



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DE PERNAMBUCO**
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM FITOPATOLOGIA**

Dissertação de Mestrado

Mancha foliar de *Alternaria*: uma nova doença em anonáceas

Everton Rodrigues Cavalcanti do Nascimento

**Recife – PE
2019**

EVERTON RODRIGUES CAVALCANTI DO NASCIMENTO

MANCHA FOLIAR DE ALTERNARIA: UMA NOVA DOENÇA EM ANONÁCEAS

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

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara

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

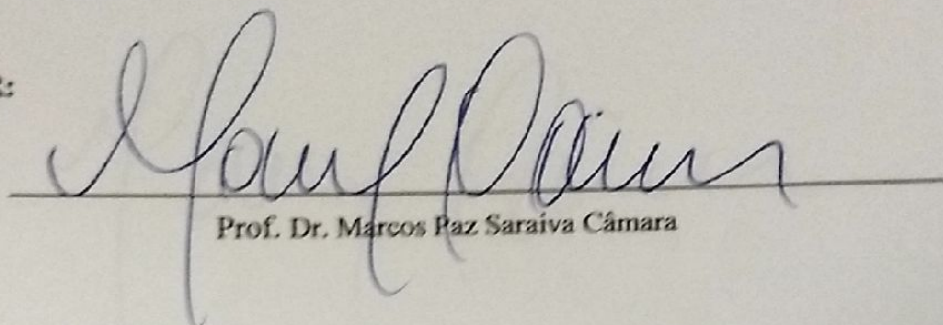
Dra. Josiene Silva Veloso

RECIFE-PE

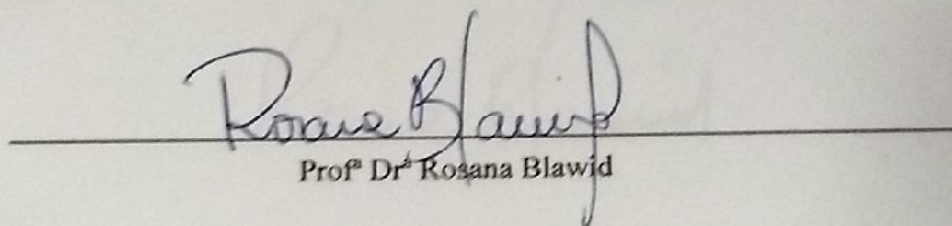
FEVEREIRO - 2019

MANCHA FOLIAR DE ALTERNARIA: UMA NOVA DOENÇA EM ANONÁCEAS**EVERTON RODRIGUES CAVALCANTI DO NASCIMENTO**

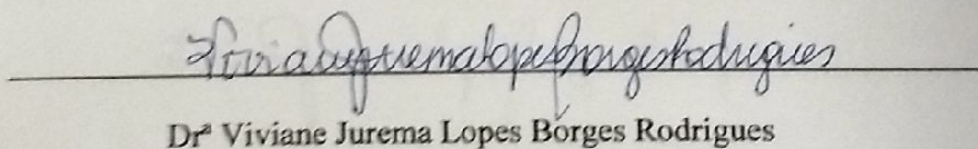
Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 27/ 02/ 2019

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara

EXAMINADORES:

Profª Drª Rosana Blawid



Drª Viviane Jurema Lopes Borges Rodrigues

RECIFE-PE**FEVEREIRO - 2019**

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, e por ter me dado a capacidade para o desenvolvimento do trabalho;

À minha mãe Elba, ao meu pai Gilvam e à minha irmã Natália por todo o apoio;

Aos professores Marcos Câmara e Alexandre Machado e a doutora Josiene Veloso pela orientação e confiança;

Ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pelo apoio institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da UFRPE pelos ensinamentos transmitidos, em especial aos professores Alessandro Nicoli e Sônia Maria Alves de Oliveira;

Aos membros do laboratório de Micologia da UFRPE, pela disposição durante a realização do trabalho, especialmente a Josiene Veloso pela grande contribuição direta nos trabalhos;

Aos amigos Agnes Guedes, Aline Souza, Armando Torres, Bárbara Oliveira, Bruno Rodrigues, Carlos Neves, Eunice Souza, Gabriela Albuquerque, Géssyka Campos, Jefferson Araújo, Jessyca Florêncio, Larissa Santos, Mariana Lima, Milka Lacerda, Nildson Rodrigues, Rodrigo Brito, Shayne Moura e Yure Melo pelo apoio durante a graduação;

Aos funcionários Darcy Martins e Romildo Angeiras pela atenção;

Por fim, a todos, que de algum modo, participaram deste momento.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO GERAL.....	vi
GENERAL ABSTRACT	vii
CAPÍTULO I - Introdução Geral	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
CAPÍTULO II - Mancha foliar de <i>Alternaria</i> : uma doença em expansão em anonáceas no Brasil	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAL E MÉTODOS	26
RESULTADOS.....	32
DISCUSSÃO.....	36
AGRADECIMENTOS.....	39
REFERÊNCIAS.....	40
DESTAQUES	57
CONCLUSÕES GERAIS	58

RESUMO GERAL

As anonáceas apresentam importância socioeconômica no Brasil, com destaque para a região Nordeste. O interesse na exploração comercial da cultura se deve, não só aos compostos nutritivos, como também as características medicinais, alelopáticas e pesticidas. As doenças fúngicas estão entre as principais causas de perda de produção em anonáceas. O gênero *Alternaria* apresenta distribuição mundial e diferentes estilos de vida, que variam entre saprófitas, endófitos e patógenos. Foram realizados isolamentos a partir de folhas sintomáticas, coletadas em regiões produtoras de anonáceas na Bahia e em Pernambuco. Através da aplicação dos postulados de Koch foi descoberta a associação entre espécies do gênero *Alternaria* e plantas do gênero *Annona*. Assim, o objetivo do trabalho foi identificar e inferir as relações filogenéticas dos isolados de *Alternaria* associados a espécies comerciais de anonáceas, bem como determinar a virulência e a prevalência dessas espécies. Seis regiões gênicas (ATPase, *Alt a1*, Calmodulina, GAPDH, EndoPG e OPA10-2) foram utilizadas para identificação molecular. Sete espécies foram identificadas associadas as anonáceas, das quais quatro são espécies previamente descritas (*A. alternata*, *A. jacinthicola*, *A. gossypina* e *A. tomato*). Uma nova espécie foi descrita como *Alternaria anonacearum*, e outras duas não foram identificadas como novas espécies, por apresentar um único isolado cada, sendo denominadas de *Alternaria* sp.1 e *Alternaria* sp.2. Para o teste de virulência foram utilizadas mudas de pinheira e gravioleira. Não houve diferença significativa quanto ao nível de virulência das sete espécies em gravioleira. Nas mudas de pinheira as espécies *A. alternata*, *A. jacinthicola*, *A. gossypina*, *A. tomato*, *A. anonacearum* e *Alternaria* sp.1 foram significativamente mais virulentas que a *Alternaria* sp.2. A nova espécie *A. anonacearum* foi a mais prevalente tanto em relação à área geográfica quanto na maioria das espécies hospedeiras.

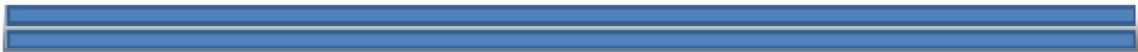
Palavras-chave: *Alternaria anonacearum*, filogenia, prevalência, virulência.

GENERAL ABSTRACT

The anonaceous species present socioeconomic importance in Brazil, with emphasis on the Northeast region. The interest in the commercial exploitation of the crop is due, not only to the nutritive compounds, but also the medicinal, allelopathic and pesticidal characteristics. Fungal diseases are among the main causes of loss of production in anonaceous. The genus *Alternaria* presents a global distribution and different lifestyles, ranging from saprophytes, endophytes and pathogens. Isolations were performed from symptomatic leaves collected in anonaceous producing regions in Bahia and Pernambuco. Through the application of Koch's postulates the association between species of the genus *Alternaria* and plants of the genus *Annona* was discovered. Thus, the objective of this work was to identify and infer the phylogenetic relationships of *Alternaria* isolates associated with commercial anonaceous species, as well as to determine the virulence and prevalence of these species. Six gene regions (ATPase, Alt a1, Calmodulin, GAPDH, EndoPG and OPA10-2) were used for molecular identification. Seven species were identified associated with the anonaceae, of which four are previously described species (*A. alternata*, *A. jacinthicola*, *A. gossypina* and *A. tomato*). A new species was described as *Alternaria anonacearum*, and two others were not identified as new species, because they present a single isolate each, being denominated *Alternaria* sp.1 and *Alternaria* sp.2. For the virulence test, sweetsop and soursop seedlings were used. There was no significant difference in the virulence level of the seven species in soursop. In the sweetsop saplings, the species *A. alternata*, *A. jacinthicola*, *A. gossypina*, *A. tomato*, *A. anonacearum* and *Alternaria* sp.1 were significantly more virulent than *Alternaria* sp.2. The new species *A. anonacearum* was the most prevalent both in relation to the geographical area and in most host species.

Keywords : *Alternaria anonacearum*, phylogeny, prevalence, virulence.

CAPÍTULO I



Introdução Geral

MANCHA FOLIAR DE ALTERNARIA: UMA NOVA DOENÇA EM ANONÁCEAS

INTRODUÇÃO GERAL

Anonáceas e importância econômica

O gênero *Annona* L. pertence à família Annonaceae e compreende cerca de 162 espécies de árvores e arbustos (CHATROU et al., 2012) distribuídas pelos continentes africano, asiático e americano (SÃO JOSÉ et al., 2014). O fruto de espécies como *Annona squamosa* (pinha), *Annona muricata* (graviola), *Annona cherimola* (cherimóia) e o híbrido *Annona squamosa* x *Annona cherimola* (atemóia) são bastante apreciados no mercado interno e externo, tanto para o consumo *in natura* como na forma de sucos e sorvetes (LEMOS, 2014; MELLO SILVA; PIRANI, 2003; SÃO JOSÉ et al., 2014).

A pinha, popularmente conhecida como fruta-do-conde ou ata, apresenta porte de 4,0-6,0 metros de altura com folhas lanceoladas, decíduas e de coloração verde brilhante na parte axial, sendo verde azulada na face abaxial (MANICA, 1994). As flores são hermafroditas, de coloração amarela esverdeada, solitárias ou em cachos (PAL; KUMAR, 1995). Os frutos são bagas compostas (sincarpo) de formato arredondado, ovoide, esférico ou cordiforme, medindo 5,0-10,0 cm de diâmetro e pesando 150-800g (FERREIRA et al., 1997).

A graviola, por sua vez, é conhecida popularmente como araticum-do-grande, guanabano ou coração-da-rainha. Apresenta porte de 3,5-8,0 metros altura, copa reduzida com ramificação assimétrica e folhagem compacta (MANICA, 1997). As folhas são ovaladas, oblongas e coriáceas, com pecíolos curtos e coloração verde escura na parte axial e verde amarelada na face abaxial, atingindo 5,0-18,0 cm de comprimento por 2,0-7,0 cm de largura (MANICA, 1997). Pesando entre 1 e 10 kg, o fruto de graviola pode atingir 16,0-30,0 cm de comprimento x 11,0-21,0 cm de largura, sendo por isso considerado o maior do gênero *Annona* (LIMA, 2002).

A cherimóia, popularmente denominada “chirimoyo” é uma espécie arbórea de até 7,0 m de altura (MANICA, 1997). As folhas, com pecíolos de 6,0-12,0 mm de comprimento, são simples, inteiras, muito finas, de filotaxia alternada e forma ovalada ou ovada-lanceolada com o dorso tomentoso e acinzentado. Os frutos apresentam formas variadas, com peso entre 250 e 600 gramas. A cherimóia ocorre espontaneamente nas regiões Andinas do Chile, Peru, Bolívia, Equador e em locais de temperaturas amenas (MANICA, 1997). Essa espécie é pouco cultivada no Brasil devido às condições de clima e altitude não serem favoráveis ao seu desenvolvimento (SILVA; MUNIZ, 2011).

A atemóia, resultante do cruzamento interespecífico entre *A. cherimola* e *A. squamosa*, apresenta a qualidade da cherimoia e a rusticidade e facilidade de produção da pinha (CRUZ et al., 2013). O fruto apresenta menor número de sementes, maior tempo de prateleira, ausência de rachaduras e resistência a pragas e doenças (MOSCA et al., 2006). Esse híbrido foi introduzido no Brasil em meados da década de 1980 (PEREIRA; KAVATI, 2011) e desde então, vem ganhando cada vez mais mercado.

O interesse na exploração comercial de anonáceas se deu em virtude da sua composição nutritiva e dos biocompostos com características medicinais, alelopáticas e pesticidas encontrados em várias partes da planta (INQUE et al., 2009; SÃO JOSÉ et al., 2014). Essas propriedades são condicionadas por substâncias do tipo acetogeninas encontradas exclusivamente na família Annonaceae, principalmente em espécies do gênero *Annona* (BERMEJO et al., 2005; COSTA et al., 2011; HERNÁNDEZ e ANGEL, 1997). As acetogeninas, bem como as anoninas ou anonacinas, asimicinas, bulatacinas, bulatacinonas e escuamocinas podem ser oralmente tóxicas a artrópodes fitófagos, acarretando inibição do crescimento e oviposição e também a mortalidade de embriões e/ou larvas em desenvolvimento (efeito ovicida e/ou larvicida) (HERNÁNDEZ e ANGEL, 1997). Além das acetogeninas, outros compostos químicos encontrados em anonáceas como diterpenos, óleos essenciais, saponinas e alcaloides possuem propriedades medicinais contra diversas enfermidades, tais como disenteria, depressão, doença da medula espinhal e câncer (LEAL, 1990; SALUJA e SANTINI, 1994).

As anonáceas são importantes socioeconomicamente em países da Ásia, África e nas Américas. A cherimóia é produzida principalmente na Austrália, Chile, Espanha e Estados Unidos, enquanto a graviola o é no México, Brasil, Venezuela e Costa Rica e a pinha na Índia, Tailândia, Filipinas, Cuba e Brasil (SÃO JOSÉ et al., 2014). O Nordeste é a região que mais produz anonáceas no Brasil, impulsionada principalmente pelos estados da Bahia, Alagoas, Pernambuco e Ceará (IBGE, 2009; GCEA/IBGE, 2013). Dentre estes, o estado da Bahia desponta como o maior produtor, principalmente de pinha e graviola (SOBRINHO, 2010).

A produção brasileira de pinha e graviola atingiu 20,8 mil toneladas e 5,5 mil toneladas de frutos, respectivamente (IBGE, 2009). A produção de atemóia atingiu 12 a 25 toneladas por hectares, sendo cultivado em 1.200 hectares no Estado de São Paulo, seguido por Bahia, Minas Gerais e Paraná (CEAGESP, 2013; SILVA e MUNIZ, 2011). Apesar da exploração crescente das anonáceas, informações e trabalhos disponíveis sobre produtividade e área cultivada ainda são bastante escassos.

Vários fatores interferem na produtividade das anonáceas, entre eles a temperatura, precipitação, umidade relativa, luminosidade e manejo cultural, exercendo importante influência na longevidade do pomar, incidência de pragas e doenças na cultura (LIMA, 2002). As doenças apresentam importância variável de acordo com as condições climáticas e o manejo aplicado pelos produtores. Dentre as várias doenças incidentes em anonáceas, os fungos se destacam como os principais patógenos das espécies comerciais (PEREIRA et al., 2011). Estes podem ocorrer tanto na fase vegetativa quanto na fase reprodutiva da cultura, causando grandes perdas no campo e em pós-colheita (JUNQUEIRA, 1996). Doenças podem levar a níveis de 53% a 70 % de perdas de frutos quando ocorrem chuvas prolongadas durante a floração e formação de frutos (JUNQUEIRA et al., 2014).

O gênero *Alternaria*

Alternaria é um importante gênero fúngico com distribuição mundial que inclui espécies patogênicas e não-patogênicas. Muitas espécies de *Alternaria* são conhecidas como sérios patógenos de plantas, causando grandes perdas em uma variedade de culturas (WOUDENBERG et al., 2013). Vários taxa também são importantes patógenos humanos (THOMMA, 2003). Como patógenos de plantas, espécies de *Alternaria* são bem conhecidas por sua capacidade de produzir um amplo espectro de metabólitos secundários (CHRISTENSEN et al., 2005). Estes metabólitos incluem várias toxinas relacionadas com a patogênese nas plantas, tanto do hospedeiro como do não-hospedeiro específico (MARKHAM; HILLE, 2001). Algumas dessas micotoxinas que podem contaminar produtos alimentares (ALEXANDER et al., 2011; OSTRY, 2008).

O gênero *Alternaria* foi descrito por Nees von Esenbeck em 1816, tendo *A. tenuis* como a espécie tipo. Este gênero mostrou considerável instabilidade taxonômica desde a sua criação. Em 1832, Fries não reconheceu a descrição *A. tenuis* de Nees sinônimizou de *Torula alternata* e desde então a taxonomia *Alternaria* tem sido contestada (WOUDENBERG et al., 2013; 2014, 2015; LAWRENCE et al., 2016). As características deste gênero incluíram a produção de phaeodictiosporos escuros, algumas vezes catenados e células apicais afiladas. Von Keissler (1912) sinonimizou tanto *A. tenuis* quanto *T. alternata* como *Alternaria alternata*. Dois gêneros adicionais, *Stemphylium* (Wallroth 1833) e *Ulocladium* (Preuss 1851) foram posteriormente descritos em hifomicetos phaeodictiosporos, complicando ainda mais a resolução taxonômica deste grupo de fungos. Vários ciclos de classificação e subsequentes revisões do gênero *Alternaria* (SACCARDO, 1886; ELLIOT, 1917; WILTSHIRE, 1933;

JOLY, 1964) resultaram em um número crescente de novas espécies. Simmons (2007) em sua obra monumental ‘*Alternaria: identification manual*’, estabeleceu os critérios para a identificação de morfoespécies alternarióides e reconheceu 275 espécies (SIMMONS, 2007).

Morfologicamente, as espécies de *Alternaria* possuem conídios muriformes, de coloração escura, em geral com pontas afiladas, formando um rostro na extremidade distal (SIMMONS, 1954). Os conídios podem ser organizados em cadeias simples ou ramificadas, e ainda como conídio solitário (ELLIS, 1971; SIMMONS, 1954). A conidiogênese é enteroblástica tétrica, onde somente a parede mais interna está envolvida na formação da parede do conídio. Os conidióforos são solitários, septados, simples ou ramificados e escuros, com a ponta apresentando o mesmo diâmetro de suas outras células (ELLIOTT, 1917; WILTSHIRE, 1933; NEERGAARD, 1945; JOLY, 1964; SIMMONS, 1967). Por muito tempo, as características morfológicas foram utilizadas na identificação das espécies de *Alternaria* (SIMMONS 1967, 1992, 2007; SMITH et al., 1992; ANDREW et al, 2009; ROTONDO et al, 2012) entretanto, a plasticidade dos caracteres morfológicos e culturais em função dos métodos e condições experimentais levantou alguns conflitos em relação à sua classificação. Devido às limitações dos caracteres morfológicos, a sistemática molecular com base em dados de sequências de DNA representa uma ferramenta útil para a taxonomia de *Alternaria*, uma vez que permite entender as relações filogenéticas entre suas espécies (ARMITAGE et al., 2015) e não está sujeito a plasticidade apresentada pelos caracteres morfológico.

A exemplo de outros gêneros fúngicos, estudos moleculares revelaram múltiplos gêneros não monofiléticos dentro do complexo de *Alternaria* e clados de espécies de *Alternaria* que nem sempre se correlacionam com grupos de espécies com base em características morfológicas (PRYOR & GILBERTSON 2000; CHOU & WU, 2002; DE HOOG & HORRÉ, 2002; PRYOR & BIGELOW 2003; PRYOR et al., 2009; RUNA et al., 2009; WANG et al., 2011; LAWRENCE et al., 2012). Os grupos de espécies de *A. alternata*, *A. brassicicola*, *A. infectoria*, *A. porri* e *A. radicina* foram fortemente apoiados por esses estudos e dois novos grupos de espécies, *A. sonchi* (HONG et al., 2004) e *A. alternantherae* (LAWRENCE et al., 2013) e três novos gêneros, *Crivellia* (INDERBITZIN et al., 2016), *Undifilum* (PRYOR et al., 2009) e *Sinomyces* (WANG et al., 2011) foram estabelecidos. Em uma revisão molecular do gênero *Alternaria* (LAWRENCE et al., 2013) introduziu dois novos grupos de espécies, *A. panax* e *A. gypsophilae* e oito grupos de espécies foram colocadas dentro da *Alternaria*. O complexo *Alternaria* compreende os gêneros *Alternaria*, *Chalastospora* (SIMMONS, 2007), *Crivellia*, *Embellisia*, *Nimbya*, *Stemphylium*, *Ulocladium*,

Undifilum e *Sinomyces*. Estudos moleculares mais recentes revelam que vários clados agrupam espécies distintas, sendo agora definidos como seções (LAWRENCE et al. 2013; WOUDENBERG et al. 2013). Atualmente, o gênero *Alternaria* compreende 27 seções (*Porri*, *Euphorbicola*, *Alternaria*, *Alternantherae*, *Sonchi*, *Gypsophilae*, *Radicina*, *Brassicicola*, *Japonicae*, *Panax*, *Teretispora*, *Ulocladioides*, *Pseudoulocladium*, *Dianthicola*, *Cheiranthus*, *Infectoriae*, *Pseudoalternaria*, *Chalastospora*, *Soda*, *Phragmosporae*, *Embellisia*, *Nimbya*, *Undifilum*, *Ulocladium*, *Embellisioides*, *Eureka*, *Criveillia*) (LAWRENCE et al., 2016) e seis linhagens isoladas (*Alternaria brassicae*, *A. helianthiinficiens*, *A. thalictrigena*, *A. argyranthemi*, *A. soliaridae* e *Embellisia dennisii*) (WOUDENBERG et al. 2015).

A seção *Alternaria* contém a maioria das espécies de *Alternaria* com conídios pequenos, incluindo a espécie tipo do gênero, *Alternaria alternata* (WOUDENBERG et al. 2013). *A. alternata* causa manchas e outras doenças em mais de 100 espécies vegetais, sendo importante patógeno também em pós-colheita e até patógeno humano (ROTEM, 1994; COATES & JOHNSON, 1997; KURUP et al. 2000). Atualmente a seção apresenta 11 espécies (*A. alternata*, *A. alternantherae*, *A. burnsii*, *A. tomato*, *A. jacinthicola*, *A. iridiaustralis*, *A. eichhorniae*, *A. betae-kenyensis*, *A. gaisen*, *A. alstroemeriae*, *A. longipes* e *A. gossypina*) e um complexo formado pela espécie *A. arborescens* (WOUDENBERG et al. 2015). Os genes utilizados para a delimitação de espécies de *Alternaria* não são capazes de delinear espécies dentro da seção *Alternaria* (PEEVER et al. 2004, ANDREW et al. 2009). Por isto há necessidade de aplicação de múltiplos métodos moleculares.

Representantes do gênero *Alternaria* são capaz de causar doenças em mais de 100 espécies de plantas podendo infectar toda a parte aérea, principalmente folhas e frutos (ARMITAGE, 2015). Recentemente, esse fungo foi encontrado associado a plantas do gênero *Anonna* através de inspeções de campo realizadas pela equipe do laboratório de Micologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, nos municípios de Presidente Dutra (BA), Petrolândia (PE) e Inajá (PE). O material foi coletado com sintomas similares ao de antracnose, mas ao realizar o isolamento, grande parte dos isolados foram identificados como pertencentes ao gênero *Alternaria*. Além disso, estudos preliminares demonstraram a capacidade destes isolados em causar doença em espécies de anonáceas cultivadas comercialmente. Assim, considerou-se fundamental o estudo deste novo patossistema (*Alternaria* x *Anonna*) a fim de identificar e reconhecer as espécies de *Alternaria* e compreender suas interações e agressividade em diversos hospedeiros. Os resultados desse estudo poderão orientar estudos epidemiológicos, e a partir destes, desenvolver medidas de controle efetivas contra cada espécie ou grupo de espécies predominantes em cada cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER J.; BENFORD D.; BOOBIS A.; CECCATELLI S.; COTTRILL B.; CRAVEDI J.; DIDOMENICO A.; DOERGE D.; DOGLIOTTI E.; EDLER L. Scientific opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. **EFSA J**, 2011. v.9, p.2407–2504.

ANDREW, M.; PEEVER, T.L.; PRYOR, B.M. An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. **Mycologia**, 2009, v.101, p. 95-109.

ARMITAGE, A. D., BARBARA, D. J., HARRISON, R. J., LANE, C. R., SREENIVASAPRASAD, S., WOODHALL, J. W., CLARKSON, J. P. Discrete lineages within *Alternaria alternata* species group : identification using new highly variable loci and support from morphological characters. **Elsevier Fungal Biology**, 2015, v. 119, p. 994-1006.

BERMEJO, A. ; FIGADERE, B.; ZAFRA-POLO, M.C.; BARRACHINA, I.; ESTORNELL, E.; CORTES, D. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, 2005. v.22, n.2, p.269-303.

CEAGESP. Companhia de entrepostos e armazéns gerais de São Paulo, 2013. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br>>. Acesso em: 17 out. 2017.

CHATROU, L.W.; PIRIE, M.D.; ERKENS, R.H.J.; COUVREUR, T.L.P.; NEUBIG, K.M.J.; ABBOTT, R.; MOLS, J.B.; MAAS, J.W.; SAUNDERS, R.M.K.; CHASE, M.W. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**. London , 2012. v. 169, n. 1, p. 5-40.

CHOU, H.H.; WU, W.S. Phylogenetic analysis of internal transcribed spacer regions of the genus *Alternaria*, and the significance of filament-beaked conidia. **Mycological Research**, 2002, v.106, p. 164–169.

CHRISTENSEN K.B. ; VAN KLINK J.W. ; WEAVERS R.T. ; LARSEN T.O.; ANDERSEN B. ; PHIPPS R.K. Novel chemotaxonomic markers of the *Alternaria* infectoria species-group. **J Agric Food Chem**, 2005. v.53, p.9431–9435.

COATES, L. ; JOHNSON, G. Postharvest diseases of fruit and vegetables. In: **Plant pathogens and plant diseases** (Brown JF, Ogle HJ, eds). Rockvale Publications, Armidale, Australia, 1997, p. 533–548.

COSTA, P.N.; BUENO, S.S.C.; FERREIRA, G. Fases da germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2011. v.33, n.1, p.253-260.

CRUZ, L.S.; LIMA, R.Z.; ABREU, C.M.P.; CORRÊA, A.D.; PINTO, L.M.A. Caracterização física e química das frações do fruto atemoia Gefner, **Ciênc. Rural** (online), 2013. v. 43, n. 12, p. 2280-2284.

ELLIOTT, J.A. Taxonomic characters of the genera *Alternaria* and *Macrosporium*. **American Journal of Botany**, 1917, p.439–476.

ELLIS, J.B. Dematiaceous Hyphomycetes. **Kew Commonwealth Mycological Institute**, 1971, p. 608.

FERREIRA, G.; CEREDA, E.; SILVA, C.P.; CUNHA, R.J.P.; CATANEO, A. **Imbibition studies of sugar apple (*Annona squamosa* L.) and atemoya (*A. squamosa* x *A. cherimola* Mill.) seeds**. In: Congresso Internacional de Anonáceas, 1, Chapingo. Memórias... Chapingo: Universidad de Chapingo, 1997. p.210-224.

GCEA/IBGE- Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, 2013. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=&u3=1*u4=1&u5=1&u6=1&u2=1>. Acesso em: 28 nov 2017.

HERNÁNDEZ, C.R.; ANGEL, D.N. **Anonáceas con propiedades insecticidas**. In Anonáceas produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimóia), ed by São José AR, Souza IVB, Morais OM and Rebouças TNH, DFZ/UESB, Vitória da Conquista, 1997. p. 229-239.

HONG, S.G.; CRAMER, R.A.; LAWRENCE, C.B.; PRYOR, B.M.; et al. Homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. **Fungal Genetics and Biology**. 2004, v.42, p. 119-129.

HOOG, G.S. DE; HORRÉ, R. Molecular taxonomy of the *Alternaria* and *Ulocladium* species from humans and their identification in the routine laboratory. **Mycoses**, 2002, v.45, p. 259–276.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário**. Rio de Janeiro, 2009. p.777.

INDERBITZIN, P.; SHOEMAKER, R.A.; O'NEILL, N.R.; TURGEON, B.G.; BERBEE, M.L. Systematics and mating systems of two fungal pathogens of opiumpoppy: the heterothallic *Crivellia papaveracea* with a *Brachycladium penicillatum* asexual state and a homothallic species with a *Brachycladium papaveris* asexual state. **Botany**, 2016, v.84, p. 1304–1326.

INOUE, M.H.; SANTANA, D.C.; PEREIRA, M.J.B.; POSSAMAI, A.C.S.; AZEVEDO, V.H. Aqueous extracts of *Xylopiya aromatica* AND *Annona crassiflora* on marandu grass (*Brachiaria brizantha*) and soybean. **Scientia Agraria**, Curitiba, 2009. v.10, n.3, p.245-250.

JOLY, P. Le genre *Alternaria*. **Encycl. Mycology**, 1964, v. 33, p.1–250.

JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA K. P. Principais doenças de Anonáceas no Brasil: descrição e controle. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 2014. v.36, p.55-64.

JUNQUEIRA, N.T.V.; CUNHA M.M.; OLIVEIRA M.A.S.; PINTO, A.C.Q. Graviola para exportação: aspectos fitossanitários. **FRUPEX. Publicações Técnicas**, Brasília: EMBRAPA-SPI, 1996. v. 22, p. 67.

- KURUP, V.P.; SHEN H-D.; BANERJEE, B. Respiratory fungal allergy. **Microbes and Infection**, 2000, v.2, p. 1101–1110.
- LAWRENCE, D.P.; PARK, M.S.; PRYOR, B.M. *Nimbya* and *Embellisia* revisited, with nov. comb for *Alternaria celosiae* and *A. perpunctulata*. **Mycological Progress**, 2012, v.11, p. 799–815.
- LAWRENCE, D.P.; GANNIBAL, P.B.; PEEVER, T.L. et al. The sections of *Alternaria*: formalizing species-groups concepts. **Mycologia**, 2013, v.105, p. 530–546.
- LAWRENCE, D.P.; ROTONDO, F.; GANNIBAL, P.B.; Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. **Mycological Progress**, 2016., v.15, p. 1-22.
- LEAL, F. Sugar apple. In: NAGY, S. ; SHAW, P. E. ; WARDOWSKI, W.F. **Fruits of tropical and subtropical origin. Composition, properties and uses**. Lake Alfred: FSS, 1990. p. 149-158.
- LEMOS E. E. P. produção de anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Botucatu, 2014. v. 36, p. 77-85.
- LIMA, M. A. C. **Alterações bioquímicas e fisiológicas durante a maturação e o armazenamento de graviola sob refrigeração associada a 1-metilciclopropeno e cera**. Tese (Doutorado). UFC, Fortaleza, 2002, p. 208.
- MANICA, I. Taxonomia ou sistemática, morfologia e anatomia. In: MANICA, I. **Fruticultura: cultivo das anonáceas**, Porto Alegre: EVANGRAF, 1997. p. 3-11.
- MANICA, I. Importância econômica. In: MANICA, I. **Fruticultura: cultivo de anonáceas, ata, cherimolia, graviola**. Porto Alegre: EVANGRAF, 1994, p. 117-120.
- MARKHAM J.E. ; HILLE J. Host-selective toxins as agents of cell death in plant–fungus interactions. **Mol Plant Pathol**, 2001. V. 2, p.229–239.
- MELLO-SILVA R.; PIRANI, J.R. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Annonaceae. **Boletim de Botânica**. Universidade de São Paulo, 2003. V.21, p. 67-72.
- MOSCA, J. L.; CAVALCANTI, C. E. B.; DANTAS, T. M. **Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical (Documentos 106). 2006.
- NEEGARD, P. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*. **Oxford University Press**, London, 1945.
- OSTRY V. *Alternaria* mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. **World Mycotoxin J**, 2008. v.1, p.175–188.
- PAL, D. K.; KUMAR, P. S. Change in the physico-chemical and biochemical composition of custard apple (*Annona squamosa* L.) Fruit during growth development and ripening. **Journal Horticulture Science**, 1995. v. 70, n. 4, p. 569-572.

- PEREIRA, F. M.; KAVATI, R. Contribution of Brazilian scientific research in developing some of subtropical fruit. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 2011. v. 33, n.1, p. 92-108.
- PEEVER, T.L. ; SU, G. ; CARPENTER-BOGGS, L. et al. Molecular systematics of citrus-associated *Alternaria* species. **Mycologia**, 2004, v.96, p. 119–134.
- PRYOR, B.M.; BIGELOW, D.M. Molecular characterization of *Embellisia* and *Nimbya* species and their relationship to *Alternaria*, *Ulocladium* and *Stemphylium*. **Mycologia**, 2003, v.95, p.1141–1154.
- PRYOR, B.M.; CREAMER, R.; SHOEMAKER, R.; MCLAIN-ROMERO, J.; HAMBLETON, S. *Undifilum*, a new genus for endophytic *Embellisia oxytropis* and parasitic *Helminthosporium bornmuelleri* on legumes. **Botany**, 2009, v. 87, p. 178–194.
- PRYOR, B.M.; GILBERTSON, R.L. Molecular phylogenetic relationships amongst *Alternaria* species and related fungi based upon analysis of nuclear ITS and mtSSU rDNA sequences. **Mycological Research**, 2000, v.104, p. 1312–1321.
- ROTONDO, F.; COLLINA, M.; BRUNELLI, A.; PRYOR, B. Comparison of *Alternaria* spp. collected in Italy from apple with *A. mali* and other AM-toxin producing strains. **Phytopathology**, 2012, v. 102, p.1130–1142.
- ROTEM, J. **The genus *Alternaria*. Biology, epidemiology and pathogenicity**. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 1994.
- RUNA, F.; PARK, M.S.; PRYOR, B.M. *Ulocladium* systematics revisited: phylogeny and taxonomic status. **Mycological Progress**, 2009, v.8, p.35–47.
- SACCARDO, P. Sylloge Fungorum. Padova, Italy, 1886, v. 4.
- SALUJA, A. K. ; SANTANI, D. D. International Journal of Pharmacognosy, 1994. v.32, n.2, p.154-62.
- SÃO JOSÉ A. R.; PIRES, M. M.; FREITAS, A. L. G. E.; RIBEIRO D.P.; PEREZ, L. A. A. Atualidades e perspectivas das anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 2014. v. 36, p. 86-93.
- SILVA, A.V.C.; MUNIZ, E.N. Qualidade de atemóia colhida em dois estádios de maturação, **Revista Caatinga**. Mossoró, 2011. v. 24, n. 4, p. 9-13.
- SIMMONS E.G. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium*, and *Ulocladium*. **Mycologia**, 1967, v.59, p.67–92.
- SIMMONS, E.G. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge. In: Chelkowski, J, Visconti, A. (eds) *Alternaria: biology, plant diseases, and metabolites*. **Elsevier**, New York, 1992, p. 1–35.
- SIMMONS, E.G. ***Alternaria: an identification manual***. CBSBiodiversity, Utrecht, 2007, v.6.
- SIMMONS, E.G. Culture studies in the genera *Pleospora*, *Clathrospora*, and *Leptosphaeria*. **Mycologia**. 1954,v.46, p. 330–365.

SMITH, I. M.; MCNAMARA, D. G. ; SCOTT, P.T.; HARRIS, K. M.; Quarantine Pests for Europe: data sheets on quarantine pests for the European Communities and for European and Mediterranean Plant Protection Organization. **CAB International**, 1992.

SOBRINHO, R. B. Potencial de exploração de anonáceas no Nordeste do Brasil. In: Semana da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria, **Anais...** Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2010, v. 17.

THOMMA, B.P.H.J. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. **Molecular Plant Pathology**, 2003. v. 4, p. 225-236.

WANG, Y.; GENG, Y.; MA, J.; WANG, Q.; ZHANG, X-G. Sinomyces: a new genus of anamorphic Pleosporaceae. **Fungal Biology**, 2011, v. 115, p. 188–195.

WILTSHIRE, S. The foundation species of *Alternaria* and *Macrosporium* **Transactions of the British Mycological Society**, 1933, v.18, p.135–IN133.

WOUDENBERG J. ; TRUTER M.; GROENEWALD J.; CROUS P. Large-spored *Alternaria* pathogens in section Porri disentangled. **Studies in Mycology.**, 2014. v. 79, p.1–47.

WOUDENBERG J.H.C., GROENEWALD J.Z., BINDER M., CROUS P.W. *Alternaria* redefined. **Studies in Mycology**, 2013. v. 75, p. 171-212.

WOUDENBERG, J.H.C.; SEIDL, M.F.; GROENEWALD, E.; DE VRIES, M.; STIELOW, J.B.; THOMMA, B.P.H.J.; CROUS, P.W. *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes. **Studies in Mycology**, 2015. v.82, p. 1-21.

CAPÍTULO II



Mancha foliar de *Alternaria*: uma doença em expansão em anonáceas no Brasil

1 Mancha foliar de *Alternaria*: uma doença em expansão em anonáceas no Brasil

2

3 Everton R C Nascimento¹, Josiene S Veloso¹, Willie Anderson S Vieira¹, Adriano M F Silva²,

4 Alexandre R Machado³, Vinson P Doyle⁴, Marcos P S Câmara^{1*}.

5

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

7 900, Pernambuco, Brasil

8 ² Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 57072-900,

9 Alagoas, Brasil

10 ³ Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 50610-901,

11 Pernambuco, Brasil

12 ⁴ Department of Plant Pathology and Crop Physiology, Louisiana State University AgCenter,

13 Baton Rouge, LA 70803.

14 *Autor por correspondência: Marcos P S Câmara

15 Endereços de e-mail: everton.r18@live.com, josieneveoso@yahoo.com.br,

16 andersonvieira12@gmail.com, adrianomfsilva@yahoo.com.br,

17 alexandrerm.agro@yahoo.com.br, vdoyle@agcenter.lsu.edu, marcos.camara@ufrpe.br.

18

19 RESUMO

20

21 As doenças fúngicas são responsáveis por perdas de produção em anonáceas cultivadas. O

22 gênero *Alternaria* compreende diversos estilos de vida que variam de saprofiticas, endófitos e

23 patógenos. Em 2017, esse fungo foi encontrado associado as anonáceas cultivadas, causando

24 mancha foliar de *Alternaria*. A ocorrência e a etiologia desta doença é desconhecida em

25 *Anona* spp., assim, o presente estudo teve como objetivo identificar o agente causal da

26 mancha foliar de alternaria em pomares comerciais de anonáceas no Brasil; determinar a
27 agressividade das espécies identificadas; e a prevalência das espécies de *Alternaria* por região
28 amostrada e espécie hospedeira. Um total de 77 isolados foram coletados de folhas
29 sintomáticas de *Anona* spp. cultivadas em dois locais de amostragem geográfica. Com base na
30 análise filogenética multilocus, foram identificadas cinco espécies de *Alternaria* denominadas
31 *Alternaria alternata*, *A. anonacearum*, *A. jacinthicola*, *A. gossypina*, *A. tomato*, e duas
32 linhagens monofiléticas denominadas de *Alternaria* sp.1, *Alternaria* sp.2. Todas as espécies
33 foram patogênicas na pinheira e gravioleira. Nas mudas de pinheira, o teste demonstrou que
34 as espécies *A. alternata*, *A. jacinthicola*, *A. gossypina*, *A. tomato*, *A. anonacearum* e
35 *Alternaria* sp.1 foram significativamente mais virulentas que a *Alternaria* sp.2. A riqueza de
36 espécies de *Alternaria* foi semelhantes entre *Anona* spp cultivadas, bem como nas regiões
37 geográficas. *Alternaria anonacearum* foi a espécie mais prevalente nos pomares de
38 anonáceas do Brasil. Por se tratar de um novo patossistema são necessário estudos afim de
39 estabelecer estratégias de controle da mancha foliar de alternaria.

40

41 Palavras-chave: *Alternaria anonacearum*, Nova doença, *Anona* spp., Filogenia multigene.

42

43 **ABSTRACT**

44

45 The alternate genus comprises several ecological modes ranging from saprophytic, endophytic
46 and pathogenic. In 2017, this fungus was found associated with the cultivated anonaceae,
47 causing *Alternaria* spot. The occurrence and etiology of this disease is unknown in *Anona* spp.
48 Thus, the present study had as objective to identify the causal agent of leaf spot of *alternaria*
49 in commercial orchards of anonaceous in Brazil; determine the aggressiveness of the

50 identified species; and the prevalence of *Alternaria* species by sampled region and host
51 species. A total of 77 isolates were collected from symptomatic leaves of *Anona* spp. grown at
52 two geographic sampling sites. Based on the phylogenetic analysis of the multilocus, seven
53 *Alternaria* species, *Alternaria alternata*, *A. anonacearum*, *A. jacinthicola*, *A. gossypina*, *A.*
54 *tomato* *Alternaria* sp.1 and *Alternaria* sp.2 and *Alternaria anonacearm*. All species were
55 pathogenic in sweetsop and soursop. In the sweetsop seedlings, the test showed that the
56 species *A. alternata*, *A. jacinthicola*, *A. gossypina*, *A. tomato*, *A. anonacearum* and *Alternaria*
57 sp.1 were significantly more virulent than *Alternaria* sp.2. The richness of *Alternaria* species
58 was similar between *Anona* spp cultivated as well as in geographic regions. *Alternaria*
59 *anonacearum* was the most prevalent species in the anonaceous orchards of Brazil. Because it
60 is a new patosystem, studies are needed to establish strategies to control leaf spot alternaria.

61 Keywords : *Alternaria anonacearum*, New disease, *Anona* spp., Phylogeny multigene.

62

63 INTRODUÇÃO

64

65 O gênero *Annona* L. compreende cerca de 118 espécies de plantas cultivadas e nativas
66 distribuídas nos continentes africano, asiático e americano (São José et al., 2014, Sobrinho
67 2014). Dentre as espécies exploradas comercialmente destacam-se a pinha (*Annona*
68 *squamosa*), graviola (*Annona muricata*), cherimóia (*Annona cherimola*) e o híbrido atemóia
69 (*Annona squamosa* x *Annona cherimola*) (Lemos, 2014; Pereira et al., 2011; Wongs-Aree et
70 al., 2011). Seus frutos são bastante apreciados no mercado interno e externo, tanto para
71 consumo *in natura* como processados na forma de polpa, sucos e sorvetes (Lemos, 2014;
72 Mello-Silva ; Pirani., 2003; São José et al., 2014). Além disso, biocompostos extraídos de
73 espécies de anonáceas têm despertado interesse por apresentarem importância medicinal,
74 alelopática ou pesticida (Lemos, 2014).

75

76 O Brasil é o maior produtor mundial de anonáceas (São José et al., 2014), sendo os estados da
77 Bahia, Alagoas, Pernambuco e Ceará os principais produtores nacionais (IBGE, 2009;
78 GCEA/IBGE, 2013; Sobrinho, 2010; Pinto et al., 2005). Entretanto, a expansão econômica
79 dessa cultura é limitada pela baixa tecnificação dos produtores e pela incidência de doenças,
80 tais como antracnose (*Colletotrichum* spp.), cancro (*Fusarium* spp.), podridão seca dos ramos
81 (*Lasioidiplodia theobromae*) e podridão das raízes (*Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp.,
82 *Phytophthora* spp) (Junqueira et al., 2003; Agustín, Alviter, 1996).

83

84 Em 2017, uma nova doença foliar com sintomas similares aos da antracnose foi observada em
85 pomares comerciais de anonáceas no nordeste brasileiro. Apesar dessa semelhança,
86 isolamentos indiretos não indicaram associação desta doença com *Colletotrichum*, mas sim
87 com fungos de esporos pequenos e catenulados morfológicamente semelhantes ao gênero
88 *Alternaria*. Denominada mancha foliar de alternaria, esta doença se caracteriza por lesões
89 necróticas castanho escuras em formato de V invertido e bordas irregulares, partindo do ápice
90 para o centro das folhas. Com a evolução dos sintomas, as lesões coalescem afetando grande
91 parte do limbo foliar que sofre leve deformação (Fig. 1). Eventualmente, observa-se abscisão
92 foliar.

93

94 O gênero *Alternaria* é bastante diverso e apresenta considerável plasticidade ecológica,
95 incluindo espécies endofíticas, saprofíticas e patogênicas em vários agroecossistemas
96 (Villalobos et al., 2016; Gur et al., 2017; Esmaeili Taheri et al., 2017; Moslemi et al., 2017;
97 Abata et al., 2016; Munhuweyi et al., 2016; Thomma, 2003). Como fitopatógeno, pode causar
98 mancha foliar e requeima, dentre outras doenças (Al-Nadabi et al. 2018; Armitage et al.,
99 2015). Apesar de *Alternaria* ser um gênero fúngico bastante estudado, não há relatos de
100 espécies de *Alternaria* associadas a doenças em anonáceas. Assim, o objetivo do presente

101 estudo foi: i) identificar o agente causal da mancha foliar de alternaria em pomares comerciais
102 de anonáceas no Brasil; ii) determinar a agressividade das espécies identificadas; e iii)
103 determinar a prevalência das espécies de *Alternaria* por região amostrada e espécie
104 hospedeira.

105 MATERIAL E MÉTODOS

106

107 Coleta e isolamento

108

109 Folhas de anonáceas com sintomas de mancha de alternaria foram coletadas em pomares
110 comerciais nos municípios de Presidente Dutra na Bahia e Petrolândia e Inajá em
111 Pernambuco. Fragmentos entre as zonas saudáveis e necróticas das folhas foram cortados e
112 desinfestados em álcool a 70% por 30 s, seguido da imersão em solução de hipoclorito de
113 sódio a 1% de cloro ativo por 2 min e tríplice lavagem em água destilada e esterilizada. Os
114 fragmentos foram plaqueados em meio de cultura BDA (200g de batata; 20 g de dextrose; e
115 20 g de Ágar em 1L de água destilada) adicionado com 0.5 g.L-1 de sulfato de estreptomicina
116 (BDAs). As placas foram incubadas à 25°C para o desenvolvimento do fungo por 3 a 4 dias.
117 Isolados com características morfo-cultural semelhantes aos gêneros *Alternaria* (Simmons,
118 2007) foram subcultivados em cultura pura e preservados pelo método Castellani (Castellani,
119 1967) e armazenados na coleção particular de fungos do laboratório de micologia da
120 Universidade Federal Rural de Pernambuco.

121

122 Extração de DNA, PCR e Sequenciamento

123

124 O DNA genômico dos isolados foi extraído de cultura com sete dias, seguindo o protocolo
125 CTAB (Doyle & Doyle 1990). A qualidade e a concentração de DNA foram determinadas
126 utilizando NanoVue Plus Spectrophotometer (GE Healthcare, USA) e diluído até a
127 concentração de 25ng DNA/ μ L e armazenados sob temperatura de -20°C. A região da
128 membrana plasmática ATPase de todos isolados de *Alternaria* foi amplificado e sequenciado
129 para estimativa inicial da diversidade genética e seleção de isolados representativos para
130 análises multilocus. Os filotipos foram identificados utilizados DnaSP 4.0 (Rozas et al.,

131 2003). Os isolados representativos foram escolhidos ao acaso para análises multilocus. As
132 regiões gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), Calmodulina (CAL), proteína
133 alergênica Alt a 1 de *Alternaria*, Endopoligalacturonase (endoPG) e a região não codificante
134 anônima (OPA10-2) foram amplificadas utilizando os primers detalhados na Tabela
135 suplementar S1.

136

137 As reações de PCR foram realizadas em 12.5 µL volume total, contendo 4 µL de água, 1 µL
138 de DNA, 0,625 µL de cada primers (10 µM) e 6.25 µL do Master Mix (Promega GoTaq®
139 Master Mix, Wisconsin, USA). As reações de PCR foram desenvolvidas em termociclador
140 (Biocycler MJ 96; Applied Biosystems, Foster City, USA). Os produtos de PCR foram
141 separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tampão Tris-acetato-EDTA (TAE)
142 1,0X e fotografadas sob luz UV. Os produtos de PCR foram purificados em precipitação por
143 acetato de amônio e etanol. O sequenciamento dos locus ATPase, Alt a1, GAPD, CAL,
144 endoPG e a região OPA10-2 foram realizados usando o kit ABI PRISM® BigDye®
145 terminator v3 cycle sequencing kits (Applied Biosystems, USA) na plataforma de
146 sequenciamento do LABCEN/CCB na Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil).

147

148 **Montagem de consensos, alinhamento e reconstrução filogenética**

149

150 A qualidade das sequências de nucleotídeos e a montagem dos consensos foram realizadas
151 utilizando o Pacote Staden (Staden et al., 1998). Todas as sequências consenso foram
152 comparadas com aquelas já disponíveis no Centro Nacional de Informações sobre
153 Biotecnologia (NCBI) usando o algoritmo blastn (Johnson et al. 2008). Sequências das
154 espécies ex-type de *Alternaria* foram obtidas do GenBank, onde foram depositadas as
155 sequências geradas neste estudo (Tabela suplementar S2). Os alinhamentos múltiplos para
156 cada locus foram estimados no MAFFT v 7 (Kato et al., 2002; Kato e Toh, 2013) com o

157 método de refinamento interativo G-INS-i e ajustado manualmente usando o Mega 5 (Tamura
158 et al. 2011). As regiões de baixa qualidade do alinhamento (pontuação <0,5) foram
159 mascaradas com Ns usando o GUIDANCE2 (<http://guidance.tau.ac.il/>). (Sela et al. 2015).
160 Todas as análises foram conduzidas com esses alinhamentos mascarados.

161

162 A história evolutiva e as reconstruções filogenéticas de cada locus e da matriz concatenada
163 foram inferidas utilizando-se a máxima verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB).
164 As análises MV e IB foram realizadas utilizando os programas RAXML-HCP2 v.7.0.4
165 (Stamatakis 2014) e MrBayes v 3.2.1 (Ronquist et al. 2012) respectivamente, implementados
166 no Portal CIPRES Science Gateway (<https://www.phylo.org/portal2/home.action>). A análise
167 MV foi realizada com 1000 pseudoreplicatas (-m GTRGAMMA -p 12345 -k -f a -N 1000 -x
168 12345) sob modelo GTRGAMMA.

169

170 Para as inferências bayesianas, os modelos de substituição de nucleotídeos foram calculados
171 para cada locus individualmente usando MrModeltest v.2.3 (Nylander, 2008), seguindo o
172 Critério de Informação de Akaike (AIC). Os modelos selecionados e usados na IB foram:
173 HKY+G para ATPase e Alt a 1 e GTR+I, GTR+G, SYM+G e K80+I+G para GAPDH, CAL,
174 EndoPG e OPA respectivamente. A matriz concatenada foi particionada com cada locus com
175 seu referente modelo de substituição de nucleotídeos. Quatro cadeias de Markov Monte Carlo
176 (MCMC) foram conduzidas por 5×10^7 gerações e as árvores foram amostrada a cada 1000
177 gerações. A convergência de todos os parâmetros foi verificada usando Tracer v 1.5 (Rambaut
178 e Drummond 2010) e os primeiros 25% das gerações foram descartados como burn-in.
179 Alinhamentos e árvores do presente estudo foram depositados no TreeBase (XXXXX).

180

181 As linhagens evolutivas foram reconhecidas usando critério de Reconhecimento de espécies
182 filogenéticas pelo concordância genealógica (REFCG), conforme descrito por Dettman et al.,
183 2003, Doyle et al., 2013, Taylor et al., 2000.

184 **Morfologia**

185

186 Estudos morfológicos foram realizados apenas com o isolado (D101) representante da nova
187 espécie, de acordo com as análises filogenéticas. Inicialmente, o isolado foi colocado em
188 placas de petri com meio de cultura BDA, estas placas foram devidamente fechadas e
189 incubadas à temperatura ambiente para o desenvolvimento do fungo por sete dias. Após o
190 desenvolvimento das colônias, foram retirados dois discos de cada placa, sendo um deles
191 colocado em meio de cultura BCA (20g de batata; 20 g de cenoura; e 20 g de Ágar em 1L de
192 água destilada) (Simmons, 2007) e o outro, novamente em meio BDA. Foram realizadas três
193 repetições. As placas, contendo o isolado, com meio BDA e BCA foram incubadas a 22° C,
194 com oito horas de luz branca fria e 16 horas de escuridão por dia, durante sete dias.

195

196 As colônias crescidas em meio BDA foram utilizadas para a mensuração do crescimento
197 fúngico, com avaliações feitas no terceiro, quinto e sétimo dia. Os diâmetros das colônias
198 foram medidos em duas direções perpendiculares, o que permitiu a realização de médias de
199 crescimento nos intervalos dos dias avaliados. Além disso, ao fim do sétimo dia, as colônias
200 foram examinadas de acordo com a cor, margem e textura das mesmas. Para a determinação
201 da cor das colônias foi utilizado como base os padrões de cores de Rayner (1970). Colônias
202 crescidas em BCA, após sete dias, foram utilizadas para a observação dos padrões de
203 esporulação. Para a constatação das características morfológicas foi aplicada a técnica da fita
204 adesiva transparente na preparação das lâminas (Woudenberg et al. 2013) com o meio Shear's
205 como líquido de montagem. A visualização das estruturas dos fungos foi feita e fotografada
206 em um microscópio composto (Nikon Eclipse INU). Foram registradas características

207 pertencentes aos conídios e conidióforos, como cor, forma, septação e tamanho. Este último
208 foi realizado com a média das dimensões de largura e comprimento de 50 conídios e 10
209 conidióforos, através do programa NIS Elements.

210 **Prevalência das espécies**

211

212 A prevalência das espécies de *Alternaria* foi determinada de acordo com a espécie hospedeira
213 e a área geográfica. Taxa de isolamento (TI) foi calculada através da seguinte fórmula: $TI =$
214 $(N_x / N_t) \times 100$, onde N_x = número de isolados da mesma espécie e N_t = número total de
215 isolados.

216

217 **Agressividade e infecção cruzada**

218

219 A agressividade de *Alternaria* spp. foi avaliada em folhas jovem de mudas de pinheira e
220 gravioleira, com idade de 45 a 60 dias mantidas em casa de vegetação. As folhas foram
221 levemente feridas ao longo do eixo longitudinal (2 locais por folha) com uma gaze estéril
222 antes da inoculação. O inóculo fúngico foi produzido em placas de Petri contendo meio de
223 cultura PCA, sob fotoperíodo de oito horas de luz e 16 horas no escuro, a 25°C, durante sete
224 dias. As suspensões de esporos foram preparadas adicionando 20 mL de água destilada e
225 esterilizada sobre a superfície das culturas, as quais foram raspadas com uma escova macia e
226 filtradas em dupla camada de gaze estéril. A concentração de esporos foi determinada através
227 de contagem em microscópio com auxílio de câmara de Neubauer e ajustada para 10^6
228 conídios.mL⁻¹.

229

230 Dez µl da suspensão de esporos foram adicionados sobre as áreas lesionadas. O controle
231 negativo consistiu de folhas inoculadas com água destilada e esterilizada. Após a secagem da
232 suspensão, as plantas inoculadas foram cobertas com sacos de plástico para manter a umidade

233 relativa alta. Após 48h, os sacos foram retirados e as plantas mantidas em casa de vegetação
234 por 15 dias. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com
235 seis repetições, representada por uma folha, e cada folha apresenta dois pontos de inoculação.
236 O experimento foi repetido duas vezes. A agressividade foi avaliada através da mensuração
237 do diâmetro da lesão em duas direções perpendiculares. Diferenças da agressividade das
238 espécies de *Alternaria* foram determinadas por uma análise de variância e as médias foram
239 comparadas por Tukey ($p = 0.05$) usando o programa STATISTIX (Analytical Software
240 2013).

241 **RESULTADOS**

242

243 **Coleta e isolamento**

244

245 Um total de 77 isolados com características fenotípicas de *Alternaria* foi coletado em plantios
246 comerciais de anonáceas. Trinta e três isolados foram obtidos de pinheira, 20 de gravioleira e
247 24 de Atemoeira. Trinta e quatro isolados foram coletados em Pernambuco e 43 na Bahia.

248

249 **Análises filogenéticas e delimitação de espécies**

250

251 Análise das sequências parciais da região ATPase separaram os isolados em 17 filotipos,
252 todos pertencentes à seção *Alternaria* com base na similaridade com sequências
253 representativas na base de dados do NCBI.

254

255 Os isolados de *Alternaria* foram reconhecidos em várias espécies dentro da seção *Alternaria*
256 através do critério REFCG. As análises MV e IB apresentaram topologias concordantes tanto
257 na concatenada como nos genes individuais, com variação no suporte dos ramos. A análise
258 multilocus revelou que os isolados de anonáceas pertencem a sete linhagens, com quatro
259 espécies previamente descritas e três linhagens independentes não descritas (Fig. 2).

260

261 Um isolado foi identificado como *A. alternata* com alto suporte na maioria das árvores dos
262 genes individuais. Três isolados formaram um clado com *A. jacinthicola* fortemente
263 suportado pelos genes *Alt a 1*, ATPase, GAPDH e OPA, e não foi contradito em qualquer
264 outra árvore de gene individuais no mesmo nível de suporte. Dois isolados foram
265 identificados como coespecíficos com *A. gossypina* com suporte significativo nas análises
266 multilocus e nas árvores de gene individuais *Alt a1*, ATPase, GAPDH e *EndoPG*.. Sete

267 isolados foram agrupados com *A. tomato* e *A. burnsii*. No entanto, estas espécies não foram
268 identificadas como linhagens diferentes utilizando o critério REFCG. Nós propomos a
269 sinonimização de *A. burnsii* em *A. tomato*.

270

271 Três linhagens não se agruparam com nenhuma espécie previamente descrita. Uma linhagem
272 contendo cinco isolados que, além de apresentar alto suporte na análise IB, representam um
273 agrupamento monofilético de acordo com o critério REFCG e é introduzida como *Alternaria*
274 *annonacearum* sp. nov. As linhagens remanescentes (denominadas *Alternaria* sp. 1 e 2), cada
275 uma delas é constituída por um único isolado, desta forma não é possível a aplicação do
276 critério REFCG, sendo assim decidimos não descrevê-las. A descrição da espécie nova é
277 apresentada na seção taxonomia.

278

279 **Prevalência das espécies**

280

281 *Alternaria annonacearum* (XXX) foi a espécie mais abundante entre os 77 isolados de
282 *Alternaria* coletados de espécies comercial de anonáceas. A frequência de isolamento das
283 outras espécies variou de 1% a 19% (Fig.3).

284

285 *Alternaria annonacearum* foi a espécie mais frequente tanto nas regiões geográficas (53,3 %
286 na Bahia e 35,3% em Pernambuco), como em pinheira (54%) e atemoeira (54%). *Alternaria*
287 *jacinthicola* (35%) e *A. tomato* (35%) foram mais comuns na gravioleira (Fig.3).

288

289 **Agressividade e infecção cruzada**

290

291 Todos os isolados de *Alternaria* foram patogênicos a gravioleira e a pinheira, resultando em
292 lesões visíveis 20 dias após a inoculação. Os sintomas observados na superfície das folhas

293 foram lesões necróticas castanho claro que se estenderam a partir do ponto de inoculação
294 (Fig.4).

295

296 Houve diferença significativa na agressividade entre as espécies de *Alternaria* na pinheira
297 ($p=0,01$). *Alternaria* sp.2 foi a espécie menos agressiva. As demais espécies de *Alternaria* não
298 diferiram significativamente entre si. Não houve diferença significativa na agressividade das
299 diferentes espécies de *Alternaria* em gravioleira ($p= 0,4743$) (Fig.4).

300

301 **Taxonomia**

302

303 *Alternaria anonacearum* E. Nascimento, J. Veloso & M. Câmara, sp. Nov. (Fig.5)

304 Mycobanck: URM XXXXXX

305 Etimologia: O epíteto específico refere-se ao gênero do hospedeiro onde a espécie foi
306 encontrada.

307 A velocidade média de crescimento da colônia, após sete dias em meio de cultura BDA, foi de
308 2,28 mm por dia. Após 10 dias, a colônia tomou praticamente toda placa de petri, com aspecto
309 cottonoso e coloração verde olivácea acinzentado na parte central da colônia, se tornam cinza
310 esverdeado próximo às margens, com coloração branca nas bordas (Fig. 5A). Conidióforos
311 crescidos em meio BCA são livres, simples, eretos ou dobrados, pouco ramificados, septados,
312 com os ápices arredondados, coloração levemente olivácea e medem 43,40—53,91—69,03
313 μm ($dp= 7,09$) de comprimento (Fig.5E). Os conidióforos secundários apresentam tamanho de
314 5,65—16,27—28,57 μm (8,17) de comprimento. Os conídios são ovoides ou elipsoides, de
315 coloração marrom olivácea, que se afinam abruptamente em uma das extremidades formando
316 pequenos bicos. Os conídios podem ser solitários ou em pequenas cadeias (2-8) (fig. 5C), com
317 septos longitudinais (1-2) e transversais (2-6). Apresentam 12,89—20,01—26,6 ($dp=3,03$) \times
318 5,85—6,78—815 ($dp=0,56$) μm , com parede conidial pouco espessa (fig.5B e D).

319 Holótipo: Culturas do URM XXXXXX foram depositadas no Herbário URM Padre Camille
320 Torrend na Universidade Federal de Pernambuco. Os isolados foram obtidos de folhas
321 sintomáticas de pinheira, gravioleira e atemoeira no Nordeste do Brasil.

322

323 *Alternaria tomato* (Cooke) L.R. Jones, Bull. Torrey Bot. Club 23: 353. 1896.

324 = *Alternaria burnsii* Uppal, Patel & Kamat, Indian J. Agric. Sci. 8: 49. 1938.

325

326 Nota: *Alternaria tomato*, descrita por Jones (1896) e *A. burnsii* descrita por Uppal et al
327 (1938), ambas foram identificadas a partir de características morfológicas. Woudenberg et al
328 (2015), utilizando ferramentas filogenéticas, empregou os marcadores ITS, *gapdh*, *rpb2*, *tefl*
329 *endoPG* e OPA. Esses marcadores separaram as espécies *A. tomato* e *A. burnsii* na árvore
330 concatenada, entretanto o clado reconhecido com *A. burnsii* não foi suportado. As espécies
331 foram reconhecidas através da observação da topologia da árvore concatenada, sem a
332 aplicação de qualquer critério de delimitação de espécies. O estudo ainda relata o baixo
333 número de polimorfismos fixados em cada uma das espécies, variando de um a dois
334 nucleotídeos para cada marcador. Al-Nadabi et al.(2018) chama o clado contendo ambas as
335 espécies de complexo *A. burnsii* - *A. tomato*. Em nosso trabalho, a análise multilocus baseada
336 nos genes *Alt a 1*, *ATPase*, *CAL*, *gapdh*, *endoPG* e OPA, apresentou um grande clado
337 contendo *A. tomato*, *A. burnsii* e isolados provenientes das anonáceas. Embora a árvore
338 concatenada apresente suporte significativo (>0.95 IB; >70 na MV) na separação das
339 espécies, nenhum dos genes individuais é capaz de separá-las em clados diferentes. As
340 árvores formadas por genes individuais apresentam um clado, bem suportado em ambas as
341 análises MV e IB, que incluem as duas espécies. Sendo assim, através do critério REFCG é
342 possível confirmar *A. tomato* e *A. burnsii* como sendo a mesma espécie, com alta variação
343 intraespecífica. Desta forma, propomos sinonimizar as duas espécies como *Alternaria tomato*.

344 A escolha do nome dado à espécie sinonimizada foi feita com base na descrição da espécie
345 mais antiga, sendo ela *A. tomato*.

346

347 **DISCUSSÃO**

348

349 O presente estudo caracterizou a mancha foliar de alternaria em anonáceas, uma doença foliar
350 severa até então não relatada nessas fruteiras. Ocupando uma área de aproximadamente 2,5
351 milhões de hectares, com produção de 40 milhões de toneladas, a fruticultura brasileira
352 contribui significativamente para o PIB agrícola nacional (Reetz et al., 2014; Retamales,
353 2011). Logo, toda e qualquer informação que traga maior sustentabilidade a essa atividade se
354 mostra importante para a manutenção e/ou mesmo incremento da renda dos produtores, além
355 de gerar vagas de emprego no campo evitando o êxodo rural. Responsável por cerca de 27%
356 da produção e 23% da área plantada, a região Nordeste se destaca como a segunda maior
357 produtora de frutas do país (Zambolim et al., 2009), assumindo a liderança na produção de
358 anonáceas (Lemos, 2014).

359

360 Apesar da grande capacidade adaptativa das anonáceas às adversidades edafoclimáticas
361 (Martins et al., 2010), sua exploração econômica tem sido limitada, dentre outros fatores, pela
362 escassez de informações técnicas. Nossas inspeções em campo revelaram que, a despeito de
363 todos os órgãos das anonáceas serem suscetíveis a doenças fúngicas, a mancha de alternaria
364 ficou restrita às folhas. A evolução de doenças foliares reduz a área fotossintética da planta e
365 consequentemente sua produção (Agrios, 2005), podendo inclusive inviabilizar a atividade. A
366 expansão e severidade da mancha foliar de alternaria em pomares da principal região
367 produtora de anonáceas no Brasil serve de alerta aos produtores e pesquisadores sobre a
368 importância econômica dessa doença, muitas vezes confundida com a antracnose e, por isso,

369 erroneamente associada a fungos do gênero *Colletotrichum*.

370

371 Por meio de uma abordagem filogenética envolvendo seis loci (ATPase, *Alt a1*, CAL,
372 *endoPG*, GAPDH e OPA10-2), nosso estudo revelou que a mancha foliar de alternaria em
373 anonáceas cultivadas tem como agentes etiológicos sete espécies do gênero *Alternaria*
374 pertencentes à seção *Alternaria* (produzem conídios pequenos): *A. alternata*, *A. tomato*, *A.*
375 *jacinthicola*, *A. gossypina*, *A. annonaceraum*, *Alternaria* sp. 1 e *Alternaria* sp. 2. Fungos
376 desse gênero infectam uma ampla gama de hospedeiros (Garganese et al. 2016; Rotem, 1994),
377 sendo comumente encontrados causando doenças em hortaliças (Farr et al. 2019) e fruteiras
378 de importância econômica (Adachi e Tsuge, 1994; Harteveld et al. 2013; Garganese et al.
379 2016). Todas as espécies encontradas no presente estudo foram capazes de causar doença em
380 pinheira e gravioleira quando inoculadas artificialmente. Enquanto a maioria delas exibiu
381 níveis semelhantes de agressividade em folhas de pinheira, *Alternaria* sp. 2 induziu as
382 menores lesões (Fig. 4). Em contrapartida, as lesões induzidas por *Alternaria* spp. em folhas
383 de gravioleira não progrediram, indicando a possível existência de defesas (químicas e/ou
384 físicas) que limitaram a agressividade do patógeno. Diferenças na agressividade entre
385 *Alternaria* spp. de conídio pequeno têm sido relatadas em outros hospedeiros, incluindo
386 mirtilo, pistache, maçã e tomate (Pryor e Michailides, 2002; Zhu e Xiao, 2015; Bessadat et al.,
387 2016; Elfar et al., 2018); e mesmo entre cultivares de uma mesma espécie vegetal, como é o
388 caso de maçãs (Elfar et al., 2018). Com base nesses resultados, não se pode descartar a
389 possibilidade de ocorrência de infecções cruzadas por espécies de *Alternaria* em pomares de
390 anonáceas no Brasil, o que pode ensejar ajustes de práticas culturais.

391

392 Atualmente, o gênero *Alternaria* é composto por 27 seções e seis linhagens monotípicas
393 (Lawrence et al. 2016; Woudenberg et al., 2013). *Alternaria* seção *Alternaria* compreende 11
394 espécies filogenéticas e um complexo de espécies baseado na comparação de genoma e

395 filogenia molecular (Woudenberg et al., 2015). Apesar do grande volume de trabalhos
396 envolvendo a sistemática de *Alternaria* (Andrew et al, 2009 ; Armitage et al, 2015 ; Hong et
397 al, 2015 ; Lawrence, 2013, 2016 ; Stewart, 2014; Woudenberg et al, 2013, 2015) , não há
398 consenso entre os micologistas sobre quais marcadores moleculares devem ser utilizados para
399 definir e delimitar as espécies dentro das seções. Segundo Lawrence et al. (2013), as regiões
400 ATPase, CAL, *Alt a 1* e GAPDH são as mais indicadas para delimitação das espécies de
401 *Alternaria* spp.. Andrew et al. (2009) e Woudenberg et al. (2015), por sua vez, afirmam que
402 as regiões *endoPG* e OPA10-2 são capazes de separar a maioria das espécies dentro da seção
403 *Alternaria*. Nossos resultados revelaram que esses seis *loci* são suficientes para resolver a
404 maioria das espécies de *Alternaria* de conídio pequeno. No entanto, visando elucidar quais
405 macadores, dentre os mais de 17 empregados na taxonomia da seção *Alternaria* (Lawrence et
406 al., 2013,2015; Stewart et al., 2014; Woudenberg et al, 2013, 2015), estamos conduzindo
407 outros estudos para investigar a informatividade desses marcadores. A correta delimitação das
408 espécies pode melhorar a compreensão de aspectos relacionados à adaptação do patógeno a
409 novos hospedeiros e condições ambientais, à evolução da patogenicidade e ao surgimento de
410 novas doenças infecciosas, além de direcionar eventuais medidas quarentenárias que se
411 fizerem necessárias (Harrington e Rizzo, 1999; Stewart et al., 2013; Stewart et al., 2014).

412

413 A prevalência das espécies de *Alternaria* identificadas no presente estudo variou em função
414 do estado de origem e da planta hospedeira. Enquanto *A. annonacearum* foi a mais prevalente
415 na Bahia, sua prevalência em Pernambuco foi similar à de *A. tomato*. Em relação à planta
416 hospedeira, *A. annonacearum* foi a mais prevalente em pinheira e atemoleira, sendo ainda a
417 terceira espécie mais prevalente em gravioleira. Esses resultados discordam de estudos
418 prévios que apontam *Alternaria alternata* como a espécie mais comum e mais amplamente
419 distribuída (Rotem, 1994; Coates e Johnson, 1997; Kurup et al., 2000). Ao mesmo tempo, eles
420 revelam *A. annonacearum* como potencial ameaça à exploração comercial de anonáceas, visto

421 sua ampla distribuição em pomares de pinheira e atemoeira nos principais estados produtores.
422
423 Com base em sequências de DNA das regiões ATPase, CAL, *Alt a 1*, GAPDH, *endoPG* e
424 OPA10-2, o presente estudo demonstrou que a mancha foliar de alternaria em anonáceas tem
425 sete espécies como agentes etiológicos, todas pertencentes à seção *Alternaria*. A riqueza de
426 espécies (número total de espécies) de *Alternaria* nas três espécies de anonáceas avaliadas foi
427 similar e, de modo geral, *A. annonacearum* se mostrou como a mais prevalente. Os resultados
428 deste estudo não excluem a possibilidade de outras espécies de *Alternaria* estarem associadas
429 à mancha foliar de *Alternaria* em anonáceas. A presença de diferentes espécies de *Alternaria*
430 pode dificultar o estabelecimento de estratégias de controle, uma vez que *Alternaria* spp.
431 podem apresentar diferenças na sensibilidade a fungicidas. Dessa forma, mais informações
432 sobre os componentes epidemiológicos e de sensibilidade de *Alternaria* spp. a fungicidas são
433 necessárias para implementar medidas eficazes e adequadas de manejo da mancha foliar de
434 alternaria em anonáceas cultivadas.

435

436 **AGRADECIMENTOS**

437

438 Os autores agradecem a Universidade Federal Rural de Pernambuco e a Universidade Federal
439 de Pernambuco pelo apoio técnico e institucional, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento
440 Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado.

441

442 **REFERÊNCIAS**

443

444 Abata L., Paz A., Viera W., Flores F., 2016. “First report of *Alternaria* rot caused by
445 *Alternaria alternata* on peach in Ecuador”. *Plant Disease*, 100(11), 2323.

446 Adachi Y, Tsuge T, 1994. Coinfection by different isolates of *Alternaria alternata* in single
447 black spot lesions of Japanese pear leaves. *Phytopathology*. 84, 447-451.

448 Agrios G., 2005. Plant Pathology. 5th Edition, *Elsevier Academic Press*. 26-27,398-401.

449 Agustin, J.A., Alviter, A.R., 1996. El cultivo de la chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) en el
450 estado de Michoacán. Carretera México: Universidad Autonoma Chapingo. 39-47.

451 Al-Nadabi H.H., Maharachchikumbura S.S.N., Agrama H., Al-Azri M., Nasehi A., Al-Sadi
452 A. M., 2018. Molecular characterization and pathogenicity of *Alternaria* species on
453 wheat and date palms in Oman. *European Journal of Plant Pathology*. 152, 577–588.

454 Andrew M., Peever T.L., Pryor B.M., 2009. An expanded multilocus phylogeny does not
455 resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex.
456 *Mycologia* 101, 95-109.

457 Armitage A. D., Barbara D. J., Harrison R. J., Lane C. R., Sreenivasaprasad S., Woodhall J.
458 W., Clarkson J. P., 2015. Discrete lineages within *Alternaria alternata* species
459 group : identification using new highly variable loci and support from morphological
460 characters. *Elsevier Fungal Biology*. 119, 994-1006.

461 Berbee M.L., Pirseyedi M., Hubbard S., 1999. Cochliobolus phylogenetics and the origin of
462 known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-
463 phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia*. 91(6), 964-977.

464 Bessadat N., Hamon B., Henni D.E., Simoneau P., 2016. First report of tomato early blight
465 caused by *Alternaria grandis* in Algeria. *Plant disease*, 100 (2), 533.

- 466 Castellani A., 1967. Maintenance and Cultivation of Common Pathogenic Fungi in Man in
467 Sterile Distilled Water. Further Researches, *American Journal of Tropical Medicine*
468 *and Hygiene*. 70, 181-184.
- 469 Coates L. , Johnson G., 1997. Postharvest diseases of fruit and vegetables. In: Plant pathogens
470 and plant diseases (Brown JF, Ogle HJ, eds). *Rockvale Publications*. 533–548.
- 471 Dagno K., Crovadore J., Lefort F., Lahlali R., Lassois L., Jijakli H. 2011. *Alternaria*
472 *jacinthicola*, a new fungal species causing. *Journal of Yeast and Fungal Research*. 2
473 (7), 99-105.
- 474 Dettman, J.R., Jacobson D.J., Taylor J.W., 2003. A multilocus genealogical approach to
475 phylogenetic species recognition in the model eukaryote *Neurospora*. *Evolution*. 57,
476 2703-2720.
- 477 Doyle J.J., Doyle J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*. 12, 13-15.
- 478 Doyle V.P., Oudemans P.V., Rehner S.A., Litt A., 2013. Habitat and Host Indicate Lineage
479 Identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. from Wild and Agricultural
480 Landscapes in North America. *PLoS ONE*. 8, e62394.
- 481 Elfar K., Zoffoli J.P., Latorre B.A., 2018. Identification and Characterization of *Alternaria*
482 species Associated with Moldy core of apple in Chile. *Plant disease*, 102 (8).
- 483 Farr D.F., & Rossman A.Y. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS,
484 USDA. Retrieved January 31, 2019, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
- 485 Garganese F., Schena L., Siciliano I., Prigigallo M.I., Spadaro D., De Grassi A., Ippolito, A.;
486 Sanzani, S.M., 2016. Characterization of Citrus-Associated *Alternaria* Species in
487 Mediterranean Areas. *PLoS ONE* 11(9), e0163255.
- 488 GCEA/IBGE- Grupo de Coordenação de Estatísticas Agropecuárias, Diretoria de Pesquisas,
489 Coordenação de Agropecuária, 2013. *Levantamento Sistemático da Produção*
490 *Agrícola*, Available from:

- 491 <www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?t=2&z=t&o=11&u1=&u3=1*u4=1&u5=1&u6=1&u2=1>. Accessed in: 28 nov 2017.
- 493 Gur L., Reuveni M., Cohen Y., 2017. Occurrence and etiology of *Alternaria* leaf blotch and
494 fruit spot of apple caused by *Alternaria alternata* f. sp. *mali* on cv. Pink lady in
495 Israel. *European Journal of Plant Pathology*. 147, 695–708.
- 496 Harrington T.C., Rizzo D.M., 1999. *Defining species in the fungi*. in: Worrall, J.J. (Ed.),
497 Structure and Dynamics of Fungal Populations. Kluwer Press, Dordrecht, The
498 Netherlands.
- 499 Harteveld D.O.C., Akinsanmi O.A., Drenth A., 2013. Multiple *Alternaria* species groups are
500 associated with leaf blotch and fruit spot diseases of apple in Australia. *Plant*
501 *Pathology*. 62, 289–297.
- 502 Hong S.G., Cramer R.A., Lawrence C.B., Pryor B.M., 2015. Alt a 1 allergen homologs from
503 *Alternaria* and related taxa: Analysis of phylogenetic content and secondary
504 structure. *Fungal Genetics and Biology*. 42,119–129.
- 505 Hopkins J.C.F., 1931. *Alternaria gossypina* (Thüm.) comb. nov. causing a leaf spot and boll
506 rot of cotton. *Transactions of the British Mycological Society*. 16 (2-3), 136–144.
- 507 IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2009. *Censo agropecuário*. Rio de
508 Janeiro, 777.
- 509 Isshiki A., Akimitsu K., Nishio K., Tsukamoto M., Yamamoto H., 1997. Purification and
510 characterization of an endopolygalacturonase from the rough lemon pathotype of
511 *Alternaria alternata*, the cause of citrus brown spot disease. *Physiology Molecular*
512 *Plant Pathology*. 51, 155–67.
- 513 Isshiki A., Akimitsu K., Yamamoto M., Yamamoto H., 2001. Endopolygalacturonase is
514 essential for citrus black rot caused by *Alternaria citri* but not brown spot caused by
515 *Alternaria alternata*. *Mol Plant-Microbe Interact*. 14, 749–57.

- 516 Johnson M., Zaretskaya I., Raytselis Y., Merezhuk Y., McGinnis S., Madden T.L., 2008.
517 NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Research* 36(Web Server issue),
518 W5-9.
- 519 Jones B., 1896. *Alternaria tomato*. *Torrey Bot. Club.* 23, 353.
- 520 Junqueira N.T.V., Cunha M.M., Junqueira K.P., 2003. Doenças e Pragas de anonáceas. In:
521 Manica I., Icuma I., Junqueira K. Frutas anonáceas: ata ou pinha, atemólia,
522 cherimólia e graviola: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado. Porto Alegre:
523 *Cinco Continentes Editora*.1, 387-440.
- 524 Junqueira N.T.V., Cunha M.M., Oliveira M.A.S., Pinto, A.C.Q., 1996. Graviola para
525 exportação: aspectos fitossanitários. Brasília: *Embrapa*, SPI. 22, 67.
- 526 Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T., 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple
527 sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* 30,
528 3059–3066.
- 529 Katoh K., Toh H., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7:
530 improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30
531 ,772-780.
- 532 Kurup V.P., Shen H-D., Banerjee B., 2000. Respiratory fungal allergy. *Microbes and*
533 *Infection.* 2, 1101–1110.
- 534 Lawrence D.P., Gannibal P.B., Peever T.L., Pryor B.M., 2013. The sections of *Alternaria*:
535 formalizing species-group concepts. *Mycologia* 105, 530-546.
- 536 Lawrence D.P., Rotondo F., Gannibal P.B., 2016. Biodiversity and taxonomy of the
537 pleomorphic genus. *Alternaria*. *Mycol. Prog.* 15 (3), 1-22.
- 538 Lemos E E.P., 2014. A produção de anonáceas do Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*.
539 36, 77–85.
- 540 Martins M. V. V., Freire F. C. O., Cardoso J. E.,2010. Ocorrência de ferrugem em folhas de
541 ata e atemóia no Estado do Ceará. Fortaleza: *Embrapa Agroindústria Tropical*.163, 3.

- 542 Mello-Silva R., Pirani, J.R., 2003. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Annonaceae. *Boletim*
543 *de Botânica*. Universidade de São Paulo. 21, 67-72.
- 544 Moslemi A., Ades P.K., Groom T., Nicolas M.E., Taylor P.W.J., 2017. *Alternaria infectoria*
545 and *Stemphylium herbarum*, two new pathogens of pyrethrum (*Tanacetum*
546 *cinerariifolium*) in Australia. *Australasian Plant Pathology* 46(1), 91-101.
- 547 Munhuweyi K., Lennox C.L., Meitz-Hopkins J.C., Caleb O.J., Opara U.L., 2016. Major
548 diseases of pomegranate (*Punica granatum* L.), their causes and management—A
549 review. *Scientia Horticulturae*. 211, 126-139.
- 550 Nieto-Angel D., São José, A., Souza S. E. Perdas na pré e pós-colheita de graviola no Estado
551 da Bahia. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura. Poços de Caldas. *Anais*. SBF, 22,
552 400.
- 553 Nylander J.A.A., 2008. MrModeltest v2.3 Program distributed by the author. Evolutionary
554 Biology Centre, Uppsala University.
- 555 Paul N.C., Deng J.X., Lee H.B., Yu S.H. 2015. Characterization and Pathogenicity of
556 *Alternaria burnsii* from Seeds of *Cucurbita maxima* (Cucurbitaceae) in Bangladesh,
557 *Mycobiology*, 43 (4), 384-391.
- 558 Pereira M.C.T.; Nietzsche S., Costa M.R., Crane J. H. Corsato C.D.A., Mizobutsi E.H., 2011.
559 Anonáceas: pinha, atemoia e graviola. *Cultivo tropical de fruteiras*, Belo Horizonte.
560 32, 264.
- 561 Peever T.L., Su G., Carpenter-Boggs L., Timmer L.W., 2004. Molecular systematics of
562 citrus-associated *Alternaria* species. *Mycologia*. 96,119–134.
- 563 Pinto A.C., Cordeiro M.C.R., Andrade S.R.M., Ferreira F.R., Filgueiras H.A., Alves R.E.,
564 Kinpara, D.J., 2005. *Annona* Species. International Centre for Underutilised Crops,
565 University of Southampton, Southampton, Reino Unido. SO171BJ, 1–281.

- 566 Pryor B.M., Michanilides T.J., 2002. Morphological, pathogenic, and molecular
567 characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of
568 pstachio. *Phytopathology* 92, 406-416.
- 569 Rambaut A., Drummond A., 2010. Tracer v. 1.4 Available from
570 <http://beast.bioed.ac.uk/Tracer>.
- 571 Rayner R.W., 1970. A Mycological Colour Chart. Commonwealth Mycological Institute and
572 British Mycological Society, Kew. 34.
- 573 Reetz E. R., Kist B. B., Santos C. E., Carvalho C., Drum M., 2014. Anuário Brasileiro da
574 Fruticultura 2014. *Editora Gazeta Santa Cruz*. 104.
- 575 Retamales J.B., 2011. World temperate fruit production: characteristics and challenges.
576 *Revista Brasileira de Fruticultura*. 121-130.
- 577 Ronquist F., Teslenko M., Van Der Mark P., Ayres D.L., Darling A., Hohna S., Larget B., Liu
578 L., Suchard M.A., Huelsenbeck J.P., 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian
579 phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic*
580 *Biology*. 61, 539-542.
- 581 Rotem J., 1994 The genus *Alternaria*. Biology, epidemiology and pathogenicity. *APS Press*.
- 582 Rozas J., Sánchez-Delbarrio J.C., Messeguer X., Rozas R., 2003. DnaSP, DNA
583 polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*. 19,
584 2496-2497.
- 585 São José A.R., Pires M.M., Freitas A.L.G.E., Ribeiro D.P., Perez L.A., 2014. Atualidades e
586 perspectivas das Anonáceas no mundo. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 36, 86-93.
- 587 Sela I., Ashkenazy H., Katoh K, Pupko T., 2015. GUIDANCE2: accurate detection of
588 unreliable alignment regions accounting for the uncertainty of multiple parameters.
589 *Nucleic Acids Research*. 43, W7-W14.
- 590 Simmons E.G., 2007. *Alternaria. An identification manual*. In: CBS biodiversity series 6.
591 CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.

- 592 Sobrinho J.R.B., 2010. Potencial de exploração de anonáceas no Nordeste do Brasil. In:
593 semana da fruticultura, floricultura e agroindústria, Fortaleza. *Anais*, Embrapa
594 Agroindústria Tropical, 17.
- 595 Sobrinho R.B., 2014. Produção integrada de Anonáceas no Brasil. *Revista Brasileira de*
596 *Fruticultura*. 36.
- 597 Soltani J., Moghaddam M.S.H., 2014. Antiproliferative, Antifungal, and Antibacterial
598 Activities of Endophytic *Alternaria* Species from Cupressaceae. *Curr. Microbiol.* 69,
599 349–356.
- 600 Staden R., Beal K.F., Bonfield J.K., 1998. The Staden package, 1998. In: Misener S, Krawetz
601 SA (eds) Bioinformatics methods and protocols. *Humana*, New York, pp 115–130.
- 602 Stamatakis A., 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of
603 large phylogenies. *Bioinformatics*. 1, 30(9), 1312-3.
- 604 Statistix, 2013. Statistix 10. Version 10. Analytical Software. Tallahassee, FL.
- 605 Stewart J.E., Thomas K.A., Lawrence C.B., Dang H., Pryor B.M., Timmer L.M., Peever T.L.,
606 2013. Signatures of Recombination in Clonal Lineages of the Citrus Brown Spot
607 Pathogen, *Alternaria alternata* sensu lato. *Phytopathology* 103, 741-749.
- 608 Stewart J.E., Timmer L.W., Lawrence C.B., Pryor B.M., Peever T.L., 2014. Discord between
609 morphological and phylogenetic species boundaries: incomplete lineage sorting and
610 recombination results in fuzzy species boundaries in an asexual fungal pathogen.
611 *BMC Evolutionary Biology* 14, 38.
- 612 Taheri A.E., Chatterton S., Foroud N., Gossen B., McLaren D., 2017. Identification and
613 community dynamics of fungi associated with root, crown, and foot rot of field pea
614 in western Canada. *European Journal of Plant Pathology*. 147(3), 489–500.
- 615 Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S., 2011. MEGA5:
616 molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary

- 617 distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28,
618 2731–2739.
- 619 Taylor J.W., Jacobson D.J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D.M., Hibbett D.S., Fisher M.C.,
620 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genet*
621 *Biol.* 31, 21-32.
- 622 Thomma, B.P.H.J., 2003. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite.
623 *Molecular Plant Pathology.* 4, 225-236.
- 624 Uppal B.N., Patel M.K., Kamat M.N., 1938. *Alternaria* blight of cumin. *Indian Journal of*
625 *Agricultural Sciences.* 8, 49-62.
- 626 Villalobos M.C., Serradilla M.J., Martín A., Ordiales E., Ruiz-Moyano S., Córdoba M. G.,
627 2016. Antioxidant and antimicrobial activity of natural phenolic extract from defatted
628 soybean flour by-product for stone fruit postharvest application. *Journal of the*
629 *Science of Food and Agriculture.* 96(6), 2116-2124.
- 630 Wongs-Aree C., Noichinda S., Yahia E. M., 2011. Sugar apple (*Annona squamosa* L.) and
631 atemoya (*A. cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.). Postharvest biology and technology
632 of tropical and subtropical fruits. *Mangosteen to White Sapote.* 4, 399-426.
- 633 Woudenberg J.H.C., Groenewald J.Z., Binder M., Crous P.W., 2013. *Alternaria* redefined.
634 *Studies in Mycology* 75, 171-212.
- 635 Woudenberg J.H.C., Seidl M.F., Groenewald E., De Vries M., Stielow J.B., Thomma
636 B.P.H.J., Crous P.W., 2015. *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales
637 or pathotypes. *Studies in Mycology.* 82, 1-21
- 638 Zambolim L., Nasser L. C. B., Andrigueto J. R., Teixeira J. M. A., Kososki A. R., Fachinelo
639 J. C., 2009. Produção integrada no Brasil: agropecuária sustentável alimentos
640 seguros /Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretária de
641 Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo.
- 642 Zhu X., Xiao C., 2015. Phylogenetic, Morphological and Pathogenic Characterization of

- 643 *Alternaria* Species Associated with Fruit Rot of Blueberry in California. *Phytopathology*, 105,
644 1555-1567.



Fig 1. Folhas de pinheira com sintomas de mancha de *Alternaria*.

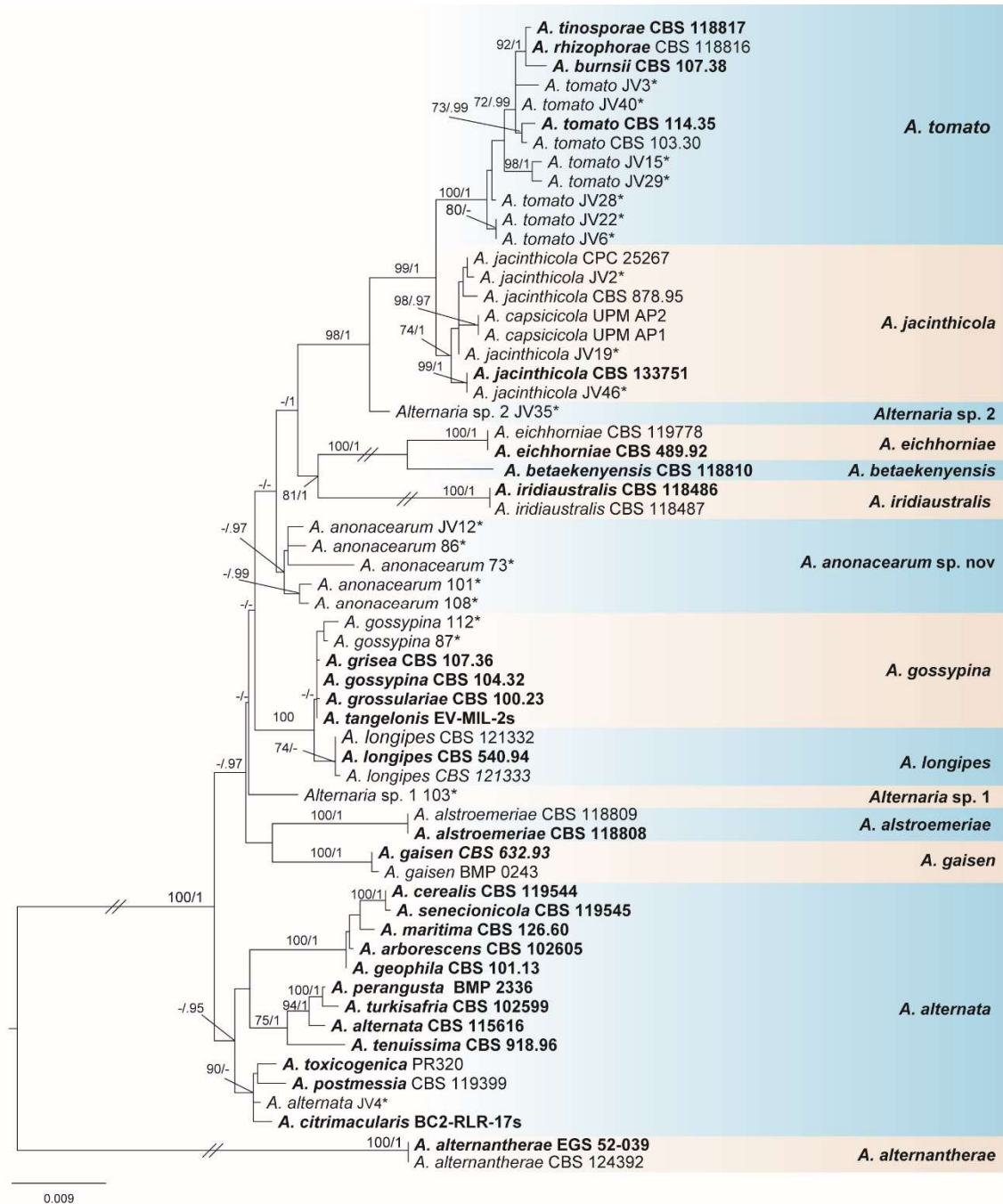


Fig. 2. Árvore de máxima verossimilhança da seção *Alternaria* inferida a partir do alinhamento concatenado de ATPase, *Alt a 1*, CAL, GAPDH, EndoPG e OPA10-2. Valores de suporte bootstrap (ML \geq 70) e valores de probabilidade posterior bayesiana (PP \geq 0,95) são mostrados acima dos ramos. “-” indica suporte não significativo ou ausência do ramo. Ex-tipos são enfatizados em negrito e incluem o nome taxonômico como originalmente descrito. “*” Indica isolados das anonáceas.

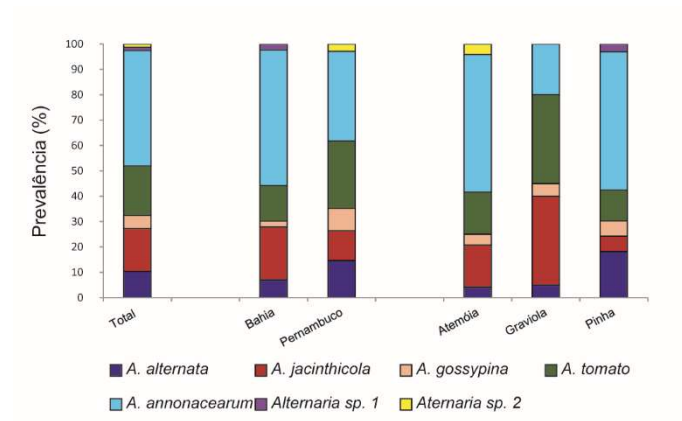


Fig. 3. Prevalência de espécies de *Alternaria* isoladas a partir de folhas de anonáceas, total, por área e hospedeiro.

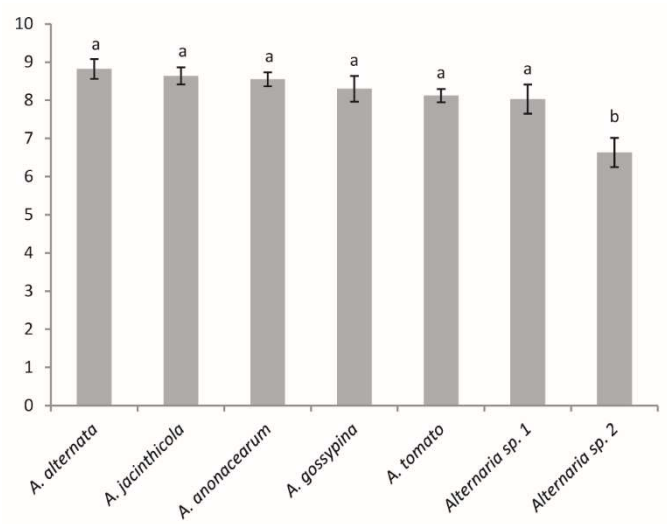


Fig. 4. Comprimentos médios de lesão (mm) causados por espécies de *Alternaria* em pinheira, 20 dias após a inoculação. Barras acima das colunas são do erro padrão da média. Colunas com a mesma letra não diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

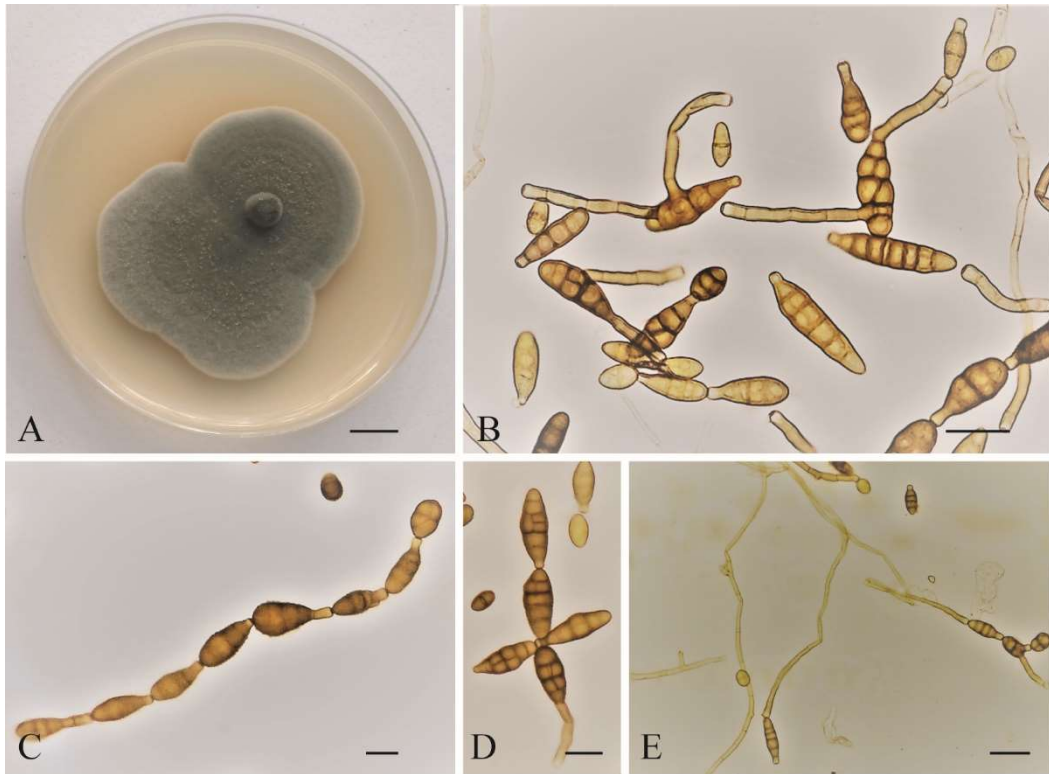


Fig. 5. *Alternaria anonacearum* XXXXXXXX – cultura do ex-holótipo. A. Colônia em BDA, crescida por sete dias. B. Conídios e conidióforos secundários. C. Cadeia de conídios. D. Conídios. E. Conidióforos. Barras de escala: A= 10 mm; B, C e D = 10 μ m; E= 20 μ m.

Tabela S1. Sequência e ciclos dos primers utilizados no estudo

Locus	Nome do Primer	Sequência do Primer (5'-3')	Desnaturação inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	FiExtensão final	Referência
ATPase	ATPDF1	ATCGTCTCCATGACCGAGTTCG	94 °C for 4 min	94 °C for 30 s	59 °C for 30 s	72 °C for 1 min	72 °C for 5 min	Lawrence et al., 2013
	ATPDF1	TCCGATGGAGTTCATGATAGCC						
Calmodulin	CALDF1	AGCAAGTCTCCGAGTTCAAGG	95 °C for 4 min	95 °C for 30 s	58.5 °C for 30 s	72 °C for 1 min	72 °C for 5 min	Lawrence et al., 2013
	CALDR1	CTTCTGCATCATCAYCTGGACG						
GAPDH	GPD1	CAACGGCTTCGGTCGCATTG	94 °C for 5 min	94 °C for 30 s	48 °C for 30 s	72 °C for 90 s	72 °C for 5 min	Berbee et al., 1999
	GPD2	GCCAAGCAGTTGGTTGTGC						
Alt a 1	ALT-for	ATGCAGTTCACCACCATCGC	94 °C for 1 min	94 °C for 30 s	57 °C for 30 s	72 °C for 1 min	72 °C for 10 min	Hong et al., 2005
	ALT-ver	ACGAGGGTGAYGTAGGCGTC						
endoPG	PG3	TACCATGGTTCCTTCCGA	94 °C for 5 min	94 °C for 30 s	50 °C for 30 s	72 °C for 30 s	72 °C for 7 min	Isshiki et al., 1997, 2001
	PG2b	GAGAATTCRCARTCRTCYTGRRT						
OPA10-2	OPA10-2L	TCGCAGTAAGACACA TTCTACG	94 °C for 5 min	94 °C for 30 s	62 °C for 30 s	72 °C for 45 s	72 °C for 7 min	Peever et al., 2004.
	OPA10-2R	GATTCGCAGCAGGGAAACTA						

Tabela S2. Isolados usados no estudo e seus códigos de acesso do GenBank

Espécies	Número do isolado	Origem	Código de acesso do GenBank					
			GAPDH	ALT A 1	ATPASE	CAL	ENDOPG	OPA10-2
<i>A. alstroemeriae</i>	CBS 118808; E.G.S. 50.116R	EUA	KP124153	KP123845	-	-	KP123993	KP124601
<i>A. alstroemeriae</i>	CBS 118809; E.G.S. 52.068; MAFF 1219T	Austrália	KP124154	-	-	-	KP123994	KP124602
<i>A. alternantherae</i>	EGS 52-039	China	JN383477	JN383511	JQ671892	JQ646226	-	-
<i>A. alternantherae</i>	CBS 124392; HSAUP2798	Desconhecido	KC584096	KP123846	-	-	-	-
<i>A. alternata</i>	CBS 115616; EGS 34.016; CBS 916.96; CBS 110977T	Índia	AY278808	AY563301	JQ671874	JQ646208	JQ811978	KP124632
<i>A. alternata</i>	JV4	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. anonacearum</i>	D101	Brasil, Bahia	-	-	-	-	-	-
<i>A. anonacearum</i>	D108	Brasil, Bahia	-	-	-	-	-	-
<i>A. anonacearum</i>	D73	Brasil, Bahia	-	-	-	-	-	-
<i>A. anonacearum</i>	D86	Brasil, Bahia	-	-	-	-	-	-
<i>A. anonacearum</i>	JV12	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. arborescens</i>	CBS 102605; E.G.S. 39.128	EUA	AY278810	AY563303	JQ671880	JQ646214	AY295028	KP124712
<i>A. betae-kenyensis</i>	CBS 118810; E.G.S. 49.159; IMI 385709	Kenya	KP124270	KP123966	-	-	KP124123	KP124733
<i>A. burnsii</i>	CBS 107.38; E.G.S. 06.185T	Índia	JQ646305	JQ646388	JQ671860	JQ646194	KP124124	KP124734
<i>A. capsicicola</i>	UPM AP1	Malásia	KJ508064	KJ508068	-	KJ508066	-	-
<i>A. capsicicola</i>	UPM AP2	Malásia	KJ508065	KJ508069	-	KJ508067	-	-
<i>A. cerealis</i>	CBS 119544; E.G.S. 43.072	Nova Zelândia	JQ646321	KP123955	JQ671883	JQ646217	KP124112	KP124722
<i>A. citrimacularis</i>	BC2-RLR-17s	EUA	JQ646323	JQ646407	JQ671885	JQ646219	-	-
<i>A. eichhorniae</i>	CBS 489.92; ATCC 22255; ATCC 46777; IMI 121518T	Índia	KP124276	KP123973	-	-	KP124130	KP124740
<i>A. eichhorniae</i>	CBS 119778; E.G.S. 45.026; IMI 37968R	Indonésia	KP124277	-	-	-	KP124128	KP124738
<i>A. gaisen</i>	BMP 0243	Japão	JQ646317	JQ646400	JQ671871	JQ646205	-	-
<i>A. gaisen</i>	CBS 632.93; E.G.S. 90.512R	Japão	KC584116	KP123974	-	-	AY295033	KP124742

Tabela S2. (Continuação)

Espécies	Número do isolado	Origem	Código de acesso do GenBank					
			GAPDH	ALT A 1	ATPASE	CAL	ENDOPG	OPA10-2
<i>A. geophila</i>	CBS 101.13; E.G.S. 07.022; QM1765	Suíça	KP124244	KP123940	-	-	KP124096	KP124705
<i>A. gossypina</i>	CBS 104.32	Zimbabue	JQ646312	JQ646395	JQ671868	JQ646202	KP124135	KP124746
<i>A. gossypina</i>	D112	Brasil, Bahia	-	-	-	-	-	-
<i>A. gossypina</i>	D87	Brasil, Bahia	-	-	-	-	-	-
<i>A. grisea</i>	CBS 107.36	Indonésia	JQ646310	JQ646393	JQ671866	JQ646200	KP124136	KP124747
<i>A. grossulariae</i>	CBS 100.23	Desconhecido	JQ646311	JQ646394	JQ671867	JQ646201	KP124134	KP124745
<i>A. iridiaustralis</i>	CBS 118486; E.G.S. 43.014	Austrália	KP124284	KP123981	-	-	KP124140	KP124751
<i>A. iridiaustralis</i>	CBS 118487; E.G.S. 44.147	Austrália	KP124285	KP123982	-	-	KP124141	KP124752
<i>A. jacinthicola</i>	CBS 133751; MUCL 53159	Mali	KP124287	KP123984	-	-	KP124143	KP124754
<i>A. jacinthicola</i>	CBS 878.95; IMI 77934b	Ilhas Maurício	KP124286	KP123983	-	-	KP124142	KP124753
<i>A. jacinthicola</i>	CPC 25267	Desconhecido	KP124288	KP123985	-	-	KP124144	KP124755
<i>A. jacinthicola</i>	JV19	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. jacinthicola</i>	JV2	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. jacinthicola</i>	JV46	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. longipes</i>	CBS 121332; E.G.S. 30.048R	EUA	KP124292	KP123989	-	-	KP124149	KP124760
<i>A. longipes</i>	CBS 121333; E.G.S. 30.051R	EUA	KP124293	KP123990	-	-	KP124150	KP124761
<i>A. longipes</i>	CBS 540.94; E.G.S. 30.033; QM 9589R	EUA	AY278811	AY563304	JQ671864	JQ646198	KP124147	KP124758
<i>A. maritima</i>	CBS 126.60; IMI 081622	Reino Unido	JQ646307	JQ646390	JQ671862	JQ646196	KP124101	KP124710
<i>A. perangusta</i>	BMP 2336	Desconhecido	JQ646319	JQ646403	JQ671881	JQ646215	AY295023	KP124641
<i>A. postmessia</i>	CBS 119399; E.G.S. 39.189	EUA	JQ646328	JQ646412	JQ671890	JQ646224	KP124063	KP124672
<i>A. rhizophorae</i>	CBS 118816; E.G.S. 43.145; IMI 368045	Índia	KP124273	KP123970	-	-	KP124127	KP124737
<i>A. senecionicola</i>	CBS 119545; E.G.S. 48.130	Nova Zelândia	KP124260	KP123956	-	-	KP124113	KP124723

Tabela S2. (Continuação)

Espécies	Número do isolado	Origem	Código de acesso do GenBank					
			GAPDH	ALT A 1	ATPASE	CAL	ENDOPG	OPA10-2
<i>A. tangelonis</i>	EV-MIL-2s	Desconhecido	JQ646309	JQ646392	JQ671865	JQ646199	KP124137	KP124748
<i>A. tenuissima</i>	CBS 918.96; E.G.S. 34.015; IMI 255532	Reino Unido	AY278809	AY563202	JQ671875	JQ646209	KP124026	KP124633
<i>A. tinosporae</i>	CBS 118817; E.G.S. 39.014; IMI 318433	Índia	KP124274	KP123971	-	-	KP124128	KP124738
<i>A. tomato</i>	CBS 103.30	Desconhecido	KP124294	KP123991	-	-	KP124151	KP124762
<i>A. tomato</i>	CBS 114.35	Desconhecido	JQ646306	JQ646389	JQ671861	JQ646195	KP124152	KP124763
<i>A. tomato (syn. A. burnsii)</i>	JV15	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. tomato (syn. A. burnsii)</i>	JV22	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. tomato (syn. A. burnsii)</i>	JV28	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. tomato (syn. A. burnsii)</i>	JV29	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. tomato (syn. A. burnsii)</i>	JV3	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. tomato (syn. A. burnsii)</i>	JV40	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. tomato (syn. A. burnsii)</i>	JV6	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-
<i>A. toxicogenica</i>	CBS 102600; E.G.S. 39.181; ATCC 38963	EUA	KP124186	KP123880	-	-	KP124033	KP124640
<i>A. turkisafrica</i>	CBS 102599; E.G.S. 44.166	Turquia	KP124185	KP123879	JQ671882	JQ646216	KP124032	KP124639
<i>Alternaria</i> sp. 1	D103	Brasil, Bahia	-	-	-	-	-	-
<i>Alternaria</i> sp. 2	JV35	Brasil, Pernambuco	-	-	-	-	-	-

1-ATCC: American Type Culture Collection, Manassas, VA, EUA; BM Pryor, School of Plant Sciences, University of Arizona, Tucson, AZ, 85721, EUA ; CBS: Culture collection of the Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Holanda; CPC: Personal collection of P.W. Crous, Utrecht, Holanda ; E.G.S.: Personal collection of Dr. E.G. Simmons; HSAUP: Department of Plant Pathology, Shandong Agricultural University, China; IMI: Culture collection of CABI Europe UK Centre, Egham, Reino Unido ; MAFF: MAFF Genebank Project, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Tsukuba, Japão; MUCL: (Agro)Industrial Fungi and Yeast Collection of the Belgian Co-ordinated Collections of Micro-organisms (BCCM), Louvain-la-Neuve, Bélgica; QM: Quarter Master Culture Collection, Amherst, MA, EUA; UPM: University of Putra Malaysia, Malásia. 2- colunas representadas pelo símbolo “-“ não apresentam dados disponíveis.

DESTAQUES

- Um novo patossistema em anonáceas é caracterizado;
- Diferentes espécies estão associadas a mancha foliar de alternaria nas anonáceas;
- Uma nova espécie (*Alternaria anonacearum*) é descrita;
- *Alternaria anonacearum* é a espécie prevalente.

CONCLUSÕES GERAIS

- Cinco diferentes espécies e duas linhagens monofiléticas do gênero *Alternaria* são responsáveis por causar a mancha foliar de *Alternaria* nas anonáceas;
- As espécies causadoras da mancha foliar de *Alternaria* diferem quanto ao nível de virulência;
- Há diferença na prevalência das espécies de *Alternaria* tanto ao nível de região geográfica, quanto em relação às espécies hospedeiras.