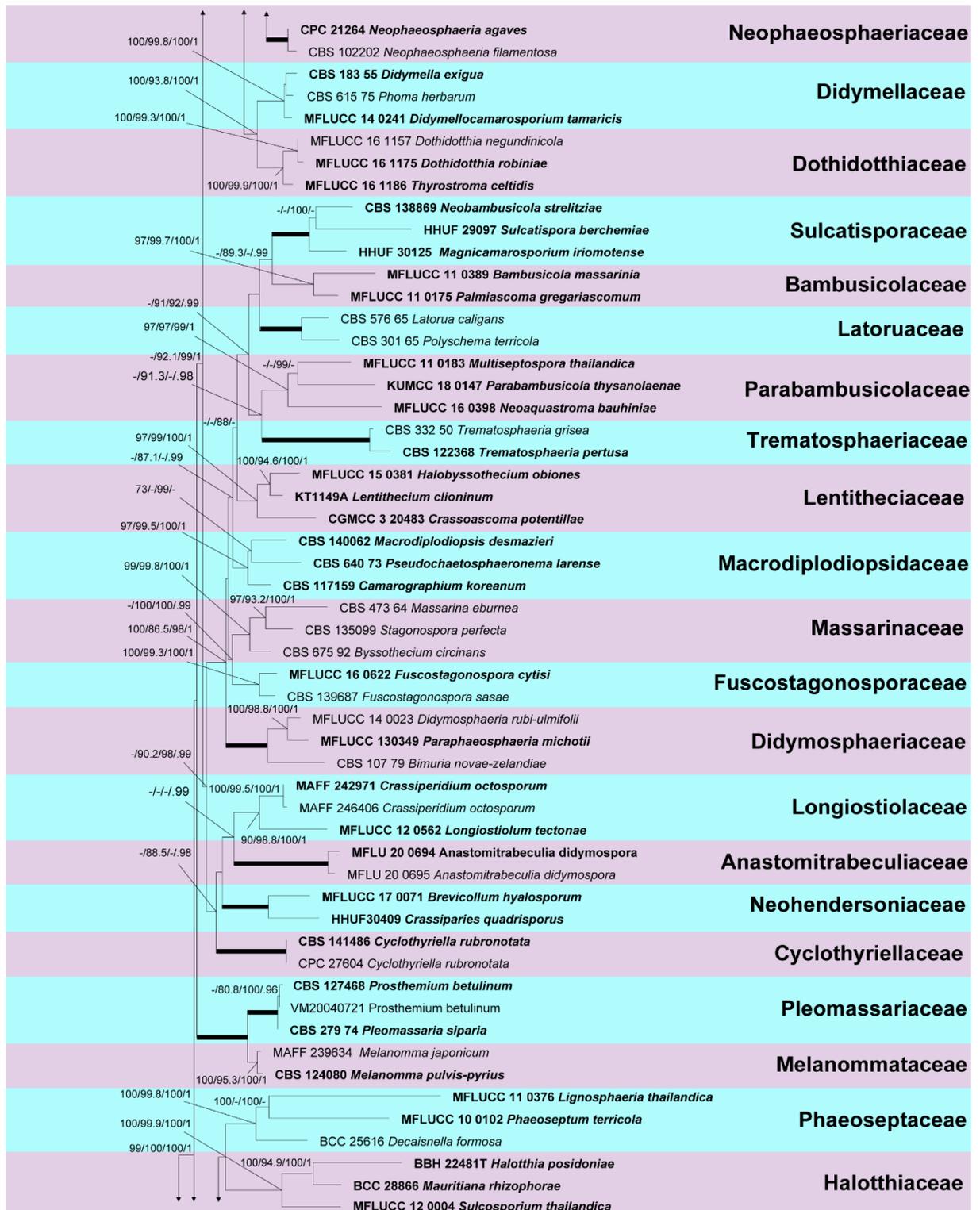
313 O conjunto de dados concatenado compreendeu 197 táxons e 9373 caracteres alinhados.
314 Os limites dos genes para alinhamentos concatenados foram os seguintes: região ITS: 1-3821,
315 LSU: 3822-6025 e SSU: 6026-9373. *Mytilinidion californicum* e *Mytilinidion acicola*,
316 pertencentes a Mytilinidiale, foram usados como foram usados como outgroup. As árvores de
317 ML e IB apresentaram topologias concordantes. Portanto, a árvore resultante da análise de ML-
318 IQTREE foi selecionada para mostrar a colocação filogenética da família recém-introduzida e
319 as famílias relacionadas na ordem Pleosporales. Os nossos isolados foram agrupados e
320 recuperado como um clado monofilético com máximo de suporte (RAxML-BS / SH -
321 aLRT/UFboot = 100%; BI-PP = 1) na análise multi gene (Figura 2), bem como nas árvores dos
322 genes individuais com suporte significativo (Figuras 3, 4 e 5). A filogenia também revelou que
323 este clado está próximo de Shiraiaceae e Phaeosphaeriaceae, podendo ser reconhecido como
324 uma nova família, Leandriaceae, para abrigar *Leandria momordica*.



325

326 **Figura 2.** Árvore de máxima verossimilhança (IQ-TREE-ML) inferida a partir de um
 327 alinhamento concatenado do alinhamento das sequências SSU, LSU e ITS de membros de
 328 Pleosporales. Os números nas ramificações indicam valores de suporte (RAXML-BS (≥ 70) /
 329 SH-aLRT (≥ 80) / UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95) com ramificações espessas indicando suporte
 330 total (RAXML-BS / SH -aLRT/UFboot = 100%; BI-PP = 1). "-" indica suporte não significativo
 331 ou ausência do nó. Os ex-tipos são enfatizados em negrito. "*" indica novos táxons e hosts e
 332 origens geográficas são fornecidas. A árvore está enraizada em *Mytilinidion acicula* EB 0349
 333 e *Mytilinidion californi* EB 0385. A barra de escala indica o número estimado de substituições
 334 por sítio.

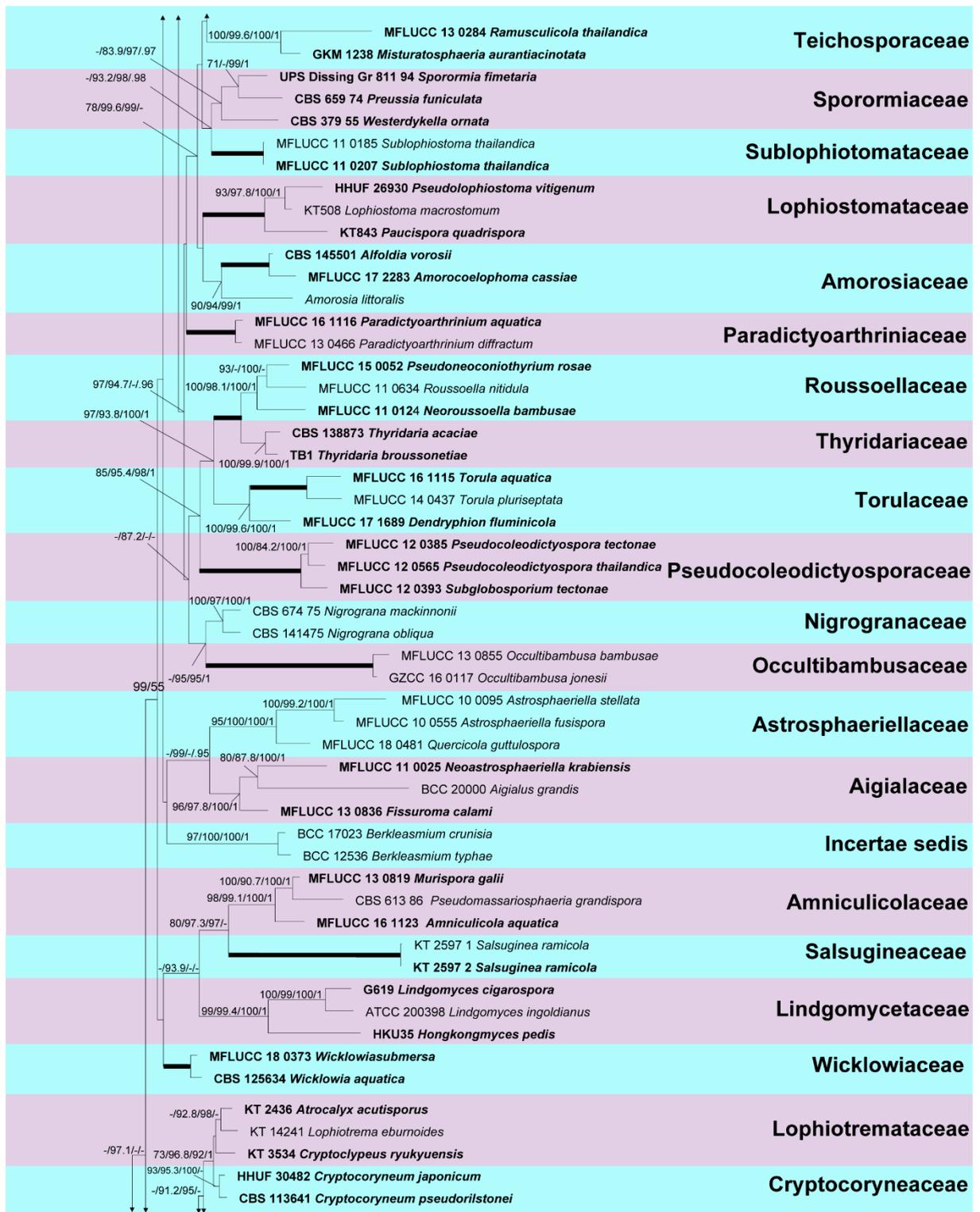
335



336

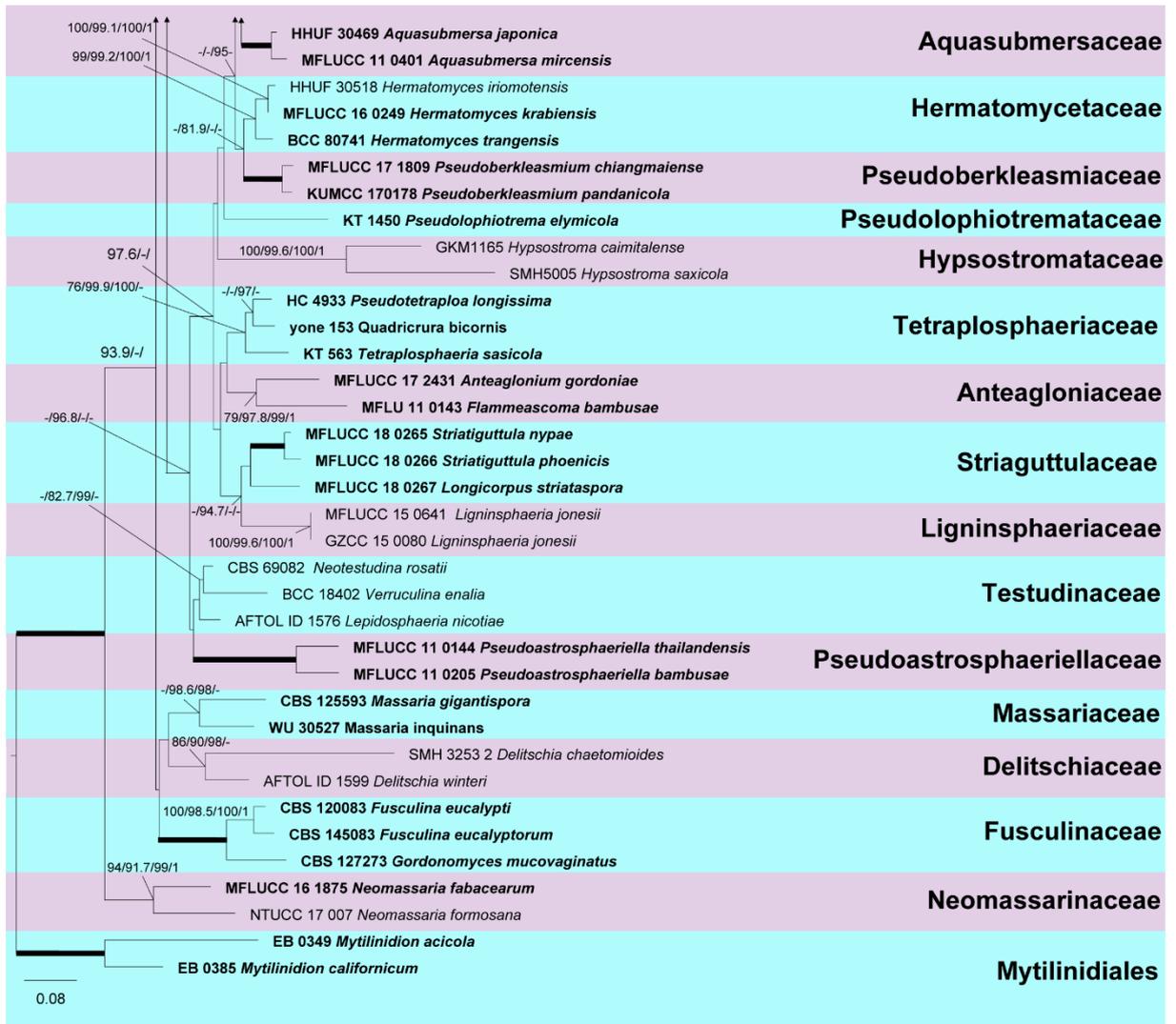
337 Figura 2. (Continuação)

338



339

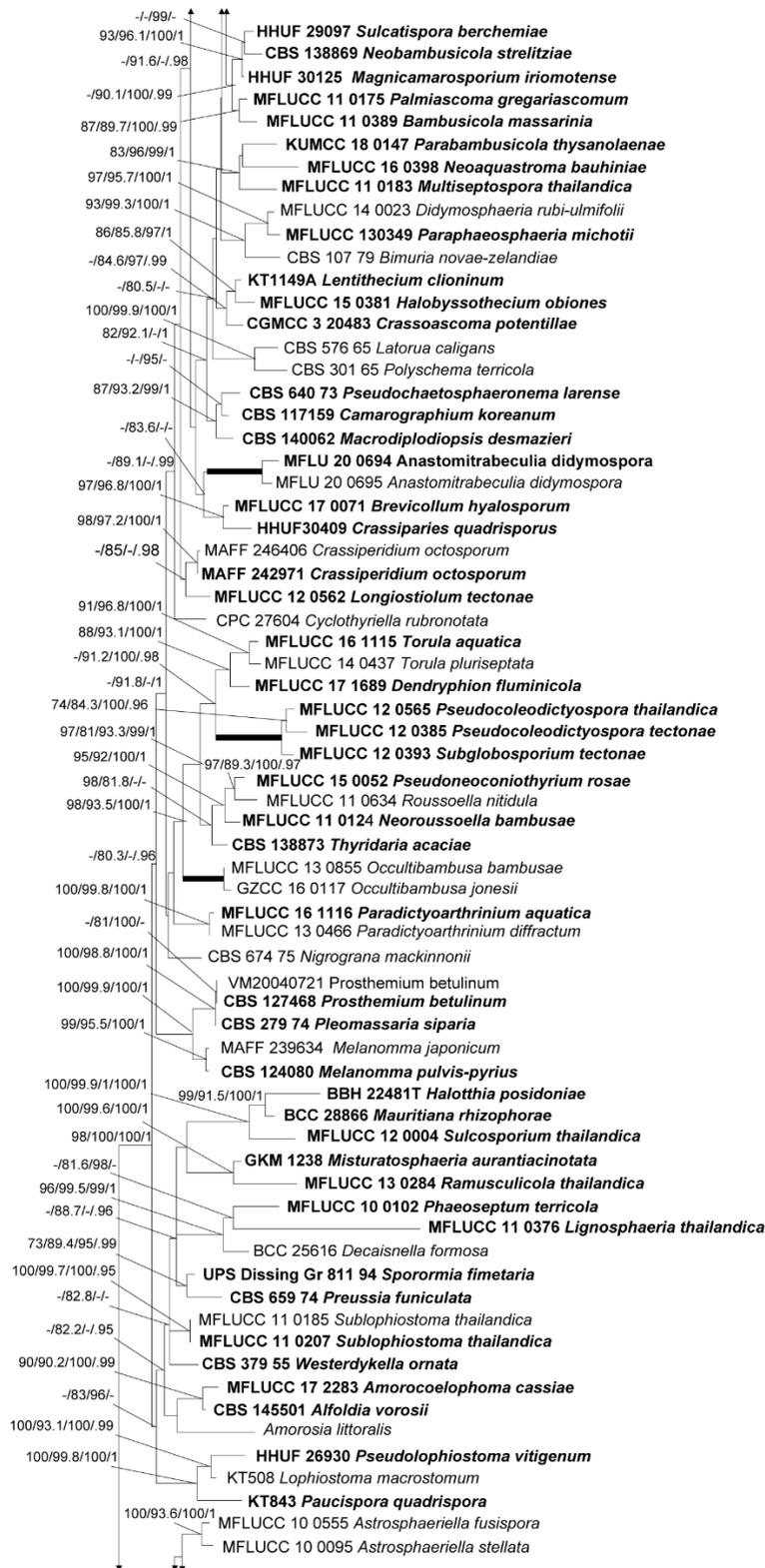
340 Figura 2. (Continuação)



341

342 Figura 2. (Continuação)

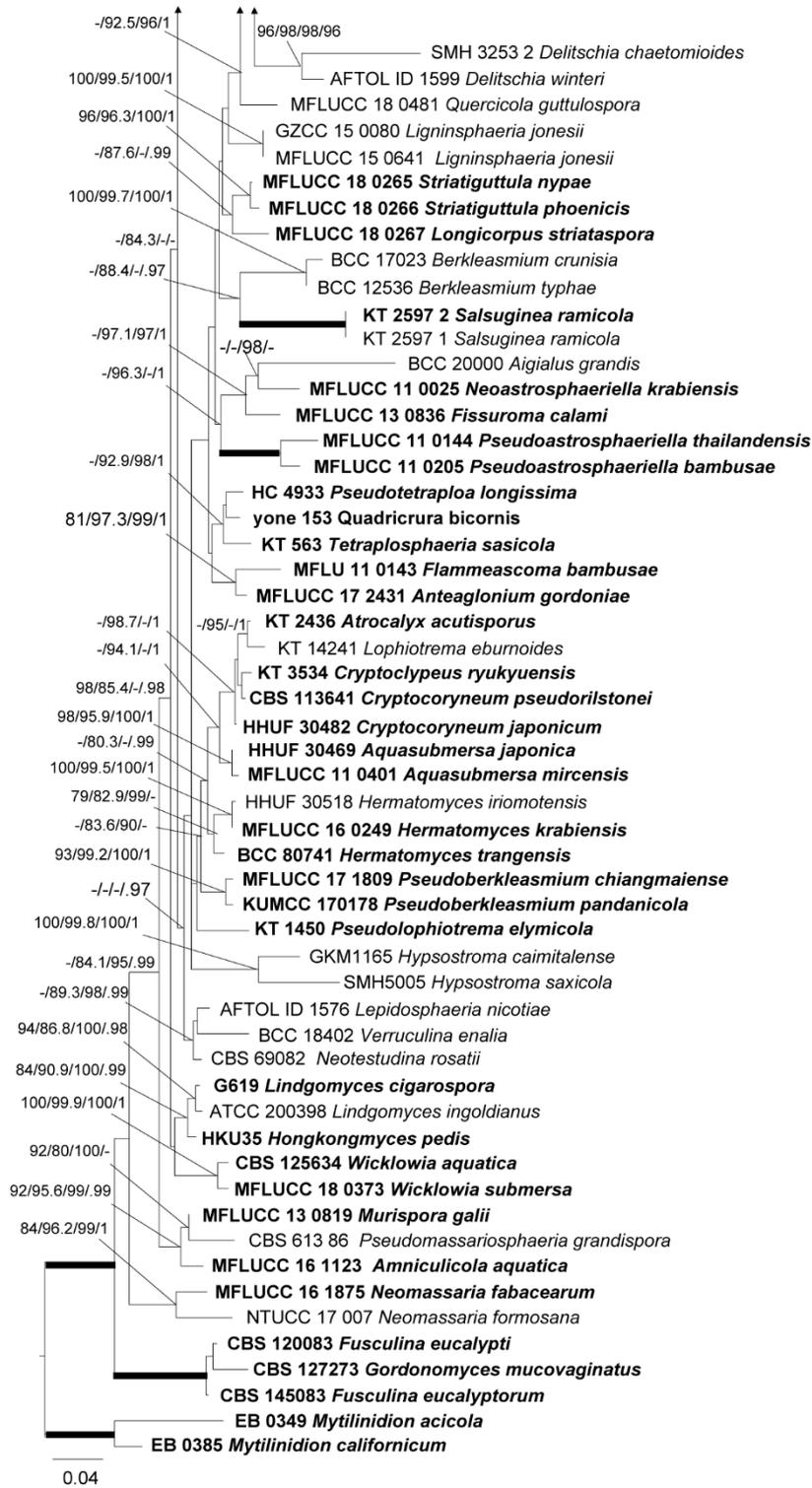
349 em negrito. "*" indica novos táxons e Hosts e origens geográficas são fornecidos A árvore está
 350 enraizada em *Mytilinidion acicula* EB 0349 e *Mytilinidion californi* EB 0385. A barra de escala
 351 indica o número estimado de substituições por sítio.



352

353 Figura 3. (continuação)

354



355

356 Figura 3. (continuação)

357

358

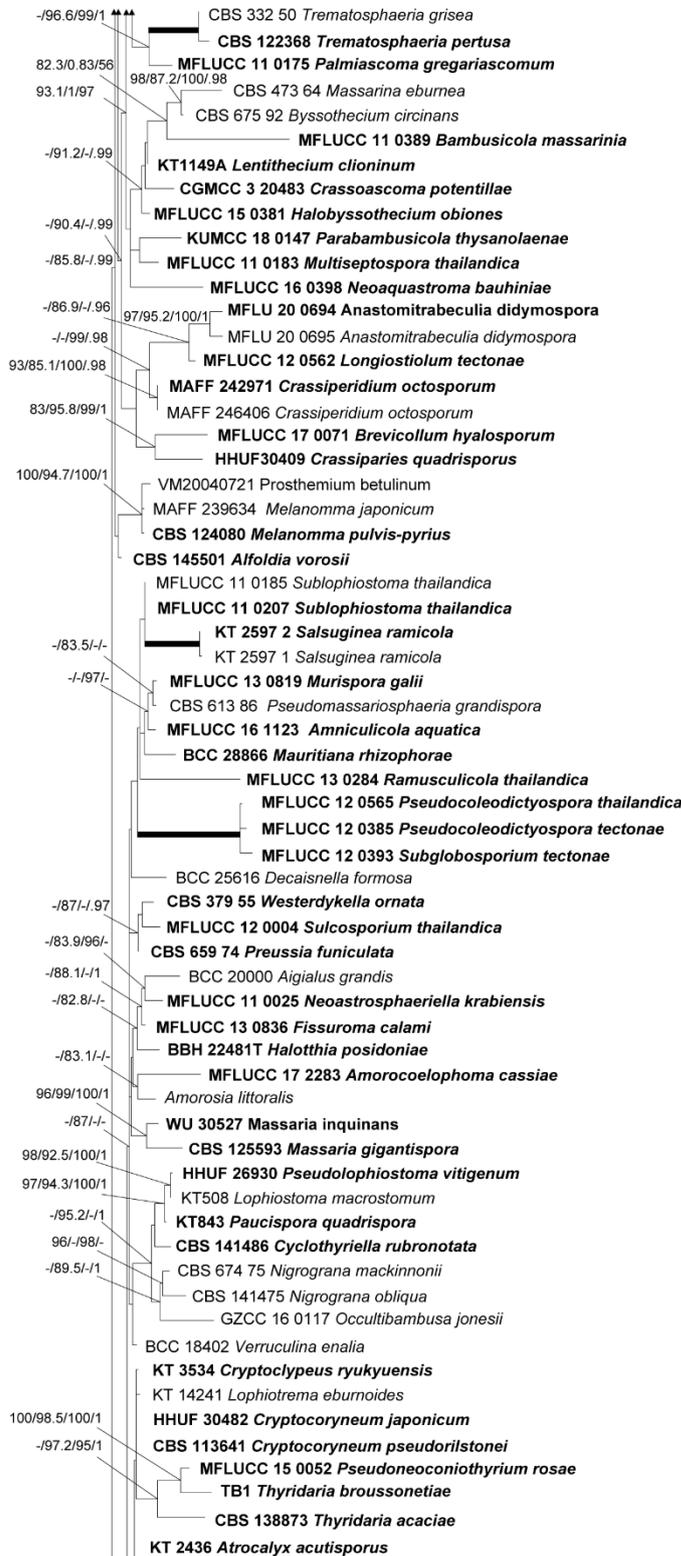
359



360

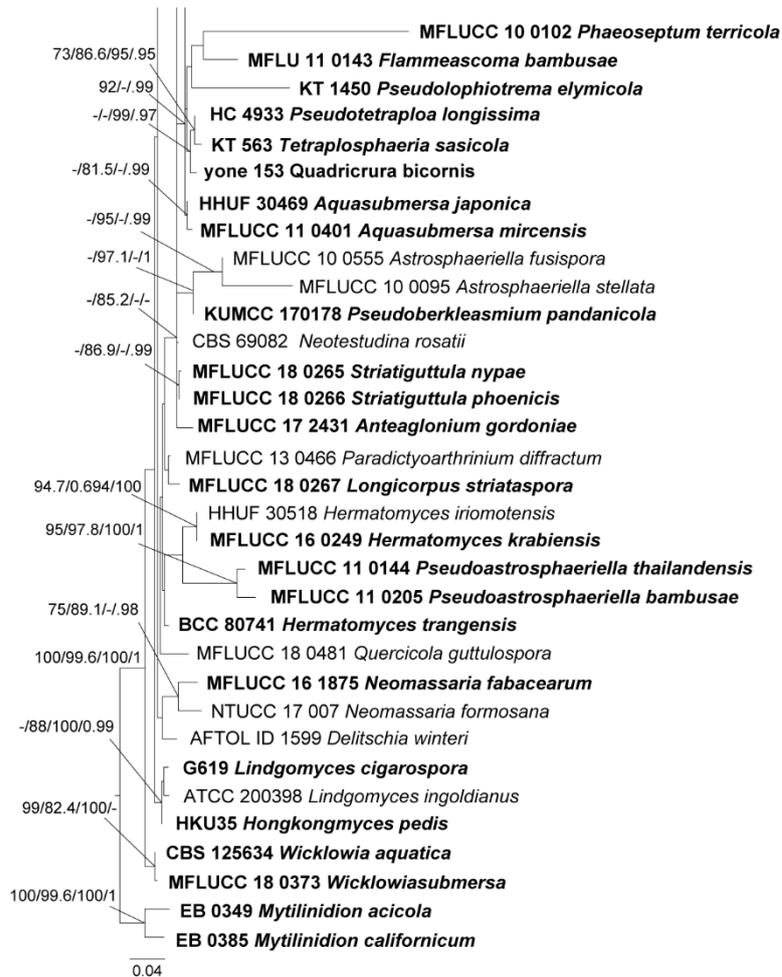
361 Figura 4. SSU – Árvore de máxima verossimilhança (IQ-TREE-ML) inferida a partir do
 362 alinhamento SSU dos membros dos Pleosporales. Números nas ramificações indicam valores
 363 de suporte (RAxML-BS (≥ 70) / SH-aLRT (≥ 80)/ UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥,95) com
 364 ramificações espessas indicando suporte total (RAxML-BS / SH -aLRT/ UFboot = 100%; BI-
 365 PP = 1). "-" indica suporte não significativo ou ausência do nó. Os ex-tipos são enfatizados em

366 negrito. "*" indica novos táxons e Hosts e origens geográficas são fornecidos A árvore está
 367 enraizada em *Mytilinidion acicula* EB 0349 e *Mytilinidion californi* EB 0385. A barra de escala
 368 indica o número estimado de substituições por sítio.



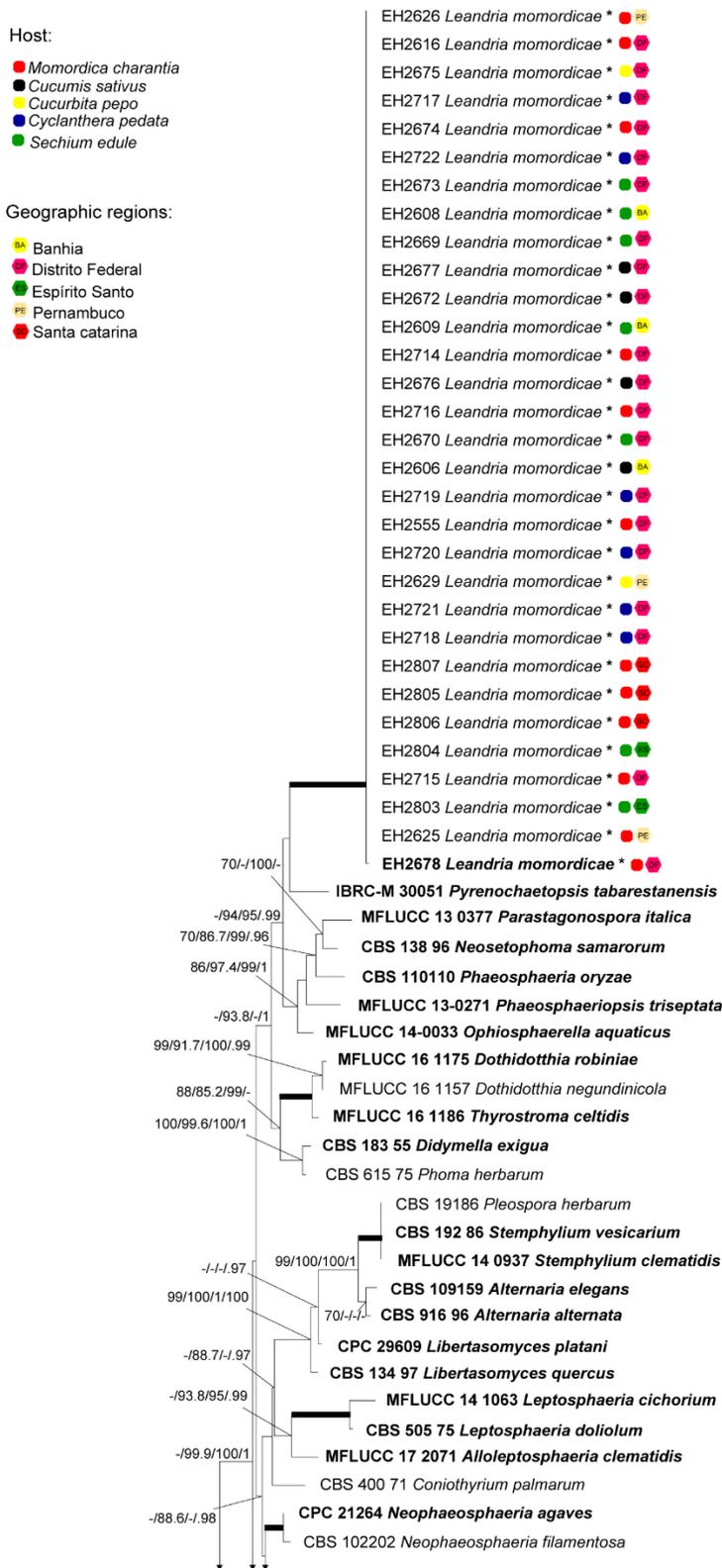
369

370 Figura 4. (Continuação)



371

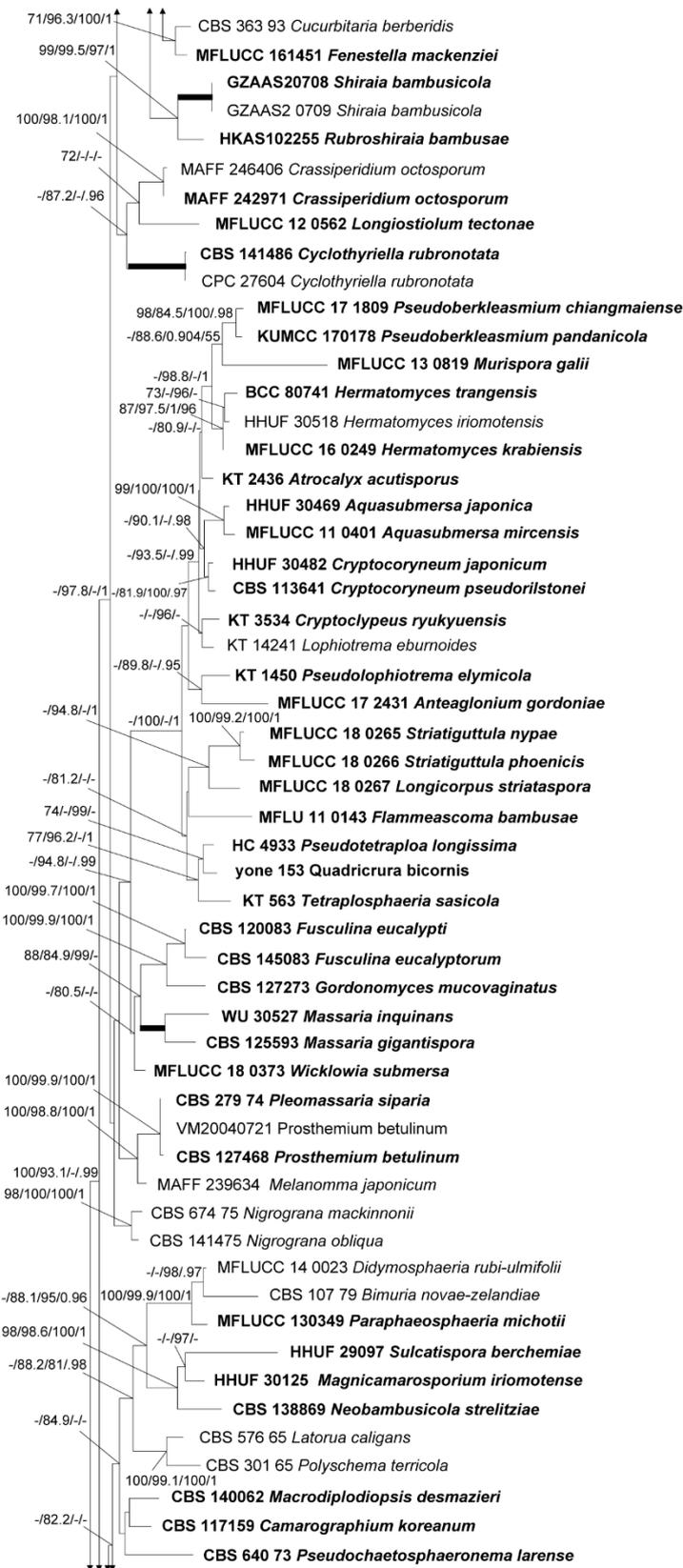
372 Figura 4. (Continuação)



373

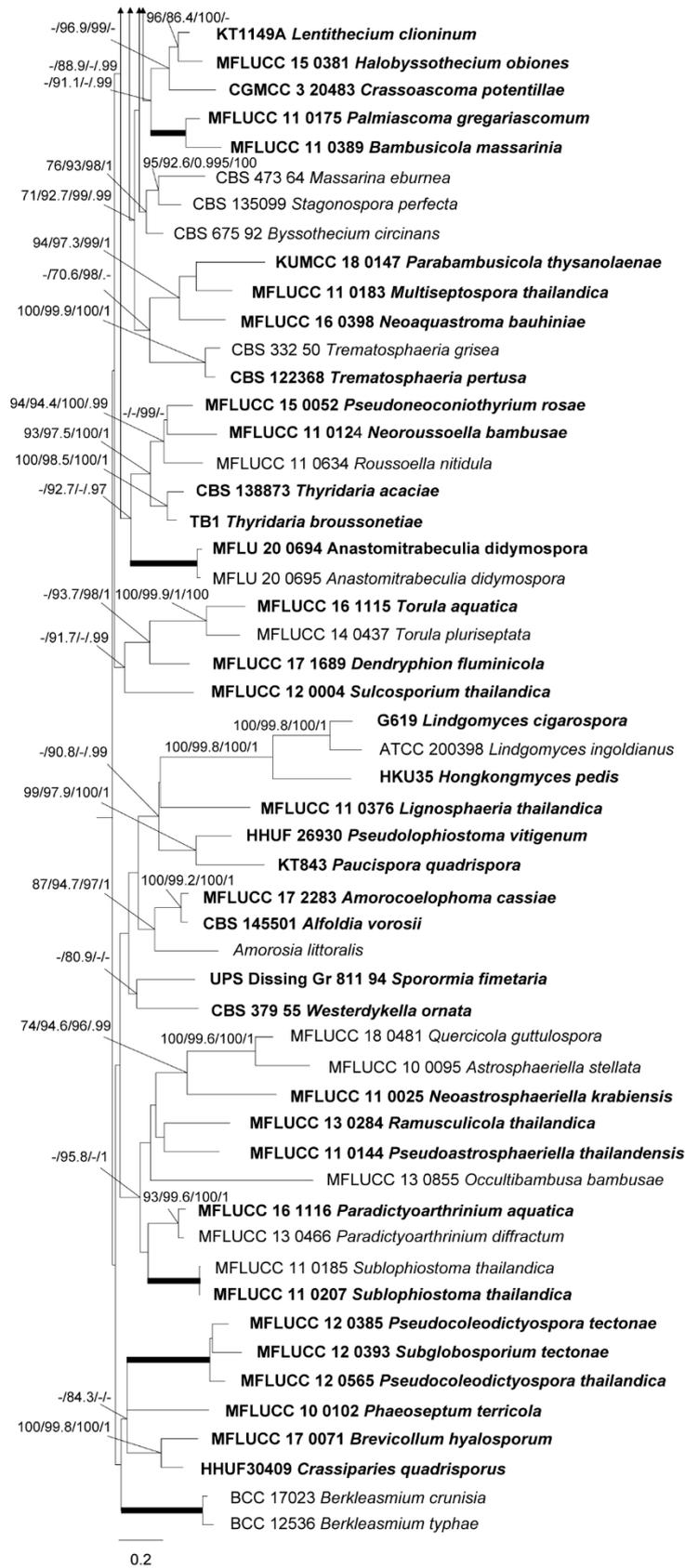
374 Figura 5. ITS – Árvore de máxima verossimilhança (IQ-TREE-ML) inferida a partir do
 375 alinhamento ITS dos membros dos Pleosporales. Números nas ramificações indicam valores de
 376 suporte (RAxML-BS (≥ 70) / SH-aLRT (≥ 80) / UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95)) com ramificações
 377 espessas indicando suporte total (RAxML-BS / SH -aLRT/ UFboot = 100%; BI-PP = 1). "-"
 378 indica suporte não significativo ou ausência do nó. Os ex-tipos são enfatizados em negrito. "*" "

379 indica novos táxons e Hosts e origens geográficas são fornecidos . A Árvore está enraizada no
 380 ponto médio. A barra de escala indica o número estimado de substituições por sítio.



381

382 Figura 5. (Continuação)



383

384 Figura 5. (Continuação)

385

3.2 Taxonomia

386

387

388 **Leandriaceae** Feitosa MIS & Reis A, fam. nov.

389 **Tipo genérico:** *Leandria* Rangel, Boletim de Agricultura 16: 324-325 (1915)

390 Notas: A família Leandriaceae é criada em Pleosporales para acomodar o gênero monotípico
 391 *Leandria*. Essa família possui algumas características bastante semelhantes à Família
 392 Pleosporaceae (*Stemphylium*), por produzirem conidióforos retos a flexuosos, septados,
 393 solitários, algumas vezes ramificados, conídios solitários, com septos transversais e
 394 longitudinais, de coloração castanho oliváceo. No entanto, o gênero *Stemphylium* pode
 395 apresentar conídios de formato ovóides, elipsoide, cilíndricos, obclavado. Leandriaceae possui
 396 conídios globosos, mas destaca-se *Stemphylium tomatonis* possivelmente produz conídios
 397 globosos. Em *Stemphylium* os conidióforos variam de marron claro a sub-hialino, enquanto em
 398 em Leandriaceae são hialinos. Compartilham de algumas características morfológicas, mas
 399 diferem em outras, bem como não há concordância filogenética entre essas duas famílias de
 400 Pleosporales.

401

402 ***Leandria*, descrição de** Rangel, Boletim de Agricultura 16: 324-325 (1915)

403 Parasita em melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*). Se desenvolve na face
 404 abaxial das folhas. O micélio é ramificado, as hifas são hialinas e septadas. Conídios solitários,
 405 globosos, muriforme, hialinos quando imaturos e castanho quando maduros. Os conídios se
 406 originam da septação da célula superior dos conidióforos. Os conidióforos são septados,
 407 hialinos, solitários ou conjugados.

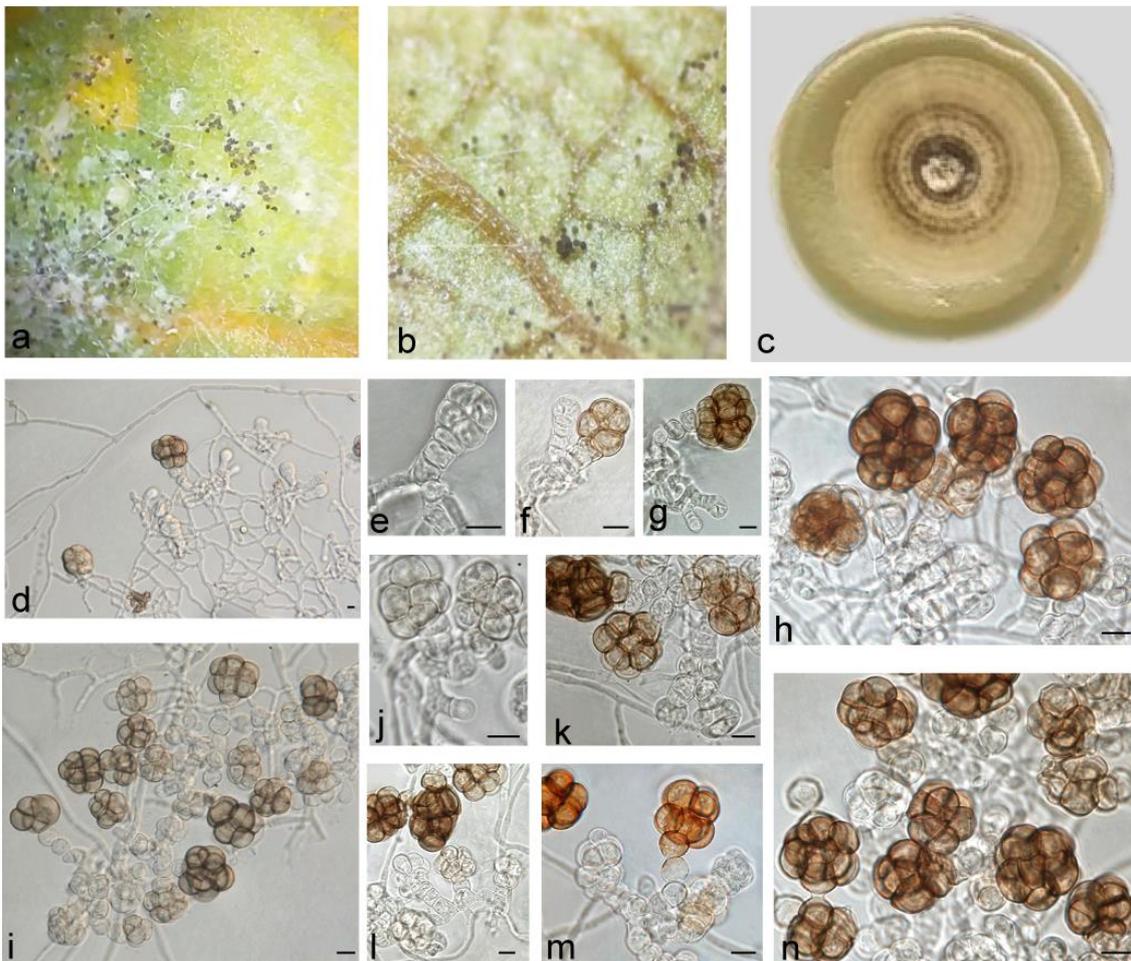
408

409 ***Leandria momordicae*** Rangel

410 **Descrição do neótipo**

411 Parasita em cucurbitáceas (*Momordica charantia*, *Cucumis sativus*, *Sechium edule*, etc). O
 412 patógeno cresce frequentemente na face abaxial das folhas. O micélio é ralo e os conídios,
 413 secos. Hifas hialinas e septadas. Conídios globulares e muriformes, inicialmente hialinos, mais
 414 tarde se tornam castanhos, medem de 24-35 µm de diâmetro, e são constituídos por um número
 415 de 6-12 células esferoidais menores medindo 9-14 µm de diâmetro cada. Os conidióforos
 416 hialinos, solitários ou conjugados, apresentam de 2-4 septos, e medem de 24-38 µm de
 417 comprimento e 8-16 µm de largura. Cultivado em V8 a 18° C, a cultura apresenta coloração
 418 bege, que pode ser tornar marrom pálido com o desenvolvimento. O micélio é ralo e incrustado,
 419 e cresce numa velocidade aproximada de 2,25 mm/dia (Figura 6).

420 Material examinado: Brasil, Distrito Federal, Brazlândia, em folhas de *Momordica charantia*,
 421 em 03 de fevereiro 2020.



422

423 **Figura 6:** *Leandria momordicae* (neótipo). **A e B.** crescimento fúngico em folhas de melão-de-
 424 são-caetano (*Momordica charantia*). **C.** Colônia em V8 após 15 dias a 18° C. **D.** Conídios em
 425 desenvolvimento com conidióforos conjugados. **E.** Conidióforo solitário, conídio em
 426 formação com célula conidiogênica em divisão. **F.** Conidióforos conjugados, com conídios em
 427 diferentes estágios de maturação. **G.** Conídio e conidióforo maduros. **H, N.** Conídios maduros.
 428 **I, M.** Conídios em diferentes estágios de maturação. **J.** Hifa reprodutiva em desenvolvimento.
 429 **K.** Células do conídio imaturo germinadas, originando novos conídios. **L.** Conidióforos
 430 conjugados, com conídios em desenvolvimento. **M.** Conídios em diferentes estágios de
 431 maturação. Escala, D-N= 10 µm.

432

433 **Discussão**

434

435

436

As análises filogenéticas revelaram que os isolados de *L. momordicae* formaram um clado dentro da ordem Pleosporales, mas distinto das famílias até então descritas, por isso sugerimos a introdução da nova família (Leandriaceae) na ordem Pleosporales Luttrell ex M.E.

437 Barr, que segundo Kirk et al. (2008) é a maior ordem da classe Dothideomycetes sensu O.E.
438 Erikss & Winka, compreendendo um quarto das espécies pertencentes a essa classe. Até o
439 momento, 91 famílias de Pleosporales foram descritas, com 613 gêneros, desses 43 ainda são
440 incertos (<https://www.dothideomycetes.org>).

441 Nas análises filogenéticas observou-se que as famílias Shiraiaceae e Phaeosphaeriaceae
442 são as mais intimamente relacionadas com Leandriaceae. Shiaiaceae pertence a subordem
443 Pleosporineae (LIU et al., 2013), como Leandriaceae compartilha de um mesmo nó, pode-se
444 inferir que *L. momordicae* também pertença à mesma subordem.

445 Considerando os aspectos morfológicos, Shiraiaceae (na fase assexual) apresenta
446 lóculos imersos, dispostos em fileiras ou irregularmente em ascostromas, cilíndricos,
447 ampuliformes, globosos ou subglobosos. Conidióforos reduzidos a células conidiogênicas,
448 indeterminados, cilíndricos, septados e hialinos. Conídios fusiformes, muriformes,
449 assimétricos, hialinos a castanho claro, com septos transversais e longitudinais dispostos
450 irregularmente, agudos na base, ápice obtuso em ambas as extremidades (Liu et al., 2013). Na
451 fase assexual Phaeosphaeriaceae apresenta conidiomas, picnídios, castanho a preto,
452 conidióforos da cavidade interna do conidioma, tipicamente reduzidos a células conidiogênicas,
453 hialinos a marrons, asseptados ou septados, e conídios de formas variadas, septados ou
454 asseptados, com paredes lisas ou verrucosa (Bar, et al., 1979). Leandriaceae compartilha de
455 algumas características morfológicas presentes em Shiraiaceae e Phaeosphaeriaceae, como
456 conídios septados, hialinos ou marrons, e diferem por possuírem conidióforos diminutos.

457 As análises filogenéticas revelaram ainda que há uma pequena variação intraespecífica
458 entre os isolados de *L. momordicae* (Figuras 2, 3 e 4). Mas, ainda assim, com base nos genes
459 analisados, se tratam de uma única espécie. Essas variações são observadas nos genes LSU e
460 SSU, sobretudo, nesse último, o que possivelmente pode indicar que existam mais de uma
461 espécie entre os isolados, o que só poderia ser confirmado por meio de análises que incluam
462 mais regiões genômicas.

463 O neótipo (VIC4754) de *L. momordicae* depositado no Herbário da Universidade
464 Federal de Viçosa, poderá contribuir para futuras pesquisas envolvendo o patógeno, servindo
465 de material para comparação, de modo a elucidar dúvidas taxonômicas. O que é uma grande
466 contribuição, visto que até a realização deste trabalho, não havia material viável disponível em
467 nenhum herbário ao redor do mundo.

468

469 **Conclusões**

470

471 As análises filogenéticas com os genes ITS, LSU e SSU concatenados, permitiu posicionar
472 taxonomicamente *Leandria momordicae* na ordem Pleosporales; como nenhum isolado se
473 agrupou em nenhuma das famílias existentes na ordem, sugere-se a criação de uma nova
474 família, Leandriaceae para abrigar o gênero *Leandria*. As análises filogenéticas para os genes
475 LSU e SSU revelaram que há variações intraespecíficas entre os isolados de *Leandria*
476 *momordicae*, o que sugere que possa haver mais de uma espécie, ou filotipos, mas estudos
477 adicionais devem ser realizados para confirmar a hipótese. A descrição morfológica de
478 *Leandria mormodicae* se assemelhou às primeiras características descritas do patógeno, que
479 ocorreram há mais de um século.

480

481 **Agradecimentos**

482 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação
483 de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de
484 doutorado.

485 **Referências**

486 Barnett, H.L., Hunter, B.B, 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing
487 Co., Minneapolis.

488

489 Blazquez, C.H, 1983. Net Spot of Cucumbers. Plant Disease. 67, 534-536.

490

491 Boiteux, L.S., Fonseca, M.E.N., Simon, P.W, 1999. Effects of plant tissue and DNA
492 purification method on RAPD-based genetic fingerprinting analysis in carrot. Journal of the
493 American Society for Horticultural Science. 124, 32–38.

494

495 Cardoso MO, Boher B, Ávila AC, Assis LAG (2001) Doenças das cucurbitáceas no estado do
496 Amazonas. Circular Técnica, 9. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Brasil.

497

498 Carmichael, J.W., Kendrick, W.B., Connors, L.L., Sigler, L, 1980. Genera of hyphomycetes.
499 Edmonton, Canadá: University of Alberta.

500

- 501 Castellani, A.A., 1967. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in
502 sterile distilled water: further researches. *Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, Mclean. 70,
503 181-184.
504
- 505 Chupp, C, 1947. *Stemphylium cucurbitacearum* on cucumber. *Plant Disease*. 31, 479-480.
506
- 507 Clements, F.E., Shear, C.L., 1954. *The genera of fungi*. New york: Afner Publishing Co.
508
- 509 Das, S., Dash, H. R, Mangwani, N., Chakraborty, J., Kumari, S, 2014. Understanding
510 molecular identification and polyphasic taxonomic approaches for genetic relatedness and
511 phylogenetic relationships of microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*. 103, 80-
512 100.
513
- 514 Dellaporta, S.L., Wood, J., Hicks, J.B.A, 1983. Plant DNA minipreparation: Version II. *Plant*
515 *Molecular Biology Reporter*. 1, 19–21.
516
- 517 Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O, 2010. New
518 algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the
519 performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology Syst. Biol.* 59, 307–321.
520
- 521 Hasegawa, J. M, 2015. Mancha mortal. *Revista Cultivar HF*, 2015. Disponível em :
522 <<https://revistacultivar.com.br/artigos/mancha-mortal>> Acesso em: 09 abr. 2022.
523
- 524 Hoang, D.T., Chernomor, O., Von Haeseler, A., Minh, B.Q., Vinh, L.S, 2017. UFBoot2:
525 Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Molecular. Biology and Evolution*. 35, 518–
526 522.
- 527 Katoh, K., Rozewicki, J., Yamada, K.D. 2019 (*Briefings in Bioinformatics* 20:1160-1166)
528 MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and
529 visualization. *Briefings in Bioinformatics*. 20, 1160-1166.
530
- 531 Katoh, K., Toh, H, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7:
532 improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*. 30, 772-780.
- 533 Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stappers, J.A, 2008. *Dictionary of the Fungi* 10th
534 edn. UK: CABI Bioscience.

- 535 Liu, Y.X., Hyde, K.D., Ariyawansa, H.A., Li, W.JI., Zhou, D.Q., Yang, Y.L., Chen, Y.M., Liu,
536 Z.Y., 2013. Shiraiaceae, new family of Pleosporales (Dothideomycetes, Ascomycota).
537 Phytotaxa. 103, 51–60.
538
- 539 Lopes, M.E.B.M., Sinigaglia, C., Azevedo Filho, J.A., 1999. Controle químico da mancha
540 zonada (*Leandria momordicae*) em pepino. Revista de Agricultura. 74, 25-33.
541
- 542 Maublanc, A., Rangel, E., 1915. Alguns fungos do Brasil, novos ou mal conhecidos. Boletim
543 de Agricultura. 6, 310-328.
544
- 545 Minh, B.Q., Nguyen, M.A.T., Von Haeseler, A., 2013. Ultrafast Approximation for
546 Phylogenetic Bootstrap. Molecular. Biology and. Evolution. 30, 1188–1195.
547
- 548 Nylander, J.A.A., 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary
549 Biology Centre, Uppsala University, 2004.
550
- 551 Osner, G.A., 1918. *Stemphylium* leaf spot of cucumbers. Journal Agriculture Research,
552 Washington, D.C. 13, 295-306.
- 553 Pem, D., Hongsanan, S., Doilom, M., Tibpromma, S., Wanasinghe, D.N., Dong, W., Liu, N.
554 G., Phookamsak, R., Phillips, A.J.L., Jeewon, R., Hyde, K.D., 2019.
555 <https://www.dothideomycetes.org>: An online taxonomic resource for the classification,
556 identification, and nomenclature of Dothideomycetes. Asian Journal of Mycology. 2, 287–297.
- 557 Photita, W., Taylor, P. W. J., Ford, R., Hyde, K. D., Lumyong, S., 2005. Morphological and
558 molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand.
559 Fungal Diversity. 18, 117-133.
560
- 561 Phookamsak, R., Liu, J.K., McKenzie, E.H.C., Manamgoda, D.S., Ariyawansa, H.,
562 Thambugala, K.M., D.Q, Dai., Camporesi, E., Chukeatirote, E., Wijayawardene, N.N.,
563 Bahkali, A.H., Mortimer, P.E., Xu, J.C., Hyde, K.D., 2014. Revision of Phaeosphaeriaceae.
564 Fungal Diversity. 68, 159–238.
565

- 566 Rambaut, A., 2012. FigTree v1.4.0: Tree Figure Drawing Tool. Available: RAMBAUT, A.,
567 2012. FigTree v1.4.0: Tree Figure Drawing Tool. Available:
568 <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>
569
- 570 Rambaut, A., Drummond, A., 2010. Tracer v. 1.4 Available at: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
571 Accessed 15 march, 2022.
572
- 573 Reis, A., Feitosa, M.I.S., 2021. Identificação e manejo da mancha zonada do pepino e do
574 chuchu. Brasília: Embrapa/CNPq, 2021. 10 p. (Comunicado Técnico, 127).
575
- 576 Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B.,
577 Liu, L., Suchard, M.A., Huelsenbeck, J.P., 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic
578 inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*. 61, 539-542.
579
- 580 Sacardo, P.A., 1931. *Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum*. Michigan: J.W.
581 Edwards. 25, 849.
582
- 583 Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., 1977. DNA sequencing with chain-terminating
584 inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.
585 74, 5463–5467.
586
- 587 Sarmiento, J.R.R., Moretto, K.C.K., Churata-Masca, M.G.C., 1999. Controle da pinta-preta
588 em tomateiro e da mancha-zonada em pepino por meio de bicarbonato de sódio e óleo
589 vegetal. *Horticultura Brasileira*. 17, 159-163.
- 590 Sela, I., Ashkenazy, H., Katoh, K., Pupko, T., 2015. GUIDANCE2: accurate detection of
591 unreliable alignment regions accounting for the uncertainty of multiple parameters. *Nucleic
592 Acids Research*. 43, W7–W14.
593
- 594 Staden, R., Beal, K.F., Bonfield, J.K., 1998. The Staden package. In: Misener S, Krawetz SA
595 (eds) *Bioinformatics methods and protocols*. Humana, New York.
596
- 597 Stamatakis, A., 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of
598 large phylogenies. *Bioinformatics*. 1, 1312-3.
599

- 600 Tokeshi, H.; Kurozawa, C., 1967. Nova mancha foliar em pepino causada por *Leandria*
601 *momordica* Rangel. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE DE OLERICULTURAS DO
602 BRASIL, 7 e 8, 1967/68. Rio de Janeiro. Resumos...Rio de Janeiro: CSOB, 1968. p.98.
- 603 Tuite, J., 1969. Plant pathological methods – fungi and bacterial. 5^a. ed. Minneapolis: Burgess
604 Publishing Company.
- 605
- 606 Vaidya, G., Lohman. D. J., Meier, R., 2011. SequenceMatrix: concatenation software for the
607 fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, 27,
608 171-180.
- 609
- 610 Vilgalys, R., Hester, M., 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically
611 amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *Journal of Bacteriology*. 172,
612 4238-4246.
- 613
- 614 White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal
615 ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White,
616 T.J., 1990. PCR Protocols: A guide to Methods and Applications. San Diego: Academic
617 Press, Cap 38, p. 315-322.
- 618
- 619
- 620
- 621
- 622
- 623
- 624
- 625
- 626
- 627
- 628
- 629

630

631

632

633

634

635

636

637

638

639

640

641

642

Capítulo III

643

644 **Novas hospedeiras naturais e experimentais de *Leandria momordicae* Rangel na família**
645 **Cucurbitaceae**

646

647

648

649

650 A ser submetido: **Tropical Plant Pathology** (Original article)

651

652

653

654

655

656

657

658

659

660 **Novas hospedeiras naturais e experimentais de *Leandria momordicae* na**
661 **família Cucurbitaceae**

662

663 Maria Isabella de S. Feitosa¹; Leonardo S. Boiteux^{1,2}; Maria Esther de N. Fonseca²; Nuno
664 Rodrigo Madeira²; Josiene S. Veloso; Danilo B. Pinho³; Marcos P. S. Câmara¹; Ailton Reis^{1,2*}.

665

666 ¹ Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 52171-
667 900, Recife, Pernambuco, Brasil.

668

669 ² Centro Nacional de Pesquisa em Hortaliças (CNPq), Empresa Brasileira de Pesquisa
670 Agropecuária (Embrapa), 70275-970, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

671

672 ³ Instituto de Ciências Biológicas (IB), Universidade de Brasília (Unb), 70910-900, Brasília,
673 Distrito Federal, Brasil.

674

675 *Autor correspondente: Ailton Reis. E-mail: ailton.reis@embrapa.br

676

677 **Resumo**

678

679 A mancha zonada (causada pelo fungo *Leandria momordicae*) é uma importante doença de
680 diversas espécies da família Cucurbitaceae, mais frequentemente, pepino, chuchu e melão-de-
681 são-caetano. No entanto, os estudos sobre a gama de espécies hospedeiras dentro da família
682 Cucurbitaceae ainda não são extensos, se observando uma falta geral de informações sobre
683 potenciais hospedeiras alternativas desse patógeno. Nesse contexto, o objetivo do presente
684 trabalho foi avaliar a reação de diferentes espécies de cucurbitáceas a isolados de *L.*
685 *momordicae*. Doze isolados de *L. momordicae* oriundos de cinco espécies de cucurbitáceas
686 foram coletados em quatro diferentes regiões do Brasil. Esses isolados foram inoculados em
687 acessos de 11 espécies de cucurbitáceas que foram avaliados quanto à presença/ausência de
688 sintomas (resistente ou suscetível) e quanto à severidade da doença, por meio do tamanho das
689 lesões. Para severidade da doença, a análise de variância, mostrou que tanto os fatores isolados
690 (acessos e isolados), quanto interação dos fatores foram significativos. Todos os acessos foram
691 suscetíveis a todos os isolados do patógeno. Duas novas hospedeiras naturais de *L. momordicae*
692 foram registradas nos isolados coletados em campo, os quais foram posteriormente confirmadas
693 nos bioensaios controlados: abobrinha e chuchu-de-vento. Além disso, abóbora moranga,

694 maxixe e pepininho-do-mato foram identificadas como novas hospedeiras experimentais de *L.*
695 *momordicae*. Plantas de pepino inoculadas apresentaram os maiores níveis de suscetibilidade,
696 seguidas de chuchu e bucha. Pepininho-do-mato apresentou as menores lesões. Analisando
697 individualmente, nove dos 12 isolados diferiram estatisticamente quanto à agressividade aos
698 hospedeiros. O isolado EH-2626 foi o mais agressivo, seguido por EH-2678 e EH-2608,
699 diferindo estatisticamente dos demais. Esses isolados foram coletados em regiões distintas
700 (Pernambuco, Distrito Federal e Bahia, respectivamente), indicando não haver forte correlação
701 entre o nível de agressividade dos isolados e sua origem geográfica. Interações significativas
702 entre acessos hospedeiros e isolados também foram observadas. No entanto, os níveis de
703 severidade/agressividade dos isolados não foram fortemente associados aos seus hospedeiros
704 originais, indicando baixos níveis de especificidade hospedeira desta coleção de isolados de *L.*
705 *momordicae*. Desta forma, o presente trabalho agrega novas informações de interesse para
706 aprimorar as práticas de manejo da mancha zonada em diferentes hospedeiras das
707 cucurbitáceas.

708

709 **Palavras-chaves:** Cucurbitáceas, gama de hospedeiras, mancha zonada.

710

711

712 **Novel natural and experimental hosts of *Leandria momordicae* Rangel in the**
713 **Cucurbitaceae family**

714

715 **Abstract**

716 The net spot caused by *Leandria momordicae* Rangel is an important disease that affects
717 members of the Cucurbitaceae family, most frequently cucumber, chayote and *Momordica*
718 *charantia*. However, studies dealing with the host range of this pathogen within the
719 Cucurbitaceae family are yet not extensive with an overall lack of information about potential
720 alternative hosts. In this context, the objective of this work was to evaluate the reaction of
721 cucurbit species to *L. momordicae* isolates in order to add information that may help in the
722 management practices. Thus, 12 field-collected *L. momordicae* isolates obtained across four
723 Brazilian regions were employed to inoculate 11 accessions belonging to six Cucurbitaceae
724 species. The disease severity and size of the lesions (cm) were employed as criteria to evaluate
725 the reaction of the plant accessions to these isolates in controlled bioassays. All accessions were
726 susceptible to all pathogen isolates. Two new natural hosts of *L. momordicae* were recorded in
727 the field-collected isolates, which were afterward confirmed in the controlled bioassays:

728 zucchini (*Cucurbita pepo*) and *Cyclanthera pedata*. In addition, pumpkin (*C. maxima*), gherkin
 729 (*Cucumis anguria*) and *Melothria pendula* were identified as novel experimental hosts of *L.*
 730 *momordicae*. Inoculated cucumber plants displayed the highest levels of susceptibility,
 731 followed by chayote (*Sechium edule*) and *L. cylindrica*. *Melothria pendula* displayed the
 732 smallest lesions. Analyzing the isolates individually, nine of the 12 isolates differed statistically
 733 in terms of aggressiveness to the hosts. The isolate EH-2626 was the most aggressive, followed
 734 by EH-2678 and EH-2608. These isolates were collected across distinct regions (Pernambuco,
 735 Distrito Federal and Bahia, respectively), indicating no strong correlation between level of
 736 aggressiveness of the isolates and their geographic origin. Significant interactions between host
 737 accessions and isolates were also observed. However, the severity levels of the isolates were
 738 not strongly associated with their original hosts, indicating low levels of host-specificity of this
 739 collection of *L. momordicae* isolates. In this way, the present work adds new information of
 740 interest to improve the management practices of the net spot in different hosts within the
 741 Cucurbitaceae family.

742

743 **Key-words:** Cucurbits, net spot, host range.

744

745

746

747 **Introdução**

748

749 A família Cucurbitaceae abriga aproximadamente 95 gêneros e 980 espécies (Schaefer
 750 e Renner, 2011). As espécies desta família botânica encontram-se amplamente distribuídas pelo
 751 mundo, embora apresentem maior ocorrência em regiões de clima tropical e subtropical
 752 (Schaefer e Renner, 2011). Estima-se que Cucurbitaceae esteja entre as 15 famílias de hortaliças
 753 mais cultivadas no Brasil, sendo as mais expressivas *Cucumis melo* L. (melão), *Citrullus*
 754 *lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai (melancia), *Cucurbita moschata* Duchesne (abóbora), *C.*
 755 *maxima* Duchesne ex Lam. (moranga), *C. pepo* L. (abobrinha), *Cucumis sativus* L. (pepino),
 756 *Sechium edule* Jacq. (chuchu) e *Cucumis anguria* L. (maxixe) (Henz, 2009). Em um ranking
 757 das 10 hortaliças mais consumidas no Brasil em 2018, a abóbora ocupa o 6º lugar, e o chuchu
 758 o 9º, e dentre as frutas, a melancia o 3º e o melão o 9º (IBGE, 2022).

759 A família Cucurbitaceae também engloba algumas espécies de hortaliças classificadas
 760 como PANCs (Plantas Alimentícias Não Convencionais). As espécies do grupo das PANCs
 761 apresentam distribuição geográfica geralmente limitada, e exercem importância na culinária
 762 regional e na cultura de alguns grupos populacionais (Madeira et al. 2013; Madeira e Kinupp
 763 2016). As hortaliças PANCs podem ser uma alternativa interessante na agricultura familiar,

764 tanto para a subsistência quanto para a comercialização dos seus produtos, como alimentos,
765 insumos agroindustriais, e suplementos alimentares com propriedades nutricionais e
766 farmacológicas (Botrel et al. 2020). Neste segmento, algumas cucurbitáceas merecem destaque,
767 como: abóbora d'água (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.), Bucha (*Luffa cylindrica* (L.) M.
768 Roem), chuchu-de-vento (*Cyclanthera pedata* (L.) Schrad.), croá (*Sicana odorifera* (Vell.)
769 Naudin), melão-de-são-caetano/nigauri (*Momordica charantia* L.) e quiabo-de-metro
770 (*Trichosanthes cucumerina* L.) (Yuyama et al. 1999; Fernandes et al. 2005; MADEIRA et al.
771 2013; Soares e Gaudioso, 2013; Aguiar et al. 2014; Lopes, 2020; Silva e Souza, 2020). Apesar
772 do potencial que apresentam, são escassas as informações na literatura sobre o cultivo e manejo
773 dessas espécies, principalmente no tocante ao manejo fitossanitário, o que evidencia a
774 necessidade de pesquisas envolvendo essa temática.

775 As cucurbitáceas são vulneráveis ao ataque de diversos patógenos, mais de 200 doenças
776 já foram relatadas afetando a produtividade de espécies dentro dessa família botânica (Zitter et
777 al. 1996). A mancha zonada ou mancha reticulada (net spot), causada por isolados de *Leandria*
778 *momordicae* Rangel, tem sido apontada como uma das principais doenças de etiologia fúngica
779 no cultivo do pepino e do chuchu nas condições brasileiras, estando distribuída em praticamente
780 todo território nacional (Hasagawa, 2015). Os cultivos de pepino e chuchu podem apresentar
781 severas perdas de produção ou serem inviabilizados em condições climáticas favoráveis ao
782 desenvolvimento do patógeno (Moretto et al. 1993; Rebelo, 2003; Reis e Feitosa, 2021). De
783 fato, em cultivos de pepino em campo aberto, a mancha zonada tem sido considerada a principal
784 doença fúngica da cultura em praticamente todas as regiões produtoras do Brasil (Reis e Feitosa,
785 2021). Prejuízos na cultura do chuchu induzidos por isolados de *L. momordicae* também têm
786 sido frequentemente relatados, apresentando uma maior importância no Norte e Nordeste do
787 país (Sarmiento et al. 1999; Cardoso et al. 2001; Reis e Feitosa, 2021).

788 As estratégias de manejo da mancha zonada têm sido predominantemente preventivas.
789 Embora acessos de pepino com níveis elevados de tolerância (Blazquez, 1983; Moretto et al.
790 1993; Lopes et al. 1999) ou de resistência vertical (Hasagawa, 2015) tenham sido detectados,
791 ainda existe uma escassez de cultivares comerciais resistentes ao patógeno (Reis e Feitosa,
792 2021). Medidas de controle cultural em combinação com o controle químico via aplicação de
793 fungicidas registrados se constituem nas mais importantes ferramentas disponíveis para o
794 manejo da doença. Entre as medidas culturais empregadas encontram-se a destruição de restos
795 culturais; evitar a implantação dos campos de cultivo nas proximidades de outras cucurbitáceas
796 hospedeiras; eliminar plantas espontâneas de cucurbitáceas (cultivadas ou não) que possam
797 abrigar o patógeno e favorecer a multiplicação de inóculo (Reis e Feitosa, 2021).

798 A rotação de culturas com plantas não hospedeiras também tem sido um dos métodos
799 preconizados de manejo (Cardoso, 2001; Reis e Feitosa, 2021). Neste sentido, conhecer a gama
800 de hospedeiras de *L. momordicae* é indispensável para uma eficiente implementação dessas
801 práticas (Fry, 1982; Reis e Feitosa, 2021). Algumas vezes é possível prever a potencial gama
802 de hospedeiras de fitopatógenos, tendo em vista, que geralmente, tendem a infectar espécies de
803 plantas filogeneticamente mais relacionadas (Gilbert e Webb, 2007; Morris e Moury, 2019).
804 Esse conceito co-evolucionário possivelmente se aplica a *L. momordicae*, uma vez que este
805 fungo tem sido relatado apenas atacando espécies da família Cucurbitaceae (Rebelo, 2003; Reis
806 e Feitosa, 2021; Farr e Rossmann, 2022). Na literatura, embora não existam registros formais
807 para algumas delas, as diferentes espécies de cucurbitáceas relatadas como hospedeiras de *L.*
808 *momordicae* incluem o melão-de-são-caetano, pepino, chuchu, melão e melancia (Farr e
809 Rossmann, 2022). Nas três primeiras, a presença do patógeno é mais frequente e já foi
810 formalizada (Maublanc e Rangel, 1915; Blazquez, 1983; Cardoso et al. 2001; Rebelo, 2003;
811 Hasegawa, 2015; Reis e Feitosa, 2021).

812 No entanto, os estudos sobre a gama de espécies hospedeiras dentro da família
813 Cucurbitaceae ainda não são extensos, se observando uma falta geral de informações sobre
814 potenciais hospedeiras alternativas desse patógeno. Nesse contexto, os objetivos do presente
815 trabalho foram: (i) confirmar a presença de *L. momordicae* em sintomas do tipo mancha zonada
816 em diferentes amostras de cucurbitáceas coletadas no Brasil; (ii) avaliar a reação de diferentes
817 espécies de cucurbitáceas a isolados deste patógeno, visando gerar novas informações que
818 possam auxiliar na implementação práticas eficientes de manejo da doença.

819

820 **Material e Métodos**

821

822

823 **Origem e obtenção dos isolados**

824 Os isolados utilizados no presente trabalho foram coletados em áreas de cultivo
825 comercial e em plantas cultivadas, voluntárias ou silvestres de cucurbitáceas nas regiões
826 Centro-Oeste, Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil. Na Tabela 1 estão descritas informações a
827 respeito dos isolados, incluindo: código da coleção, hospedeiro de origem e ano de coleta.
828 Durante visitas realizadas às propriedades, quando observados sintomas de mancha zonada (em
829 espécies convencionais, PANCs ou silvestres), procedeu-se à coleta de folhas, que foram
830 conduzidas ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças para exame em microscópio
831 estereoscópico. Ao se constatar a presença de esporos com aspecto morfológico típico de *L.*
832 *momordicae*, realizou-se os isolamentos monospóricos em meio ágar-água (16 g de ágar e 1000

833 mL de água destilada). Dois dias depois, pequenos blocos de ágar-água contendo esporos
 834 germinados foram transferidos para placas de Petri contendo meio V8 CaCO₃ ágar (200 mL de
 835 suco V8 Campbell Soup[®], 3,2 g de CaCO₃, 16 g ágar e 800 mL de água destilada) (Tuite, 1969),
 836 visando obter colônia monospórica dos diferentes isolados do patógeno. Em seguida, as placas
 837 foram incubadas em câmara germinadora BOD, a 18 °C, e fotoperíodo de 12/12 horas
 838 (claro/escuro). Folhas com sintomas, mas sem presença de esporos do patógeno, foram
 839 submetidas à câmara úmida, para induzir a esporulação. As folhas eram reexaminadas após 48
 840 horas e, caso houvesse a produção de esporos, se procedia o isolamento como já mencionado.
 841 Com aproximadamente 20 dias de cultivo, os isolados foram preservados em água destilada
 842 esterilizada (ADE) (Castellani, 1967) e em glicerol 35%, e mantidos em câmara fria (10 °C) e
 843 em ultrafreezer (-80 °C).

844

845 **Tabela 1.** Informações dos isolados de *Leandria momordicae*, obtidos de plantas de
 846 cucurbitáceas em quatro macrorregiões geográficas do Brasil.

Isolado	Local de coleta	hospedeiro	Ano de coleta
EH-2555	Vargem Bonita-DF	<i>Momordica charantia</i>	2019
EH-2606	Jaguaquara-BA	<i>Cucumis sativus</i>	2019
EH-2608*	Jaguaquara-BA	<i>Sechium edule</i>	2019
EH-2609	Jaguaquara-BA	<i>Sechium edule</i>	2019
EH-2616*	Jaguaquara-BA	<i>Cucumis sativus</i>	2019
EH-2525	Vitória de Santo Antão-PE	<i>Momordica charantia</i>	2019
EH-2626*	Vitória de Santo Antão-PE	Melão-de-são-caetano	2019
EH-2629	Camocim de São Félix-PE	abobrinha	2019
EH-2669	Brazlândia-DF	Chuchu	2020
EH-2670	Brazlândia-DF	Chuchu	2020
EH-2672*	Ceilândia-DF	Pepino	2020
EH-2673*	Brazlândia-DF	Chuchu	2020
EH-2674	Brazlândia-DF	Melão-de-são-caetano	2020
EH-2675	Ceilândia-DF	Pepino	2020
EH-2676	Ceilândia-DF	Pepino	2020
EH-2677	Ceilândia-DF	Pepino	2020
EH-2678*	Brazlândia-DF	Melão-de-são-caetano	2020
EH-2714*	Recanto das Emas-DF	Nigauri	2021
EH-2715*	Recanto das Emas-DF	Nigauri	2021
EH-2716	Recanto das Emas-DF	Nigauri	2021
EH-2717	Gama-DF	Chuchu-de-vento	2021
EH-2718*	Gama-DF	Chuchu-de-vento	2021
EH-2719	Gama-DF	Chuchu-de-vento	2021
EH-2720*	Gama-DF	Chuchu-de-vento	2021
EH-2721	Gama-DF	Chuchu-de-vento	2021
EH-2722	Gama-DF	Chuchu-de-vento	2021

EH-2803	Santa Maria do Jetibá-ES	Chuchu	2021
EH-2804	Santa Maria do Jetibá-ES	Chuchu	2021
EH-2805	Tijucas-SC	Melão-de-são-caetano	2021
EH-2806	Tijucas-SC	Melão-de-são-caetano	2021
EH-2807	Tijucas-SC	Melão-de-são-caetano	2021
EH-2833*	Camocim de São Félix-PE	Abobrinha	2021
EH-2834*	Camocim de São Félix-PE	Abobrinha	2021
EH-2835	Chã Grande-PE	Abobrinha	2021

847

848

849 **Teste de patogenicidade e seleção da metodologia de inoculação**

850

851 Todos os isolados obtidos foram empregados em testes de patogenicidade de modo a
852 cumprir os postulados de Koch. Inicialmente, foi realizado um ensaio em casa de vegetação,
853 com inoculação em mudas. Devido à dificuldade na indução de conídios, discos de meio V8
854 colonizados pelo patógeno foram empregados como inóculo. Entretanto, o teste realizado na
855 casa de vegetação não resultou em sintomas da doença nas plantas inoculadas. Diante disso,
856 decidiu-se avaliar diferentes combinações de metodologias de produção de inóculo do patógeno
857 e de inoculação das plantas em condições controladas. Todas as metodologias envolveram a
858 utilização de folhas destacadas, cujos pecíolos foram envoltos em algodão umedecido em água
859 destilada com o objetivo de prolongar a vida útil do órgão vegetal. As folhas inoculadas foram
860 mantidas em câmara úmida em caixa gerbox, que foram acomodadas em BOD a 18 °C, e em
861 regime de fotoperíodo de 12/12 horas (claro/escuro), durante 15 dias. Assim, foram avaliadas
862 oito metodologias com três fontes de variação: (1) inóculo na forma de discos ou suspensão de
863 conídios, (2) folha inoculada efetuando ranhuras ou sem ranhuras no tecido foliar, e (3)
864 inoculação na face abaxial ou adaxial do tecido foliar (Tabela 2). No caso da utilização de discos
865 de micélio, foram obtidos com auxílio de cortador metálico de 0,5 cm. No caso do emprego de
866 suspensão de esporos, as concentrações do inóculo foram ajustadas (com auxílio de câmara de
867 Neubauer) para 1×10^4 conídios/mL. Em ambos os casos, os isolados foram cultivados em
868 condições idênticas as descritas como para o primeiro ensaio. Quanto às ranhuras, foram
869 promovidas por leve fricção de gaze sobre a epiderme foliar, utilizando um molde de disco
870 (0,5cm) de papel filtro, correspondendo ao local de deposição do disco micelial ou da
871 suspensão. Neste ensaio prévio, foi possível verificar o surgimento de sintomas em todas as
872 metodologias. No entanto, os sintomas mais severos foram observados na metodologia 5
873 (Tabela 2) que combinou inoculação via suspensão de conídios, promoção de ranhuras, e
874 inoculação da face abaxial. Portanto, essa foi a metodologia adotada para realização do teste de

875 patogenicidade de todos os isolados. No caso das plantas testemunhas, as folhas foram
 876 inoculadas com ADE (água destilada esterilizada) ao invés de suspensão de conídios (Figura
 877 1).

878

879 **Tabela 2.** Detalhamento das metodologias testadas no ensaio de patogenicidade dos isolados
 880 de *Leandria momordicae* em folhas de espécies de Cucurbitaceae.

	Fonte de inóculo		Integridade da folha		Face inoculada	
	disco	suspensão	com ranhura	sem ranhura	abaxial	adaxial
Metodologia 1	x		x		x	
Metodologia 2	x		x			x
Metodologia 3	x			x	x	
Metodologia 4	x			x		x
Metodologia 5		x	x		x	
Metodologia 6		x	x			x
Metodologia 7		x		x	x	
Metodologia 8		x		x		x

881

882

883

884

885

886

887

888

889



890 **Figura 1.** Aspectos da metodologia selecionada para inoculação de *Leandria momordicae*. **A.**

891 Confecção de ranhuras nas folhas. **B.** Deposição de suspensão de esporos sobre tecido vegetal

892 após produção das ranhuras. **C.** Lesões observadas 15 dias após inoculação. **D.** Esporos de *L.*

893 *momordicae* visualizados em microscópio estereoscópico.

894

895 Dessa forma, folhas destacadas das mesmas espécies em que foram obtidos os isolados

896 foram inoculadas com os isolados correspondentes. As avaliações ocorreram 15 dias após a

897 inoculação, onde foi anotada apenas a presença ou ausência de sintomas. Ao se constatar os

898 sintomas, as lesões foram examinadas em lupa estereoscópica para verificação de estruturas do

899 patógeno e proceder-se ao reisolamento do fungo em V8 CaCO₃ ágar. Ao se obter a cultura,

900 esta foi comparada com a cultura inicial quanto às suas características morfológicas.

901

902

902 **Avaliação da reação de espécies de cucurbitáceas ao fungo *Leandria momordicae***

903

904 O teste de patogenicidade possibilitou comparar os isolados quanto à capacidade de
905 causar doença. Essas informações forneceram suporte para a escolha dos isolados que seriam
906 utilizados no teste de gama de hospedeiras. A seleção dos isolados foi feita levando-se em
907 consideração alguns critérios: serem patogênicos, de diferentes hospedeiras, de regiões
908 geográficas distintas e maior capacidade de esporulação. Assim, para os testes de gama de
909 hospedeiras foram selecionados dois isolados de cada espécie hospedeira das quais foram
910 obtidos (com exceção de melão-de-são-caetano, pela dificuldade em produzir mudas, mas é
911 importante esclarecer que melão-de-são-caetano e nigauri se tratam da mesma espécie
912 botânica), perfazendo um total de 12 isolados (discriminados com ‘*’ na Tabela 1). Cada
913 isolado foi inoculado em 11 espécies (sendo 12 genótipos) de cucurbitáceas, cultivadas ou
914 selvagens. Neste sentido, foram inoculadas folhas destacadas de: abóbora d’água (*Lagenaria*
915 *siceraria* (Molina) Standl.), abóbora menina (*Cucurbita pepo*), abóbora moranga (*C. maxima*),
916 abóbora sergipana (*C. moschata*), abobrinha de moita (*C. pepo*), bucha (*L. cylindrica*), chuchu
917 (*S. edule*), chuchu-de-vento (*C. pedata*), maxixe (*C. anguria*), nigauri (*M. charantia*),
918 pepininho-do-mato (*Melotria pendula*) e pepino (*C. sativus*). Abóbora menina e abobrinha são
919 acessos pertencem a mesma espécie. A metodologia utilizada neste ensaio foi a mesma adotada
920 para realização do teste de patogenicidade (metodologia 5 – Tabela 2), bem como as condições
921 de incubação, foram as mesmas. Aos 15 dias após a inoculação, as folhas foram avaliadas
922 quanto à presença ou ausência de sintomas. Caso tenham sido desenvolvidas manchas foliares,
923 os diâmetros das lesões eram medidos em duas direções com auxílio de uma régua graduada
924 com precisão de milímetros, sendo, portanto, também avaliadas quanto à severidade. Ao
925 término das avaliações, o patógeno foi reisolado de modo verificar se as características da
926 cultura, seriam compatíveis às do isolamento inicial. O experimento foi conduzido em
927 delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial, sendo 12 genótipos, 12 isolados,
928 com três repetições por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância
929 pelo Teste F, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade, sendo
930 utilizado o software Assistat versão 7.7.

931

932 **Resultados**

933

934 **Teste de patogenicidade**

935

936 Verificou-se que todos os isolados obtidos neste estudo foram patogênicos às suas
937 hospedeiras originais, pois foram capazes de causar sintomas nas folhas (Figura 2), e foram

938 posteriormente reisolados, originando culturas semelhantes às culturas iniciais. Com isso,
 939 foram completados os postulados de Koch. Esses testes permitiram identificar chuchu-de-vento
 940 e abobrinha como hospedeiras naturais de *L. momordicae*, sendo esse o primeiro relato.

941

942

943

944

945

946

947

948

949

950

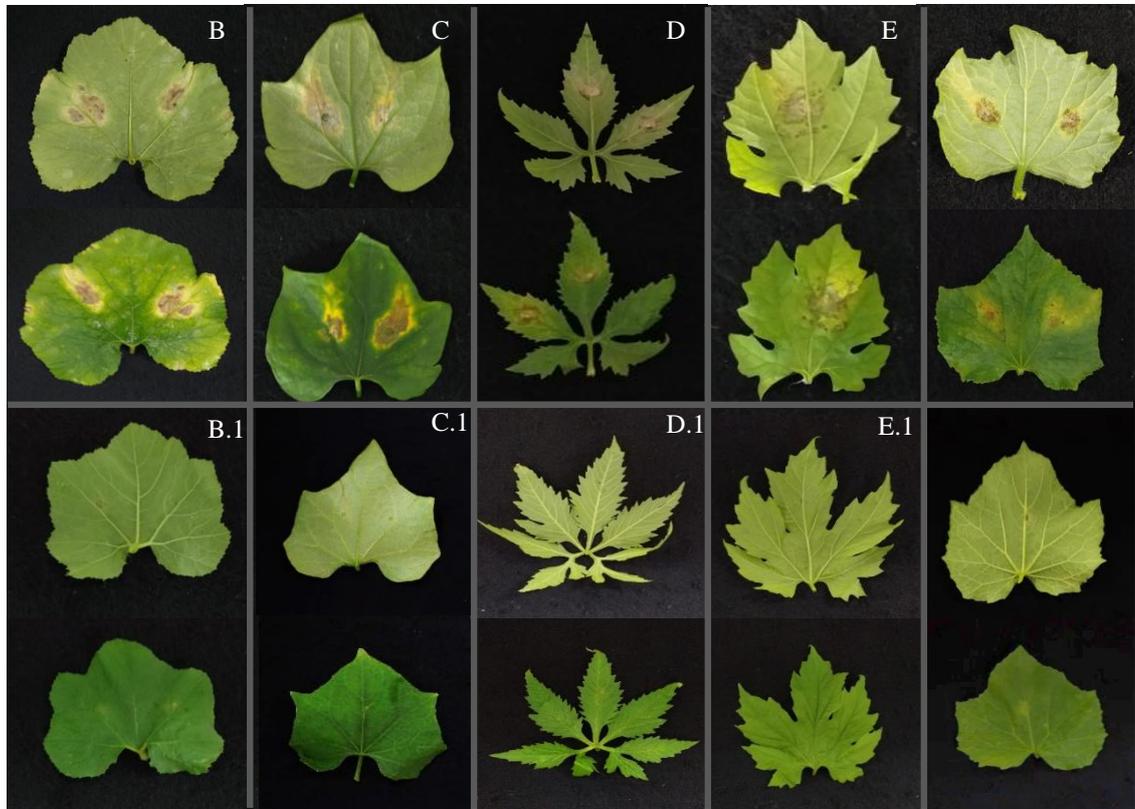
951

952

953

954

955



956 **Figura 2.** Folhas com sintomas e testemunhas. **A.** Abobrinha – EH2833. **B.** chuchu – EH2673.
 957 **C.** chuchu-de-vento – EH2718. **D.** nigauri – EH2715. **E.** pepino – EH2672. **A.1, B.2, C.3, D.1**
 958 **e E.1,** tratamento controle (folhas inoculadas com água), abobrinha, chuchu, chuchu-de-vento,
 959 nigauri e pepino, respectivamente.

960

961 **Gama de hospedeiras**

962 As inoculações foram realizadas em 11 espécies (sendo 12 acessos/cultivares),
 963 utilizando 12 isolados de *L. momordicae*, incluindo uma testemunha (plantas não inoculadas)
 964 para cada acesso. A análise de variância revelou que a interação entre estes foram significativos
 965 ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$), e, portanto, os dados foram submetidos ao teste de
 966 Tukey, que foram significativos ao nível de 1% de probabilidade. Analisando apenas o fator
 967 espécie de planta, o pepino foi a cultura mais suscetível ao patógeno, seguido por chuchu e
 968 bucha, não diferindo estatisticamente dessas, mas diferindo das demais. O pepininho-do-mato
 969 foi a espécie com menor diâmetro de lesão (Tabela 3a).

970 Os bioensaios de avaliação da gama de hospedeiras permitiram identificar espécies
 971 ainda não relatadas como hospedeiras de *L. momordicae*, como abóbora moranga, abobrinha,
 972 pepininho-do-mato, maxixe, chuchu-de-vento.

973 Analisando o fator isolado separadamente, EH-2626 foi o mais agressivo, seguido dos
 974 isolados EH-2678 e EH-2608, diferindo estatisticamente dos demais. Os isolados EH-2672,
 975 EH-2834, EH-2714, EH-2616 e EH-2715, foram os menos agressivos, e não diferiram entre si
 976 (Tabela 3b). Como descrito na Tabela 1, EH-2626 foi isolado de melão-de-são-caetano e é
 977 oriundo de Pernambuco. O isolado EH-2678, também de melão-de-são-caetano, do Distrito
 978 Federal, e EH-2608 de chuchu, de Jaguaquara-BA.

979 **Tabela 3.** Severidade da mancha zonada em espécies de cucurbitáceas (a) inoculadas
 980 com isolados de *Leandria momordicae* (b), expressa em diâmetro das lesões (cm).

a		b	
Espécie	Diâmetro médio (cm)	Isolado	Diâmetro médio (cm)
Pepino	1.25767 a	EH-2626	1.34920 a
Chuchu	1.19164 ab	EH-2678	1.24286 ab
Bucha	1.15789 abc	EH-2608	1.23752 ab
Abóbora menina	1.14089 bcd	EH-2718	1.22489 bc
Abobrinha	1.13685 bcd	EH-2673	1.22436 bc
Abóbora moranga	1.13497 bcd	EH-2720	1.22419 bc
Nigauri	1.12074 bcd	EH-2835	1.20287 bc
abóbora sergipana	1.06923 cde	EH-2672	1.16490 bcd
Chuchu-de-vento	1.06215 cde	EH-2834	1.16411 bcd
Maxixe	1.03438 def	EH-2714	1.13666 bcd
Abóbora d'água	0.99683 ef	EH-2616	1.10899 cd
Pepininho do mato	0.92610 f	EH-2715	1.05123 d
		Testemunha	0.00000 e

981 *Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em $x = \sqrt{x}$; as médias seguidas
 982 pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$)
 983

984 Todos os isolados foram capazes de infectar e produzir sintomas em todas as espécies
 985 de cucurbitáceas avaliadas, visto que, os diâmetros das lesões diferiram estatisticamente em
 986 relação aos das testemunhas (Figura 3). Analisando cada isolado separadamente, em contraste
 987 com todas as espécies inoculadas, verificou-se diferença estatística significativa quanto aos
 988 tamanhos das lesões produzidas, com exceção dos isolados (EH2714, EH2715 e EH2616). Foi
 989 observado que alguns isolados se mostravam mais agressivos a uma determinada espécie que a
 990 outras. Ao se contrastar abóbora d'água com todos os 12 isolados individualmente, nenhum dos
 991 isolados se sobressaiu em termos de tamanho das lesões, não houve diferença estatística entre

992 eles. O mesmo foi observado para o chuchu, chuchu-de-vento, maxixe e pepininho-do-mato
 993 (Tabela 4).

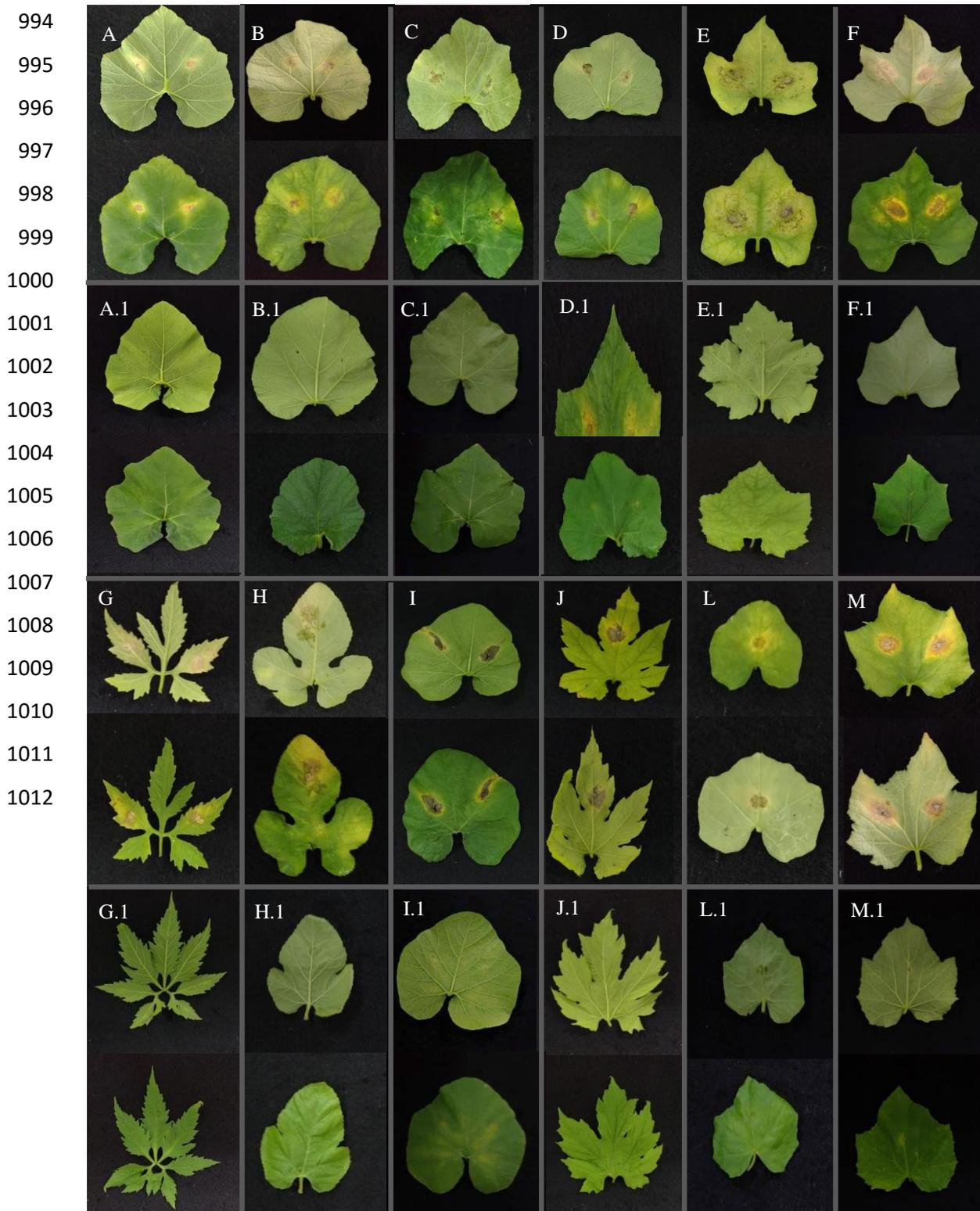


Figura 3. Folhas com sintomas e testemunhas. O isolado EH2678 foi utilizado nas inoculações. **A.** abóbora sergipana. **B.** abóbora d'água. **C.** abóbora menina. **D.** abobrinha. **E.** bucha. **F.** chuchu. **G.** chuchu-de-vento. **H.** maxixe. **I.** abóbora moranga. **J.** nigauri. **L.** pepininho-do-mato. **M.** Pepino. **A.1, B.2, C.3, D.1, E.1, F.1, G.1, H.1, I.1, J.1, L.1 e M.1** tratamento controle (folhas inoculadas com água), abóbora sergipana, abóbora d'água, abóbora menina, abobrinha, bucha, chuchu, chuchu-de-vento, maxixe, abóbora moranga, nigauri, pepininho-do-mato e pepino, respectivamente.

Tabela 4. Efeito da interação entre espécies de cucurbitáceas e isolados de *L. momordicae* na severidade da doença expressa em diâmetro (cm) das lesões.

Espécies	Isolados												Testemunha
	Eh2834	Eh2835	Eh2608	Eh2673	Eh2718	Eh2720	Eh2626	Eh2878	Eh2714	Eh2715	Eh2616	Eh2672	
Abóbora d'água	1.2602 abA	1.1760 abA	1.3021 abcA	1.0283 bcA	1.0205 bA	0.9486 bA	1.2753 abcA	1.1174 abcA	0.9882 aA	0.8944 aA	0.9942 aA	0.9537 bA	0.0000 aB
Abóbora menina	1.2210 abABC	1.1216 abC	1.3175 abcABC	1.6314 aA	1.1833 abBC	1.5575 aAB	1.2033 bcBC	1.2853 abcABC	1.1084 aC	1.0988 aC	0.9955 aC	1.1079 abC	0.0000 aD
Abóbora moranga	1.2383 abAB	1.1503 abAB	1.2371 abcAB	1.2654 abcAB	1.2043 abAB	1.2941 abAB	1.4593 abA	1.1265 abcAB	1.2352 aAB	1.0940 aAB	0.9918 aB	1.4585 aA	0.0000 aC
Abóbora sergipana	1.3928 aA	1.2262 abAB	0.9861 cAB	1.0943 bcAB	1.1646 abAB	1.2371 abAB	1.2356 bcAB	1.3060 abcAB	1.0659 aAB	0.9033 aB	1.0369 aAB	1.2514 abAB	0.0000 aC
Abobrinha	1.0960 abB	1.3633 abAB	1.3348 abcAB	1.3286 abAB	1.3585 abAB	0.9797 bB	1.6554 aA	1.3777 abAB	1.2215 aB	1.0487 aB	1.0362 aB	0.9786 bB	0.0000 aC
Bucha	1.2300 abABC	1.3786 abABC	1.4798 aAB	1.1348 bcABC	1.3106 abABC	1.5118 aA	1.3498 abcABC	1.2708 abcABC	1.1044 aABC	1.0634 aBC	1.0482 aC	1.1703 abABC	0.0000 aD
Chuchu	1.2218 abA	1.3830 aA	1.4264 abA	1.1214 bcA	1.2198 abA	1.3338 abA	1.3349 abcA	1.3395 abcA	1.2721 aA	1.1208 aA	1.2934 aA	1.4244 aA	0.0000 aB
Chuchu-de-vento	0.9879 abA	1.1842 abA	1.0569 bcA	1.3225 abA	1.1057 abA	1.2650 abA	1.2971 abcA	1.0991 bcA	0.9995 aA	0.9907 aA	1.3505 aA	1.1488 abA	0.0000 aB
Maxixe	1.0677 abA	1.1397 abA	1.1915 abcA	0.9077 cA	1.2830 abA	1.0730 bA	1.2898 abcA	1.2031 abcA	1.3010 aA	1.0212 aA	0.9878 aA	0.9815 bA	0.0000 aB
Nigauri	1.0568 abBC	1.1231 abABC	0.9520 cC	1.3552 abABC	1.4560 aAB	1.2406 abABC	1.4955 abA	1.3461 abABC	1.0756 aBC	1.1037 aABC	1.3012 aABC	1.0638 abBC	0.0000 aD
Pepino	1.2320 abAB	1.2184 abB	1.3165 abcAB	1.4308 abAB	1.3810 abAB	1.3051 abAB	1.6474 aA	1.5121 aAB	1.2809 aAB	1.2772 aAB	1.2950 aAB	1.4533 aAB	0.0000 aC
Pepininho do mato	0.9648 bA	0.9699 bA	1.2497 abcA	1.0720 bcA	1.0113 bA	0.9439 bA	0.9470 cA	0.9305 cA	0.9873 aA	0.9987 aA	0.9773 aA	0.9867 bA	0.0000 aB
CV (%)	13.92												

*Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em $x = \sqrt{x}$. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,01$).

1013

1014 **Discussão**

1015

1016 Duas novas hospedeiras naturais de *L. momordicae*, chuchu-de-vento e abobrinha,
1017 foram identificadas neste estudo. Embora Rebelo (2003) tenha relatado a abobrinha como
1018 hospedeira do fungo, o autor não menciona ter feito um teste de patogenicidade em
1019 cumprimento aos postulados de Koch (1881).

1020 O fato da severidade da doença ter sido maior nas culturas do pepino e do chuchu
1021 confirma as observações de campo, onde tem sido identificado elevados níveis de
1022 suscetibilidade destas duas hospedeiras, em condições de cultivos comerciais no Brasil (Reis
1023 e Feitosa, 2021)

1024 Os bioensaios de gama de hospedeiras revelaram novas hospedeiras experimentais de *L.*
1025 *momordicae*: abóbora moranga, pepininho-do-mato e maxixe e chuchu-de-vento. Como esse
1026 resultado foi obtido apenas via inoculação artificial, recomenda-se verificar a presença de
1027 infecção natural pelo patógeno nessas espécies na natureza para verificar a possibilidade de que
1028 estas também sejam hospedeiras naturais do patógeno ainda não registradas. A observação de
1029 que o pepininho-do-mato foi suscetível está em desacordo com o relato de Rebelo (2003), que
1030 indicou essa espécie como sendo não hospedeira. Da mesma forma, a confirmação no presente
1031 trabalho de que a abóbora moranga é uma hospedeira de *L. momordicae* está em divergência
1032 com o que foi observado pelo autor. Blazquez (1983) também observou que mesmo havendo
1033 plantas próximas aos plantios de pepino infectados, *C. maxima* não apresentava sintomas da
1034 doença, sugerindo que esta espécie não era hospedeira. Essas divergências de resultados podem
1035 ser explicadas pela presença de distintos materiais genéticos para os bioensaios e as condições
1036 de inoculação e incubação, que favorecem muito a infecção da planta pelo patógeno.

1037 O fato dos isolados mais agressivos serem oriundos de diferentes estados, e de diferentes
1038 hospedeiros, sugere que não há correlação entre a agressividade dos isolados com a origem
1039 geográfica aos quais eles pertencem e nem com o hospedeiro do qual foi coletado. Estes
1040 resultados evidenciam uma aparente ausência de especialização ou preferência por hospedeiras
1041 nos isolados de *L. momordicae* avaliados.

1042 Provavelmente, o fato de todas as espécies avaliadas terem se comportado como
1043 hospedeiras de *L. momordicae* (embora com diferentes níveis de suscetibilidade) pode ser
1044 explicado pelo fato de pertencerem à mesma família botânica (Cucurbitaceae). Geralmente, os
1045 patógenos tendem a infectar plantas mais intimamente relacionadas em termos de distância
1046 evolutiva (Morris e Moury, 2019). O que se sabe é que, até o momento, só tem relato desse

1047 patógeno causando doença em espécies da família Cucurbitaceae (Reis e Feitosa, 2021; Farr;
1048 Rossman, 2022). Entretanto, não se pode descartar a possibilidade de que tenha hospedeiros
1049 alternativos em outras famílias botânicas, como mencionado por Rebelo (2003).

1050 Estes estudos revelaram que todas as espécies avaliadas quanto à reação aos isolados de
1051 *L. mormodicae* se comportaram como hospedeiras. Em destaque, verificou-se duas novas
1052 hospedeiras naturais de *L. momordicae*, abobrinha (*C. pepo*) e chuchu-de-vento (*C. pedata*),
1053 confirmado via postulados de Koch. E três novas hospedeiras experimentais, abóbora moranga
1054 (*Cucurbita maxima*), maxixe (*Cucumis anguria*) e pepininho-do-mato (*Melothria pendula*). No
1055 entanto, para essas hospedeiras experimentais, identificadas apenas com base em inoculações
1056 artificiais, recomenda-se a observação dessa associação na natureza, de modo a se confirmar
1057 cautelosamente se de fato são hospedeiras em condições naturais.

1058 As informações obtidas nessa pesquisa são úteis para nortear os produtores de
1059 cucurbitáceas em algumas práticas. Devem evitar a rotação de culturas e o estabelecimento de
1060 plantios novos de cucurbitáceas próximos as áreas de cultivos velhos utilizando as espécies
1061 avaliadas neste estudo, visto que todas são hospedeiras de *Leandria momordicae*.

1062

1063 **Agradecimentos**

1064 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação
1065 de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de
1066 doutorado.

1067 **Referências**

1068

1069 Aguiar ATE, Gonçalves C, Paterniani MEAGZ, Tucci MLS, Castro CEF (2014) Instruções
1070 Agrícolas para as Principais Culturas Econômicas. 7^a. ed. Instituto Agrônomo, Campinas,
1071 Brasil

1072

1073 Almeida DPF (2002) Cucurbitáceas hortícolas. Universidade do Porto.

1074

1075 Blazquez C H (1983) Net Spot of Cucumbers. Plant Disease 67: 534-536.

1076

1077 Botrel N, Freitas SC, Fonseca MJO, Melo RAC, Madeira NR (2020) Valor nutricional de
1078 hortaliças folhosas não convencionais cultivadas no Bioma Cerrado. Brazilian Journal of Food
1079 Technology 23:1-8

1080

1081 Cardoso MO, Boher B, Ávila AC, Assis LAG (2001) Doenças das cucurbitáceas no estado do
1082 Amazonas. Circular Técnica, 9. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Brasil

1083

- 1084 Castellani AA (1967) Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in
 1085 sterile distilled water: further researches Journal of Tropical Medicine & Hygiene 70:181-184
 1086
- 1087 Farr DF, Rossman AY (2015). Fungal database, U.S. National Fungus collections, ARS,
 1088 USDA. Disponível em: <https://nt.ars-grin.gov/fungalatabases/>
 1089
- 1090 Fernandes LA, Alves DS, Junior Ramos S, Oliveira FA, Costa CA, Martins ER (2005) Nutrição
 1091 mineral de plantas de maxixe-do-reino. Pesquisa Agropecuária Brasileira 40: 719-722
 1092
- 1093 Fry WE (1982) Principles of plant disease management. Orlando: Academic Press. 186 p.
 1094
- 1095 Gilbert GS, Webb CO (2007) Phylogenetic signal in plant pathogen–host range. Proceedings
 1096 of the National Academy of Sciences 104: 4979-4983
 1097
- 1098 Hasegawa JM (2015) Mancha mortal Revista Cultivar HF Disponível em :
 1099 <<https://revistacultivar.com.br/artigos/mancha-mortal>> Acesso em: 09 abr. 2022.
 1100
- 1101 Henz GP. Hortaliças (Capítulo 1). In: Henz GP, Alcântara FA. Hortas. Coleção 500 perguntas
 1102 500 respostas (2009) 1º Edição, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, Brasil
 1103
- 1104 IBGE (2018) Disponível em: <[https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/saude/24786-](https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/saude/24786-pesquisa-de-orcamentos-familiares-2.html?edicao=31309&t=sobre)
 1105 [pesquisa-de-orcamentos-familiares-2.html?edicao=31309&t=sobre](https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/saude/24786-pesquisa-de-orcamentos-familiares-2.html?edicao=31309&t=sobre)> Acesso em: 02 fev. 2022.
 1106
- 1107 Lopes GAAR Bucha vegetal é opção ecológica. Disponível em: <[https://portal.tce.go.gov.br/-](https://portal.tce.go.gov.br/-/bucha-vegetal-e-opcao-ecologica)
 1108 [/bucha-vegetal-e-opcao-ecologica](https://portal.tce.go.gov.br/-/bucha-vegetal-e-opcao-ecologica)> Acesso: 08 abr. 2022.
 1109
- 1110 Lopes MEBM, Sinigaglia C, Azevedo filho JA (1999) Controle químico da mancha zonada
 1111 (*Leandria momordicae*) em pepino. Revista de Agricultura 74: 25-33
 1112
- 1113 Madeira NR, Kinupp VF (2016) Experiências com as plantas alimentícias não convencionais
 1114 no Brasil. Informe Agropecuário 37: 7-11
 1115
- 1116 Madeira NR, Silva PC, Botrel N, Mendonça JL, Silveira GSR, Woods M. (2013) Manual de
 1117 Produção de Hortaliças Tradicionais. 1ª. ed. Embrapa Hortaliças Brasília, Brasil
 1118
- 1119 Maublanc A, Rangel, E (1915) Alguns fungos do Brasil, novos ou mal conhecidos. Boletim
 1120 de Agricultura, São Paulo 16:310 -328
 1121
- 1122 Moretto KCK, Barreto M, Churata-masca MGC (1993) Avaliação de genótipos de pepino
 1123 quanto à resistência à mancha zonada (*Leandria momordica*) Fitopatologia Brasileira 18: 407-
 1124 411
 1125
- 1126 Morris CE, Moury B (2019) Revisiting the Concept of Host Range of Plant Pathogens. Annual
 1127 Review of Phytopathology, p. 1-28
 1128
- 1129 Rebelo JA (2003) Mancha reticulada (*Leandria momordica* Rangel) em cucurbitáceas.
 1130 Universidade Federal do Rio Grande de Sul, Porto Alegre, Brasil. (Tese em Fitotecnia)
 1131
- 1132 Reis A , Feitosa MIS (2021) Identificação e manejo da mancha zonada do pepino e do chuchu.
 1133 Comunicado Técnico, 127. Embrapa Hortaliças, Brasília, Brasil
 1134

- 1135 Sarmiento JRR, Moretto KCK, Churata-Masca MGC. (1999) Controle da pinta-preta em
1136 tomateiro e da mancha-zonada em pepino por meio de bicarbonato de sódio e óleo vegetal.
1137 Horticultura Brasileira, 17:22
1138
- 1139 Schaefer H, Renner, SS (2011) Phylogenetic relationships in the order Cucurbitales and a new
1140 classification of the gourd family (Cucurbitaceae). Taxon, 60: 122–138
1141
- 1142 Silva TD, Souza PGVD (2020) *Momordica charantia* L., uma planta medicinal e seu potencial
1143 antitumoral: uma revisão sistemática. Brazilian Journal of Development. 6: 92949-92962
1144
- 1145 Soares ALR, Gaudioso TK (2013) Entre o sushi e o churrasco: gastronomia, culinária e
1146 identidade étnica entre imigrantes japoneses. Habitus, 11:77-94
1147
- 1148 Tuite J (1969) Plant pathological methods – fungi and bacterial. 5ª. ed. Minneapolis: Burgess
1149 Publishing Company
1150
- 1151 Yuyama LKO, Aguiar JPL, Macedo SHM, Yuyama K, Fávaro DIT, Afonso C, Vasconcellos,
1152 MBA (1999) Composição química, elementos essenciais e não essenciais no quiabo de metro
1153 (*Trichosanthes cucumerina* L.) e pepino (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cong.) da região
1154 amazônica, AM. Rev. da UA. Série: Ciências Agrárias, 8:53-6
1155
- 1156 Zitter TA, Hopkins DL, Thomas CE (1996) Compendium of cucurbits diseases. and a new
1157 classification of the gourd family (Cucurbitaceae). Taxon, 60: 122–138
1158
- 1159
- 1160
- 1161
- 1162
- 1163
- 1164
- 1165
- 1166
- 1167
- 1168
- 1169
- 1170
- 1171

1172

1173

1174

1175

1176

1177

1178

1179

1180

1181

1182

1183

1184

Capítulo IV

1185

1186

1187

Conclusões Gerais

1188

1189

1190

1191

1192

1193

1194

1195

1196 **Conclusões gerais**

1197

- 1198 1. As análises filogenéticas com os genes ITS, LSU e SSU concatenados, permitiu
1199 posicionar taxonomicamente os isolados *Leandria momordicae* na ordem Pleosporales;
1200 e como não se agruparam em nenhuma das famílias dessa ordem, sugere-se a criação
1201 de uma nova família, Leandriaceae para abrigar o gênero *Leandria*;
- 1202 2. As análises filogenéticas revelaram que há variações intraespecíficas entre os isolados de
1203 *Leandria momordicae*, o que sugere que possa haver mais de uma espécie, ou filotipos,
1204 mas estudos adicionais devem ser realizados para confirmar a hipótese;
- 1205 3. A descrição morfológica de *Leandria mormodicae* se assemelhou às primeiras
1206 características descritas do patógeno, que ocorreram há mais de um século;
- 1207 4. Um neótipo foi depositado no Herbário da Universidade de Viçosa (VIC) de onde
1208 recebeu a codificação VIC4754.
- 1209 5. Todas as espécies avaliadas quanto à reação à isolados de *L. mormodicae* se
1210 comportaram como hospedeiras;
- 1211 6. Abobrinha (*C. pepo*) e chuchu-de-vento (*C. pedata*) foram registradas como novas
1212 hospedeiras naturais de *L. momordicae*, demonstrado via postulados de Koch;
- 1213 7. Foram registradas três novas hospedeiras experimentais de *L. momordicae*, abóbora
1214 moranga (*Cucurbita maxima*), maxixe (*Cucumis anguria*) e pepininho-do-mato
1215 (*Melothria pendula*), baseado em inoculações artificiais, então, recomenda-se a observação
1216 dessa associação na natureza, de modo a se confirmar cautelosamente são hospedeiras em
1217 condições naturais.