



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**WÉVERSON LIMA FONSECA**

**DIVERSIDADE DE *Erysiphe* spp., AGENTES ETIOLÓGICOS DO OÍDIO DO  
CAJUEIRO**

**FORTALEZA**

**2019**

WÉVERSON LIMA FONSECA

DIVERSIDADE DE *Erysiphe* spp., AGENTES ETIOLÓGICOS DO OÍDIO DO CAJUEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. PhD. José Emilson Cardoso

Coorientador: Prof. Dr. Cristiano Souza Lima

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- F748d Fonseca, Wéverson Lima.  
Diversidade de *Erysiphe* spp., agentes etiológicos do oídio do cajueiro /  
Wéverson Lima Fonseca. – 2019.  
68 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,  
Programa de PósGraduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2019.  
Orientação: Prof. PhD. José Emilson Cardoso.  
Coorientação: Prof. Dr. Cristiano Souza Lima.
1. Oídio. 2. *Erysiphe quercicola*. 3. *Erysiphe necator*. 4. Caracterização  
molecular. 5. Hospedeiros alternativos. I. Título.

CDD 630

---

WÉVERSON LIMA FONSECA

DIVERSIDADE DE *Erysiphe* spp., AGENTES ETIOLÓGICOS DO OÍDIO DO CAJUEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

Aprovada em: 07 / 03 / 2019.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. PhD. José Emilson Cardoso (Orientador)  
Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa)

---

Prof. Dr. Cristiano Souza Lima (Coorientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Márcio Cleber de Medeiros Corrêa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr. Marlon Vagner Valentim Martins  
Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa)

---

Dr. Marcio Akio Ootani  
Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE)

---

Dr. Joilson Silva Lima  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

A Deus.

Aos meus pais, Éverton e Rosália.

Aos meus irmãos, Wéverton e Rosane.

À minha esposa, Jacira.

À minha avó, Gilda.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo bem mais valioso que me concedeu que é a vida, e por estar sempre ao meu lado me guiando e me iluminando para que meus sonhos se tornem realidade.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade da realização do meu curso de doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro do trabalho.

À Embrapa Agroindústria Tropical, por ter fornecido todas as condições para que este trabalho pudesse ser realizado.

Ao meu orientador, PhD. José Emilson Cardoso, pela orientação, paciência, profissionalismo, amizade e dedicação durante todas as fases da confecção dessa Tese e ainda por ser um dos maiores responsáveis pelo meu desenvolvimento profissional e acadêmico.

Ao meu coorientador, Dr. Cristiano Souza Lima, pela coorientação, amizade e por ter compartilhado comigo seus conhecimentos de fitopatologia molecular e bioinformática, os quais foram fundamentais para a realização desta Tese.

Aos participantes da banca examinadora, pelas suas valiosas colaborações e sugestões.

Aos profissionais e amigos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa (Regimara, Suane, Maria, Seite, Wallysson, Francisca Samara, Dr. Márcio, Dr. Joilson, Dr. Marto Viana, Dr. Marlon Valentim, Dra. Celli Muniz e Dr. Freire); do Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa (Dra. Patrícia Bordallo); aos amigos do Laboratório de Micologia da UFC (Israel, Diene, Francisco Câmara): a todos meu muito obrigado pela amizade, companheirismo e por toda a colaboração técnica e científica durante a execução deste trabalho e na minha vida acadêmica.

A todos os professores que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia da UFC, em especial àqueles que contribuíram diretamente para minha qualificação profissional e formação acadêmica.

Aos meus familiares que me incentivaram e apoiaram para que este sonho fosse concretizado, em especial aos meus pais, Éverton e Rosália; aos meus irmãos, Wéverton e Rosane; a minha esposa, Jacira; a minha avó, Gilda e a minha cunhada, Gleissa; a todos muito obrigado pela força, pelo carinho, pelo amor, pelos ensinamentos e apoio proporcionados.

E a todos que direta ou indiretamente colaboraram.

**MEU MUITO OBRIGADO!**

*“Ora, àquele que é poderoso para fazer infinitamente mais do que tudo quanto pedimos ou pensamos, conforme o seu poder que em nós opera.”*

**Efésios 3:20**

## RESUMO

O oídio é atualmente a doença mais importante do cajueiro em todas as regiões produtoras do Brasil. Embora tenha sido relatada pela primeira vez há mais de um século, até o início do século XXI não haviam sido observadas no Brasil epidemias que causassem grande impacto econômico. Diferenças morfológicas e patogênicas do agente causal evidenciaram a possibilidade de que diferentes espécies do gênero *Erysiphe* estariam associadas ao oídio do cajueiro. Resultando, portanto, em fortes indícios de envolvimento de diferentes hospedeiros na epidemiologia da doença em cajueiro. Este estudo foi desenvolvido para elucidar estas questões, comparando por filogenia molecular os tipos morfológicos associados ao oídio em cajueiro no Brasil. As relações filogenéticas foram reconstruídas em fungos causadores de oídios em plantas que ocorrem no ecossistema do cajueiro, visando conhecer suas relações com os hospedeiros, ensejando possíveis envolvimento de hospedeiros alternativos com as epidemias verificadas no cajueiro. O trabalho consistiu inicialmente de coleta de amostras de plantas com sintomas de oídio, testes de patogenicidade nos hospedeiros originais, seguindo-se com as análises morfológicas, filogenéticas e inoculações cruzadas. Com base nestas análises, foi demonstrado que duas espécies estão associadas ao oídio do cajueiro: *Erysiphe quercicola* que infecta tecidos jovens imaturos, como folhas novas, flores e frutos jovens; e *Erysiphe necator* o qual infecta tecidos foliares maduros e sombreados. Este é o primeiro relato sobre a ocorrência tanto de *E. quercicola* quanto de *E. necator* causando oídio em cajueiros, e a primeira detecção de *E. necator* neste hospedeiro. Estes estudos permitiram a identificação inédita de hospedeiros alternativos de *E. quercicola* como o urucuzeiro (*Bixa orellana*), o sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) e a mangueira (*Mangifera indica*). Os testes de inoculação cruzada serviram para levantar a possibilidade de envolvimento destas espécies de plantas como fonte primária de inóculo do oídio do cajueiro.

**Palavras-chave:** Oídio. *Erysiphe quercicola*. *Erysiphe necator*. Caracterização molecular. Hospedeiros alternativos.



## ABSTRACT

Powdery mildew is currently the most important cashew disease in all producing regions of Brazil. Although it was first reported more than a century ago, up to the beginning of the twenty-first century there were no epidemics in Brazil that caused a major economic impact. Differences in morphological and pathogenic of the causal agent showed raise the possibility of different species of the genus *Erysiphe* would be associated to the cashew powdery mildew. Resulting, therefore, in strong evidence of involvement of different hosts in the cashew disease epidemiology. This study was developed to elucidate these questions, comparing by molecular phylogeny the morphological types associated with the cashew tree powdery mildew in Brazil. The phylogenetic relationships were reconstructed in fungi causing powdery mildews in plants that occur in the cashew tree ecosystem, aiming to know their relations with the hosts, provoking possible involvements of alternative hosts with the epidemics verified in the cashew tree. The work consisted initially of collecting samples of plants with symptoms of powdery mildew, pathogenicity tests in the original hosts, followed by morphological, phylogenetic and cross-inoculation analyzes. Based on these analyzes, two species have been shown to be associated with cashew powdery mildew: *Erysiphe quercicola*, which infects young immature tissues, such as bright leaves, flowers and young fruits; and *Erysiphe necator*, which infects mature and shaded foliar tissues. This is the first report on the occurrence of both *E. quercicola* and *E. necator* causing powdery mildew in cashew trees, and the first detection of *E. necator* in this host. These studies allowed the first identification of alternative hosts of *E. quercicola* as *Bixa orellana*, *Clitoria fairchildiana* and *Mangifera indica*. Cross-inoculation tests served to raise the possibility of involvement of these plant species as the primary source of cashew powdery mildew inoculum.

**Keywords:** Powdery mildew. *Erysiphe quercicola*. *Erysiphe necator*. Molecular characterization. Alternative hosts.

## LISTA DE FIGURAS

- Figure 1 – (a) Powdery mildew symptoms on cashew leaves, (b) Powdery mildew symptoms on cashew inflorescences, (c) Powdery mildew symptoms on cashew young fruits, (d) Powdery mildew symptoms on young leaves of cashew seedlings inoculated with *E. quercicola*. (e) Scanning electron microscopy image showing conidiophores (Cnf.), conidia (Con.) and multilobed appressoria (Ap.) of *E. quercicola* (seta), and, (f) Light microscopy image of conidiophores and conidia of *E. quercicola* (scale bar: 30  $\mu$ m) ..... 33
- Figure 2 – (a) Powdery mildew symptoms on mature cashew leaves, (b) Powdery mildew symptoms on cashew mature leaves inoculated with *E. necator*, (c) Powdery mildew symptoms on young leaves of cashew seedlings inoculated with *E. necator*, (d) Powdery mildew symptoms on cashew young stems inoculated with *E. necator*, (e) Scanning electron microscopy image showing conidiophores (Cnf.), conidia (Con.) and multilobed appressoria (Ap.) of *E. necator* (seta), and, (f) Light microscopy image of conidiophores and conidia of *E. necator* (scale bar: 30  $\mu$ m) ..... 34
- Figure 3 – Phylogenetic tree inferred from the maximum parsimony (MP) analyses of combined internal transcribed spacer and 28S rDNA regions from species in the genus *Erysiphe*. Horizontal branch lengths are proportional to the number of substitutions that were inferred to have occurred along a particular tree branch. MP bootstrap values with 1000 replications are shown at each node. The sequences of *E. quercicola* and *E. necator* from this study are in bold ..... 35
- Figure 4 – (A) *Bixa orellana* leaf showing symptoms of powdery mildew on leaves caused by *Erysiphe quercicola*. (B) Scanning electron microscopy image showing conidiophores and conidia of *E. quercicola* ..... 39
- Figure 5 – Phylogenetic tree inferred by the maximum parsimony (MP) analysis of the ITS and 28S rDNA regions from species in the genus *Erysiphe*. This tree was obtained by a heuristic search. Horizontal branch lengths are proportional to the number of substitutions inferred to have occurred along a particular branch of the tree. Percentage bootstrap support values to 1000 replications

are shown on branches. The specimens obtained in this study from powdery mildew on <i>Bixa ollerana</i> are highlighted in bold .....	40
Figure 6 – <b>a</b> <i>Clitoria fairchildiana</i> with powdery mildew on leaves. <b>b</b> Powdery mildew on young leaves of <i>C. fairchildiana</i> seedlings inoculated with <i>Erysiphe quercicola</i> . <b>c</b> Conidiophores and conidia of <i>Erysiphe quercicola</i> . <b>d</b> Scanning electron micrograph of conidiophores, conidia (con) and multilobed appressoria (Ap). (Image credits: J. E. Cardoso ( <b>a-c</b> ) and C. R. Muniz ( <b>d</b> ) .....	43
Figure 7 – Phylogenetic tree inferred by the maximum parsimony (MP) analysis of the ITS and 28S rDNA regions from species in the genus <i>Erysiphe</i> and the outgroup <i>E. australiana</i> . This tree was obtained by a heuristic search. Horizontal branch lengths are proportional to the number of substitutions inferred to have occurred along a particular branch of the tree. Percentage bootstrap support values (1000 replications; >50%) are shown at internodes. Specimens obtained in this study are in boldface. Voucher codes of the specimens are in parentheses. Two specimens that do not have codes are indicated with a hyphen (-) .....	46
Figura 8 – (a-d) Sintomas de oídio em mudas de cajueiro, urucuzeiro, sombreiro e mangueira inoculadas com <i>E. quercicola</i> . (e) Microscopia eletrônica de varredura mostrando conidióforos (cf.) e conídios (con.) de <i>E. quercicola</i> . (f) Conidióforos e conídios de <i>E. quercicola</i> (barra de escala: 30 µm) .....	58
Figura 9 – Árvore filogenética inferida por máxima parcimônia (MP) de dados combinados das regiões genômicas ITS e 28S do rDNA para espécies do gênero <i>Erysiphe</i> . Os valores de bootstrap com 1000 repetições são mostrados nos nós. <i>E. australiana</i> foi usado como grupo externo. Os espécimes obtidos nesse estudo são destacadas em negrito. Três espécimes não possuem códigos e são indicados por (-) .....	59

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diversidade de <i>Erysiphe</i> spp. relatadas causando oídio em plantas no Brasil ...	22
Table 2 – Fungal specimens used for morphological studies, with herbarium accession numbers, infected organs of cashew plants and geographic origin .....	27
Table 3 – Species of <i>Erysiphe</i> , vouchers, plant hosts, countries of origin, and GenBank database accession numbers of the sequences used in this study .....	30
Table 4 – Conidial measurements of powdery mildew specimens from cashew .....	31
Tabela 5 – Species of <i>Erysiphe</i> , voucher, plant hosts, country of origin, and GenBank accessions used in this study .....	45
Tabela 6 – Espécimes de <i>Erysiphe quercicola</i> usados neste estudo, número de acesso do herbário, órgãos afetados, planta hospedeira, local de coleta e número de acesso no GenBank .....	52
Tabela 7 – Espécies de <i>Erysiphe</i> , número dos espécimes, planta hospedeira, país de origem, e número de acesso GenBank das sequências usadas no estudo filogenético .....	55
Tabela 8 – Características morfológicas dos espécimes de oídio coletados em plantas tropicais no ecossistema do oídio do cajueiro .....	57
Tabela 9 – Inoculações cruzadas entre hospedeiros alternativos de <i>Erysiphe quercicola</i> no ecossistema oídio do cajueiro .....	60

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL .....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	15
2.1	Aspectos socioeconômicos do cajueiro .....	15
2.2	Principais doenças do cajueiro .....	17
2.3	Importância econômica do oídio do cajueiro .....	18
2.4	Etiologia do oídio do cajueiro .....	19
2.5	Diversidade de <i>Erysiphe</i> spp. em plantas tropicais no Brasil .....	20
3	CAPÍTULO I: MORPHOLOGICAL, MOLECULAR PHYLOGENETIC AND PATHOGENIC ANALYSES OF <i>Erysiphe</i> spp. CAUSING POWDERY MILDEW ON CASHEW PLANTS IN BRAZIL .....	24
4	CAPÍTULO II: NOVOS RELATOS DE OCORRÊNCIA DE <i>Erysiphe quercicola</i> CAUSANDO OÍDIOS NO BRASIL .....	37
4.1	Artigo I: First report of <i>Erysiphe quercicola</i> causing powdery mildew in <i>Bixa orellana</i> L. in Brazil .....	37
4.2	Artigo II: <i>Clitoria fairchildiana</i> , new host of anamorphic <i>Erysiphe quercicola</i> in Brazil .....	41
5	CAPÍTULO III: HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS DE <i>Erysiphe quercicola</i> NO ECOSSISTEMA DO CAJUEIRO .....	48
6	CONCLUSÕES FINAIS .....	62
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	63
	REFERÊNCIAS .....	64

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma frutífera tropical de importância econômica e social para a região Nordeste, atribuída aos diversos produtos que podem ser explorados comercialmente a partir da castanha, do pedúnculo e da madeira. Entre as doenças com maior potencial de dano, destaca-se o oídio do cajueiro que, apesar de ter sido considerada uma doença sem importância econômica de relato muito antigo, é, atualmente, a principal doença associada a esta planta no Brasil (CARDOSO *et al.*, 2014; CARDOSO *et al.*, 2017).

O primeiro relato de ocorrência do oídio em cajueiro foi originalmente descrito no estado de São Paulo, por Noack (1898), quando nomeou o seu agente causal como *Oidium anacardii* Noack, com base apenas em caracteres morfológicos anamórficos e no hospedeiro original. Uma publicação recente sobre a taxonomia dos agentes etiológicos dos oídios trouxe uma nova nomenclatura para a espécie morfológica *O. anacardii*, passando para *Pseudoidium anacardii* (Noack) U. Braun & R.T.A. Cook, comb. nov. (forma anamórfica de *Erysiphe quercicola* S. Takam. & U. Braun) (BRAUN; COOK, 2012).

Apesar de ter sido descrito pela primeira vez no Brasil, o oídio se tornou a principal doença do cajueiro em alguns países da África em meados do século XX (CASULLI, 1979; MARTIN *et al.*, 1997). No entanto, havia características epidêmicas bastante diferentes daquelas descritas no continente africano em comparação com o oídio descrito no Brasil, como a idade dos tecidos infectados, danos à produtividade e agressividade. Nos últimos anos, no Nordeste do Brasil, os sintomas originalmente descritos por Noack (1898) que se limitavam às folhas maduras e de ocorrência endêmica, passaram a ocorrer também de forma semelhante aos sintomas do oídio descrito no continente africano, com a predominância dos sintomas em folhas e brotações novas, inflorescências e maturis (CARDOSO *et al.*, 2014).

Novos estudos têm trazido esclarecimentos das causas dessa doença. Um trabalho recente baseado na caracterização morfológica, molecular e patogênica relatou pela primeira vez a ocorrência de *E. quercicola* causando oídio em cajueiro no Brasil (CARDOSO *et al.*, 2017), embora já tenha sido relatada como a causa de epidemias verificadas na Tanzânia (LIMKAISANG *et al.*, 2006). No entanto, observações morfológicas preliminares revelaram consistentemente diferenças na forma e no tamanho dos conídios entre o oídio originalmente descrito (NOACK, 1898) e o novo oídio encontrado na África e recentemente no Brasil, que afeta os demais órgãos (HONORATO *et al.*, 2016).

Após observações de campo e de laboratório, ficou claro que as características dos sintomas, epidemia e morfologia diferem entre os dois oídios verificados em cajueiro. Uma

identificação precisa dos dois tipos de fungos tornou-se essencial para elucidar as diferenças taxonômicas entre eles. Além disso, observações macroscópicas dos sintomas e sinais de oídios em áreas onde o cajueiro é cultivado evidenciam a questão de diferentes hospedeiros do fungo. Esse fator ecológico de suma importância à sobrevivência do fungo, representa um sério problema ao manejo dessa doença. A identificação de possíveis hospedeiros alternativos do fungo para a ocorrência do oídio do cajueiro contribui como mais uma estratégia para ser inserida no manejo integrado da doença.

Portanto, os objetivos desse trabalho foram (i) comparar os agentes causais dos diferentes sintomas do oídio que ocorrem no cajueiro no Brasil, para determinar suas relações patógeno-hospedeiro, suas características morfológicas e suas relações filogenéticas; e, (ii) comparar os fungos associados ao oídio que ocorrem em plantas tropicais nos ecossistemas onde o cajueiro é cultivado, visando conhecer suas relações com o cajueiro e a possível participação de hospedeiros alternativos nas epidemias da doença.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Aspectos socioeconômicos do cajueiro**

O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é uma frutífera tropical pertencente à família Anacardiaceae, que embora esteja dispersa em quase todas as regiões tropicais do mundo, é provavelmente, uma espécie nativa do Brasil (CARDOSO; VIANA, 2011; VIANA *et al.*, 2016). A planta pode ser encontrada em todo o território nacional, tendo o litoral da região Nordeste como o maior centro de dispersão, concentrando-se, principalmente, nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (CRISÓSTOMO *et al.*, 2003; VIANA *et al.*, 2016). A cultura se destaca como uma das mais exploradas comercialmente, ocupando, em 2017, em torno de 31,3% do total de área com fruticultura no Nordeste (BRAINER, 2018; IBGE, 2018). Nessa região, a cadeia produtiva do caju possui extrema importância econômica e social, sendo responsável por gerar empregos distribuídos nas atividades agrícola, industrial e de serviços (IBGE, 2013; MOREIRA *et al.*, 2013; ABF, 2017).

A cultura do cajueiro, por ser adaptada às condições edafoclimáticas de regiões tropicais e, sua maior parte da produção ser composta por pequenos produtores, contribui para a permanência de mão-de-obra no campo e gera renda num período de entressafra da maioria das outras culturas da região (IBGE, 2013; ABF, 2017). Sua importância econômica é atribuída aos dois principais produtos: a castanha (fruto verdadeiro) e o pedúnculo (pseudofruto)

(CRISÓSTOMO *et al.*, 2001). A agroindústria da castanha de caju, voltada principalmente para a exportação, tem como principais produtos: a amêndoa da castanha de caju (ACC), destinada para a alimentação, e o líquido da casca da castanha (LCC), usado para revestimentos, plastificantes para borracha, isolantes elétricos, reveladores fotográficos, tintas, esmaltes, vernizes, abrasivos e antioxidantes. Enquanto que, na agroindústria do pedúnculo, voltada principalmente para o mercado interno, a maior parte é utilizada no consumo *in natura* ou na produção de sucos, cajuína, doces, geléias, rapadura, ração animal, entre outros (FIGUEIREDO JUNIOR, 2006; VIDAL, 2016).

A crescente evolução na produtividade do cajueiro no Brasil foi observada após o lançamento de clones do tipo anão, disponibilizando plantas com características cada vez mais favoráveis ao cultivo, como porte baixo, precocidade, uniformidade da castanha e maior rendimento tanto em amêndoa como em pedúnculo (CAVALCANTI *et al.*, 1999; CAVALCANTI *et al.*, 2000). Os principais clones de cajueiro anão cultivados no Brasil são: CCP 06, CCP 09, CCP 76, CCP 1001, Embrapa 50, Embrapa 51, BRS 226, BRS 265 e BRS 189 (SERRANO *et al.*, 2013). Além desses, os clones BRS 253, BRS 274, BRS 275, FAGA 1 e FAGA 11 também estão presentes nas áreas produtoras (CAVALCANTI; BARROS, 2015).

De acordo com levantamento da FAO (2018a), Vietnã, Nigéria, Índia e Costa do Marfim foram os maiores produtores mundiais de castanha de caju em 2016, com 70,6% da produção global do produto. O Brasil era o quinto maior produtor mundial de castanha de caju em 2011, e, mais recentemente, passou a ocupar a décima quarta posição, com apenas 1,5% do volume total de castanha produzido no mundo (BRAINER, 2018; FAO, 2018a). Em relação a ACC, os Estados Unidos, Países Baixos e Alemanha são os maiores importadores. Para a castanha não beneficiada (com casca), os maiores importadores são a Índia e o Vietnã, que possivelmente, beneficiam e reexportam (FAO, 2018b).

No Brasil, segundo dados da Pesquisa Agrícola Municipal (IBGE, 2018), a área ocupada com cajueiro em 2017 foi calculada em 505,5 mil ha; desse total, 99,5% está localizado na região Nordeste. Os principais produtores dessa região são o Ceará, que possui a maior área plantada com cajueiro no País (61,6% da área nacional e 61,9% da área nordestina), Rio Grande do Norte e Piauí. Assim, essa região responde por quase toda a produção nacional da castanha de caju (98,8%). Em 2017, a região Nordeste produziu 132 mil toneladas, tendo o Ceará como maior produtor nacional com 60,8% da produção do País, correspondente a produção de 81 mil toneladas, seguido do Rio Grande do Norte e Piauí com produções de 20,67 e 17,1 mil toneladas, respectivamente (IBGE, 2018).



A produção de caju, sofreu nos últimos anos com uma longa estiagem, no período de 2012 a 2016, e com irregularidade de chuvas ainda em 2017, ocasionando grandes prejuízos para os cajucultores e afetando diretamente a economia do País. Como consequências das baixas produções de caju ocorridas neste período, por falta de matéria-prima, houve a paralização de diversas indústrias de beneficiamento da castanha e do pedúnculo, afetando significativamente as exportações de ACC e do LCC, bem como, na produção de sucos (ABF, 2017). Para contornar esses efeitos negativos, o Brasil, em 2016, foi o terceiro maior importador de castanha de caju com casca, uma vez que, nos últimos anos a oferta de castanha no Nordeste não foi suficiente para atender a demanda das indústrias processadoras (FAO, 2018b).

## 2.2 Principais doenças do cajueiro

Apesar de todos os aspectos socioeconômicos positivos desta cultura para o Brasil, por fatores diversos como as estiagens, baixa fertilidade dos solos, pomares em declínio natural da produção e principalmente os problemas fitossanitários, com destaque para as doenças, a produção desta “commodity” tem sofrido forte retração produtiva nos últimos 20 anos (VIANA *et al.*, 2016; VIDAL, 2017). Os problemas com doenças se agravaram ainda mais com o lançamento de clones do tipo anão, que apesar de proporcionar aumento de produtividade, a uniformidade genética dessas plantas acarretou em pomares mais vulneráveis ao ataque de patógenos (VIANA *et al.*, 2016). Além disso, o aumento das áreas de plantio tem proporcionado desequilíbrios ecológicos que contribuíram para o surgimento de inúmeros agentes patogênicos, favorecendo a ocorrência de doenças no cajueiro (CARDOSO; VIANA, 2011).

Já há vários anos, vem-se verificando alterações epidemiológicas de várias doenças fúngicas no cajueiro, ocasionando reduções na produtividade dos clones comerciais (CARDOSO *et al.*, 2005). As doenças estão entre os principais obstáculos à exploração eficiente das culturas, seja pelos danos diretos na fisiologia e na integridade física da planta ou indiretamente na interação com outros tipos de estresses. Entre as doenças do cajueiro, podemos citar a antracnose (*Colletotrichum* spp.), a resinose (*Lasiodiplodia* spp.), a podridão-preta-da-haste (*Lasiodiplodia* spp.), a podridão-de-raízes e podridão-do-colo (*Pythium splendens* Braun e *Pythium ultimum* Trow), o mofo-preto (*Pilgeriela anacardii* Arx & Muller), a mancha-angular (*Septoria anacardii* Freire), a mancha-de-xantomonas (*Xanthomonas campestris* pv. *mangiferae indicae*) e, principalmente, o oídio (*E. quercicola*), que vem atingindo níveis epidêmicos nos últimos anos no Brasil (FREIRE *et al.*, 2002; CARDOSO *et al.*, 2006;

CARDOSO *et al.*, 2013; VIANA *et al.*, 2016; CARDOSO *et al.*, 2017; COUTINHO *et al.*, 2017).

### **2.3 Importância econômica do oídio do cajueiro**

O oídio do cajueiro é a doença de relato mais antigo na cultura e foi por muito tempo considerada de importância econômica irrelevante, não apenas pela ocorrência endêmica, mas, sobretudo, pelo tipo de sintoma manifestado, apenas em folhas maduras da planta (FREIRE *et al.*, 2002). Sua ocorrência foi relatada pela primeira vez em cajueiro no estado de São Paulo, em 1898 (NOACK, 1898). O sintoma clássico da doença é a presença de um revestimento branco-acinzentado e pulverulento sobre o limbo foliar afetado, que se assemelha à cinza vegetal (NOACK, 1898; CARDOSO *et al.*, 2013). Na realidade, esses sintomas descritos são sinais provenientes da atividade ectoparasitária do fungo, constituídos por estruturas vegetativas e reprodutivas como hifas, conidióforos e conídios, cujos haustórios penetram nos tecidos para a retirada dos nutrientes necessários à sobrevivência e reprodução (CARDOSO *et al.*, 2013; VIANA *et al.*, 2016).

Apesar de ter sido descrito em cajueiro no Brasil no final do século XIX (NOACK, 1898), o oídio se tornou a principal doença do cajueiro na região oriental africana em meados do século XX (CASULLI, 1979), sendo objeto de políticas públicas de manejo por vários anos na Tanzânia, Moçambique e Maláui. O caso mais estudado foi o da Tanzânia que chegou a produzir 145 mil toneladas de castanha em 1960, em seguida, esta produção foi decrescendo até atingir a cifra de 16 mil toneladas em 1973 (MARTIN *et al.*, 1997). Nas condições epidêmicas do oídio descritas na África, os sintomas diferiam daqueles na descrição original (NOACK, 1898), pela predominância de ataque nos tecidos juvenis, inflorescências, pedúnculos e frutos, causando abortamento de flores, deformações, rachaduras e varíolas nos pedúnculos e frutos (CASULLI, 1979; SIJAONA, 1997).

Nos últimos anos, no Brasil, os sintomas do oídio que se limitavam apenas às folhas maduras do cajueiro, passaram também a ocorrer de forma semelhante aos sintomas típicos do oídio descrito no continente africano (CARDOSO *et al.*, 2012). A ocorrência destes sintomas atípicos em alguns cajueiros vinha sendo constatada desde o ano 2006 no município de Pio IX, Piauí, passando a ocorrer de forma mais comum e mais severa a partir de 2009 nos estados do Piauí, Ceará e outras regiões produtoras do Nordeste (CARDOSO *et al.*, 2013). Atualmente, essas novas formas de manifestação da doença têm ocorrência generalizada em todas as regiões produtoras do Nordeste brasileiro, causando sintomas em folhas e brotações novas,

inflorescências, maturis, frutos maduros e pedúnculos (CARDOSO *et al.*, 2012; CARDOSO *et al.*, 2013; CARDOSO *et al.*, 2014; VIANA *et al.*, 2016; CARDOSO *et al.*, 2017). A doença pode causar ainda o abortamento de flores, deformações, rachaduras e acentuada variação no pedúnculo. Esses sintomas são observados em quase todos os clones comerciais, reduzindo o valor no mercado de mesa (*in natura*), importante nicho de mercado do agronegócio do caju (CARDOSO *et al.*, 2013; VIANA *et al.*, 2016). Estes sintomas ocorrem com diferentes níveis de severidade nos clones de cajueiro. Estudos realizados em condições de inoculação natural verificaram maior severidade do oídio nos clones BRS 189 e CCP 06 e menor severidade nos clones BRS 274, BRS 275, CCP 1001 e BRS 226 (PINTO *et al.*, 2018).

Os danos causados pelo oídio na produção do cajueiro, atualmente, são muito mais preocupantes, uma vez que tanto o pedúnculo quanto a castanha, principais produtos comercializados, são severamente afetados. No entanto, não há estudos conclusivos sobre o efeito dos danos causados pela doença. Há registros de perdas na produção de castanha causada pelo oídio, na Tanzânia, por Martin *et al.* (1997), que dão conto de reduções de 50% a 70% da produção pelo ataque severo da doença. No Brasil, algumas áreas, como na região sudeste do Piauí e no litoral do Ceará, têm verificado perdas de até 100% em alguns pomares (VIANA *et al.*, 2016).

## 2.4 Etiologia do oídio do cajueiro

Em 1898, por ocasião do primeiro relato de ocorrência do oídio (NOACK, 1898), o seu agente causal foi designado como o fungo *Oidium anacardii* (F. Noack). Sua descrição foi feita com base em caracteres morfológicos e no hospedeiro. Nenhum registro de depósito de espécimes em herbários oficiais e internacionais foi feito, ficando sua descrição, puramente na referência bibliográfica. Com isso, essa descrição foi muito superficial, sendo, portanto, muito inconsistente, considerando os padrões taxonômicos estabelecidos pelo Código de Nomenclatura para Algas, Fungos e Plantas.

No entanto, novas e modernas ferramentas, como o sequenciamento das regiões ITS e 28S do DNA ribossômico (rDNA), foram desenvolvidas para auxiliar na taxonomia das espécies de fungos agentes causais de oídios (TAKAMATSU *et al.*, 1998; MORI *et al.*, 2000; LACAP *et al.*, 2003; PROMPUTTHA *et al.*, 2005; LIMKAISANG *et al.*, 2006; TAKAMATSU, 2013; TAKAMATSU *et al.*, 2015). Consequentemente, a nomenclatura taxonômica dos oídios foi totalmente revisada (BRAUN; COOK, 2012) incluindo análises filogenéticas, morfologia dos conídios (observados através de microscopia eletrônica),

germinação dos conídios, fósseis e classificação holomórfica. Essa revisão trouxe uma nova nomenclatura para a espécie *O. anacardii* descrita por Noack (1898), agora designada como *Pseudoidium anacardii* (F. Noack) U. Braun & R. T. A. Cook comb. nov., cuja fase sexual ascógena foi identificada como *Erysiphe quercicola* S. Takam. & U. Braun (BRAUN; COOK, 2012).

Até recentemente, o fungo antes conhecido como *O. anacardii* relatado no Brasil afetando apenas folhas maduras da planta foi reclassificado como *P. anacardii* a partir de material coletado na África. Porém, nessa região, o fungo causa danos nos demais órgãos da planta (*i. e.* folhas e brotações novas, inflorescências, maturis, frutos maduros e pedúnculos) (BRAUN; COOK, 2012). No entanto, nos últimos anos, no Brasil, tem-se observado a ocorrência de sintomas típicos do oídio descrito no continente africano (CARDOSO *et al.*, 2013), sem, contudo, desaparecerem os sintomas originais (NOACK, 1898), fato que levanta a possibilidade de diferenças genéticas e patogênicas no agente etiológico da doença. Evidentemente, algumas questões fundamentais teóricas e práticas referentes à filogenia molecular e patogenicidade desse grupo de patógenos precisam ser respondidas a partir de investigações locais, usando métodos modernos de pesquisa (CARDOSO *et al.*, 2017).

Os primeiros estudos visando compreender a causa da variação sintomatológica no oídio do cajueiro no Brasil foram desenvolvidos a partir de 2014, os quais, avaliando características morfológicas dos conídios, revelaram diferenças na forma e tamanho entre o oídio original descrito por Noack (1898) (*i. e.* exclusivo das folhas) e a nova forma que afeta os demais órgãos, descrito no continente africano e, mais recentemente, no Brasil (HONORATO *et al.*, 2016). Além disso, um estudo taxonômico com base em características morfológicas e análise de dados de sequência de DNA, incluindo as regiões ITS e 28S do rDNA parcial de um espécime fúngico de tecido jovem, resultou no primeiro relato de *E. quercicola* como agente causal do oídio do cajueiro no Brasil (CARDOSO *et al.*, 2017), embora já tenha sido relatado na Tanzânia (LIMKAISANG *et al.*, 2006) sob o nome anamórfico de *P. anacardii*, que atualmente é atribuído a *E. quercicola* (BRAUN; COOK, 2012). Contudo, novos estudos ainda são necessários para trazer esclarecimentos sobre as diferenças genéticas, morfológicas e patogênicas dos agentes causais dessa doença no cajueiro.

## **2.5 Diversidade de *Erysiphe* spp. em plantas tropicais no Brasil**

As doenças conhecidas por oídio estão entre as mais importantes no mundo e representam um largo grupo de fungos fitopatogênicos pertencentes à família Erysiphaceae

(Ascomycota; Erysiphales), os quais são exclusivamente biotróficos e de distribuição cosmopolita (TAKAMATSU, 2013; TAKAMATSU *et al.*, 2015b). Esse grupo de fungos infectam folhas, caules, flores e frutos de cerca de 10.000 espécies de angiospermas, causando danos à produção, à longevidade produtiva das plantas e à qualidade do produto final (AMANO, 1986).

As plantas hospedeiras de oídios estão distribuídas, principalmente, em regiões temperadas, embora estes fungos também infectem diferentes espécies de plantas em regiões tropicais ou subtropicais, incluindo plantas cultivadas economicamente importantes, tais como *A. occidentale* L. (cajuero), *Mangifera indica* L. (mangueira), *Bixa orellana* L. (urucuzeiro), *Citrus* spp. (laranjeira e limoeiro), *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell.-Arg. (seringueira), e, *Acacia* spp. (LIMKAISANG *et al.*, 2006). Embora alguns dos agentes etiológicos do oídio nestas plantas hospedeiras tenham sido descritos como espécies de *Oidium* (como *O. anacardii* F. Noack, *O. mangiferae* Berthet, *O. bixae* Viégas, *O. citri* (J. M. Yen) U. Braun, *O. heveae* Steinmann e *Oidium* sp.) com descrições de caracteres morfológicos anamórficos, as identificações foram baseadas principalmente em suas plantas hospedeiras e as descrições morfológicas não são adequadas para delimitar de forma distinta as espécies (BERECZKY; COLS, 2015; KISS *et al.*, 2006). Além disso, estudos morfológicos e moleculares realizados por Limkaisang *et al.* (2006) indicaram que essas espécies de *Oidium* que causam oídio em plantas tropicais possuem sequências ITS do rDNA idênticas ou muito semelhantes às de *Erysiphe* sp. em *Quercus phillyreoides* de clima temperado, tendo sido posteriormente reclassificadas como formas assexuais de *E. quercicola* S. Takam. & U. Braun por Takamatsu *et al.* (2007).

O gênero *Erysiphe* é o mais diversificado na família Erysiphaceae, que contém mais de 50% de todas as espécies da ordem Erysiphales (450 das 873 espécies), incluindo espécies de *Erysiphe* anamórficas (BRAUN; COOK, 2012) e representa um grupo de fungos que produz apenas um conídio por dia (tipo *Pseudoidium*) com uma natureza ectoparasitária, formando um clado monofilético distinto que compõe a tribo Erysipheae (TAKAMATSU, 2013). As espécies desta tribo são divididas em três grandes grupos morfológicos: a seção *Erysiphe* com casmotécio possuindo vários ascos com apêndices micelóides; seção *Microsphaera* com apêndices com vértices dicotomicamente ramificados; e seção *Uncinula* com apêndices com vértices uncinados, circinados ou helicoidais (BRAUN; COOK, 2012). Apesar de *Erysiphe* ser o gênero mais diversificado da ordem Erysiphales, há poucos relatos de sua ocorrência causando oídio em plantas tropicais no Brasil. Entre as espécies de *Erysiphe* identificadas no Brasil com base em estudos morfológicos e moleculares, incluem: *E. australiana* em

*Lagerstroemia speciosa* (FONSECA *et al.*, 2016), *E. difusa* em *Carica papaya* (BRAUN *et al.*, 2017), *E. heraclei* em *Daucus carota* (BOITEUX *et al.*, 2017), *E. necator* em *Caryocar brasiliense* (BRAUN *et al.*, 2017), *E. platani* em *Platanus × acerifolia* (OLIVEIRA *et al.*, 2015) e *E. quercicola* em *A. occidentale*, *Delonix regia*, *Hevea brasiliensis*, *Quercus robur* e *Cinnamomum camphora* (CARDOSO *et al.*, 2017; DALLAGNOL *et al.*, 2012; TAKAMATSU *et al.*, 2015a; PIVETA *et al.*, 2018; DORNELES *et al.*, 2018), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Diversidade de *Erysiphe* spp. relatadas causando oídio em plantas no Brasil

Espécies	Hospedeiro	Origem <sup>(E)</sup> (Estado)	No. acesso GenBank		Referências <sup>(R)</sup>
			ITS	28S	
<i>E. australiana</i>	<i>Lagerstroemia speciosa</i>	MG	KT941419	KT941421	1
<i>E. difusa</i>	<i>Carica papaya</i>	MG	MF616622	-	2
<i>E. heraclei</i>	<i>Daucus carota</i>	DF	KY513703	-	3
<i>E. necator</i>	<i>Caryocar brasiliense</i>	DF	LC228609	-	2
<i>E. platani</i>	<i>Platanus × acerifolia</i>	RS	KF499270	-	4
<i>E. quercicola</i>	<i>Anacardium occidentale</i>	CE	KY172852	-	5
<i>E. quercicola</i>	<i>Delonix regia</i>	SP	JQ034229	-	6
<i>E. quercicola</i>	<i>Hevea brasiliensis</i>	SP	AB193607	AB197134	7
<i>E. quercicola</i>	<i>Quercus robur</i>	PR	KT714236	-	8
<i>E. quercicola</i>	<i>Cinnamomum camphora</i>	RS	MF183968	-	9

Fonte: elaborada pelo autor.

Dados ausentes = -. (E) Estados brasileiros: CE – Ceará; DF – Distrito Federal; MG – Minas Gerais; PR – Paraná; RS – Rio Grande do Sul; SP – São Paulo. R: 1 - Fonseca *et al.* (2016); 2 - Braun *et al.* (2017); 3 - Boiteux *et al.* (2017); 4 - Oliveira *et al.* (2015); 5 - Cardoso *et al.* (2017); 6 - Dallagnol *et al.* (2012); 7 - Takamatsu *et al.* (2015a); 8 - Piveta *et al.* (2018); 9 - Dorneles *et al.* (2018).

Percebeu-se que entre as espécies de maior ocorrência no Brasil, *E. quercicola* é a mais frequente por causar oídios em cinco diferentes espécies de plantas (Tabela 1), inclusive no cajueiro (CARDOSO *et al.*, 2017). Estudos realizados envolvendo análises moleculares e inoculações cruzadas identificaram *E. quercicola* com uma gama de hospedeiros, além do nível da família de plantas (KIRSCHNER; LIU, 2014; MEEBOON; TAKAMATSU, 2015; SIAHAAN *et al.*, 2016). A faixa hospedeira de *E. quercicola* abrange hospedeiros pertencentes às famílias Anacardiaceae, Bixaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lauraceae e Rutaceae

(LIMKAISANG *et al.*, 2006; TAKAMATSU *et al.*, 2007; KIRSCHNER; LIU 2014; BAISWAR *et al.*, 2015). Esses resultados confirmam o recente desafio da taxonomia convencional, baseada na suposta especificidade de hospedeiro restrita no nível de família da planta hospedeira (LIBERATO; CUNNINGTON, 2006; TAKAMATSU *et al.*, 2007; KIRSCHNER, 2010).

Apesar da biodiversidade de *Erysiphe* spp. já descrita no mundo, no Brasil, estudos de caracterização morfológica, molecular e patogênica podem ser úteis para investigar as relações filogenéticas dentro deste grupo de fungos associados ao oídio do cajueiro e outros hospedeiros tropicais. Embora a espécie *P. anacardii* (fungo agente causal do oídio do cajueiro, que atualmente é nomeado como *E. quercicola*) tenha sido relatada como sinonímia de *O. anacardii* F. Noack em cajueiro (*A. occidentale* L., Anacardiaceae), *O. mangiferae* Berthet em mangueira (*M. indica* L., Anacardiaceae) e *O. bixae* Viégas em *B. orellana* L. (Bixaceae) (BRAUN; COOK, 2012), acredita-se que não se trata de *O. anacardii* descrito originariamente em cajueiro (NOACK, 1898). Esta controvérsia carece de elucidação baseada em estudos específicos envolvendo os hospedeiros, uma vez que existe grande semelhança entre os oídios associados a essas e outras espécies tropicais (LIMKAISANG *et al.*, 2006). Por outro lado, *O. mangiferae* Berthet (BERTHET, 1914), embora tenha sido relatada como a causa (identificada com base em morfologia) do oídio em *M. indica*, por exemplo, já foram identificadas, através de estudos morfológicos e moleculares, as espécies *E. quercicola* e *E. alphitoides* (duas espécies que compartilham apenas pequenas diferenças morfológicas) causando oídio em mangueiras na Espanha, sugerindo que estudos morfológicos não apresentam consistência taxonômica (DESPREZ-LOUSTAU *et al.*, 2017).

Portanto, torna-se necessária a realização de pesquisas com o objetivo de estudar a diversidade de espécies do gênero *Erysiphe* que ocorrem em plantas tropicais na região Nordeste do Brasil, visando elucidar suas relações com as plantas hospedeiras e com as possíveis causas das epidemias verificadas em cajueiro, bem como, dirimir dúvidas que possam existir a respeito da correta identificação das espécies ocorrentes nesta região.

### 3 CAPÍTULO I: MORPHOLOGICAL, MOLECULAR PHYLOGENETIC AND PATHOGENIC ANALYSES OF *Erysiphe* spp. CAUSING POWDERY MILDEW ON CASHEW PLANTS IN BRAZIL

Artigo publicado na revista *Plant Pathology*<sup>1</sup>, v. 68, p. 1157–1164, 2019.

(<https://doi.org/doi:10.1111/ppa.13032>).

W. L. Fonseca<sup>1</sup>, J. E. Cardoso<sup>2\*</sup>, M. A. Ootani<sup>3</sup>, S. O. S. Brasil<sup>1</sup>, F. S. Assunção<sup>2</sup>, C. S. Lima<sup>1</sup>, F. M. P. Viana<sup>2</sup>, C. R. Muniz<sup>2</sup>, I. L. Andrade<sup>1</sup> and M. V. V. Martins<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, CEP 60356-001, Fortaleza, CE, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Agroindústria Tropical, Caixa Postal 3761, CEP 6060511-110, Fortaleza, CE, Brazil.

<sup>3</sup>Laboratório de Bioprocessos, CETENE Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste, Recife, PE, Brazil.

\* Corresponding author: José Emilson Cardoso ([jose-emilson.cardoso@embrapa.br](mailto:jose-emilson.cardoso@embrapa.br))

#### ABSTRACT

Cashew powdery mildew is presently the most important disease of cashew trees in all Brazilian growing regions. Although it was described over a century ago, it had never threatened Brazilian cashew industry until early in the twenty-first century. Morphological and pathogenic evidence indicated the possibility of different pathogen species being involved in early and late types of cashew powdery mildew. This study was designed to elucidate this issue by comparing two different powdery mildew fungi occurring on cashew plants in Brazil according to the morphological characteristics, phylogenetic relationships with closely related powdery mildew fungi and pathogenic relationships. Based on morphology, molecular phylogenetic and the pathogenicity on cashew, it was showed that two species of powdery mildew specimens are without question associated with cashew trees. One species, which infects young immature tissues such as shiny leaves, flowers and young fruits, is *Erysiphe quercicola*, while *Erysiphe necator* is associated exclusively with mature leaves. This is the first report of *E. quercicola*

---

<sup>1</sup> Revista Plant Pathology (Fator de impacto: 2,493. Qualis CAPES: A1).



and *E. necator* causing cashew powdery mildew, and the first detection of *E. necator* on cashew.

**Keywords:** 28S rDNA. *Anacardium occidentale*. *Erysiphe necator*. *Erysiphe quercicola*. internal transcribed spacer sequences

## Introduction

The powdery mildews are among the most important plant diseases around the world and represent a large group of biotrophic Ascomycetes plant pathogens of worldwide distribution that causes serious damage to plants of economic interest. The powdery mildew fungi have been considered host-specific fungi for a very long time. The original description of certain species refers solely to morphological features and their taxonomy is closely associated with the original host name. The sexual morph in the tropics is usually absent, which increases confusion. The first references to this group of diseases are from past centuries; consequently, their taxonomy became unclear with the advent of techniques using molecular and phylogenetic systematics. It has been found from molecular genetic studies that the original descriptions based on morphological characters do sometimes not have taxonomic consistency, since molecular analyses reveal that cryptic species are genetically different from their close relatives, even when not distinguishable on the basis of morphology (BERECZKY *et al.*, 2015; KISS *et al.*, 2006). Therefore, molecular analyses supported by sequencing specific genome regions dramatically changed the classification of this group (BRAUN; COOK, 2012). On the other hand, cross inoculation studies together with molecular analyses promptly identified polyphagous species, such as *Erysiphe quercicola*, which exhibits a wide host range beyond the plant family level (KIRSCHNER; LIU, 2014; MEEBOON; TAKAMATSU, 2015; SIAHAAN *et al.*, 2016).

In cashew plants (*Anacardium occidentale* L.), powdery mildew was first described in the State of São Paulo in 1898 as *Oidium anacardii* Noack (NOACK, 1898). Later, in 1924, the disease was described in mango (*Mangifera indica* L) and named *Oidium mangiferae* Berthet. Since this time, it has been considered a minor disease in Brazil, because symptoms were limited to mature leaves under specific environmental conditions (FREIRE *et al.*, 2002). Braun and Cook (2012) introduced the new combination *Pseudoidium anacardii* for the asexual morph of *Erysiphe quercicola* and reduced *Oidium mangiferae* and additional *Oidium* species to synonymy with *O. anacardii*. The anamorph-typified name *O. anacardii* is older than the

teleomorph-typified name *E. quercicola*, but Braun (2013) proposed to conserve the latter name over *O. anacardii*. According to the new rules of the Code (ICN) and the new "one fungus, one name" principle, *O. anacardii* is now a heterotypic synonym of *E. quercicola*.

Cashew cultivation increased markedly on the east coast of Africa in the middle of the last century, where powdery mildew became its main disease (CASULLI, 1979; CASTELLANI; CASULLI, 1981; INTINI, 1987). However, there were quite different epidemic characteristics from those described in African continent as compared with powdery mildew described in Brazil, such as the age of infected tissues, yield damage and aggressiveness. In the early twenty-first century, a new cashew powdery mildew was detected in Brazil. In 2010 and 2011, this disease reached an epidemic proportion affecting inflorescences, fruits and leaves of cashew orchards located in coastal and highland areas of the Ceará and Piauí states, which accounted for more than seventy percent of cashew nut growing areas in Brazil (CARDOSO *et al.*, 2014, 2017). A question that has puzzled researchers for long time is why a minor disease suddenly increased in virulence in Brazil. After field and laboratory observations, it became clear that symptoms, epidemic and morphology characteristics differ between both powdery mildews. An accurate identification of both types of powdery mildew fungi became essential to elucidate the taxonomic differences between them.

Therefore, the objectives of this research were to compare the two different powdery mildew fungi occurring on cashew plants in Brazil to determine (i) their host-pathogen relationships, (ii) their morphology characteristic of anamorphs and (iii) their phylogenetic relationships with closely related powdery mildew fungi.

## **Materials and methods**

### ***Sample sources***

Field surveys in three states of the northeast region of Brazil were done to collect samples from cashew powdery mildew specimens characteristic of either mature leaves or young tissues (leaves, shoots, flowers and young fruits), separately. Twelve samples were gathered from Parnamirin in Rio Grande do Norte state, São José do Piauí, Paturi in Piauí state and Barreira, Fortaleza, Pacajus, Parambu, Itaitinga in Ceará state (Table 2). All samples were prepared for herbarium storage, stored in the Plant Pathology Laboratory of Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, Ceará state and later used for morphological analyses.

### ***Morphological study***

Conidiophores and conidial samples were scraped from infected tissues and mounted in 40% lactophenol in cotton blue (200 mL L<sup>-1</sup> fused phenol, 200 mL L<sup>-1</sup> lactic acid, 400 mL L<sup>-1</sup> white glycerine, 0.5 g L<sup>-1</sup> cotton blue and 200 mL L<sup>-1</sup> pure water) for morphological studies under light microscopy with phase contrast 10x, 20x and 40x objectives. The Motic Images Plus 2.0 program was used for measurements from images taken by a photographic camera (Moticam 1000 1.3 megapixel USB 2.0) coupled with the microscope. Fifty conidiophores and conidia were measured per sample. Observations consisted of sizes and shapes of conidia, presence or absence of fibrosin bodies, nature of conidiogenesis, characteristics of conidiophores, conidial germ tubes and shapes of appressoria. Dried herbarium samples were deposited at the Plant Pathology Laboratory of Embrapa. The specimens were grouped based on the shape and size of the conidia as well as DNA sequencing studies.

Table 2 - Fungal specimens used for morphological studies, with herbarium accession numbers, infected organs of cashew plants and geographic origin

<b>Herbarium accession no.</b>	<b>Infected organ</b>	<b>Origin (municipality and state)</b>	<b>Species</b>	<b>GenBank accession numbers (ITS/28S)</b>
OID04	Young leaf	Parnamirim – RN	<i>E. quercicola</i>	KY312006/MK240384
OID14	Flower/fruit	Barreira – CE	<i>E. quercicola</i>	MK240378/MK240385
OID69	Young leaf	São José do Piauí – PI	<i>E. quercicola</i>	MK240379/MK240386
OID101	Flower	Fortaleza – CE	<i>E. quercicola</i>	KY312007/KY692191
OID104	Young leaf	Pacajus – CE	<i>E. quercicola</i>	KY172852/KY692192
OID105	Mature leaf	Fortaleza – CE	<i>E. necator</i>	KY312008/KY692193
OID118	Mature leaf	Parambu – CE	<i>E. necator</i>	KY690170/KY692194
OID119	Mature leaf	Pacajus – CE	<i>E. necator</i>	KY690171/KY692195
OID138	Flower	Pacajus – CE	<i>E. quercicola</i>	MK240380/MK240387
OID148	Flower	São João da Varjota – PI	<i>E. quercicola</i>	MK240381/MK240388
OID150	Young leaf	Paturi – PI	<i>E. quercicola</i>	MK240382/MK240389
OID158	Mature leaf	Itaitinga – CE	<i>E. necator</i>	MK240383/MK240390

Source: prepared by the author.

Brazilian States: RN – Rio Grande do Norte, PI – Piauí and CE – Ceará.

### ***Extraction, PCR amplification and sequencing of DNA***

Genomic DNA from all specimens was extracted from fresh conidia collected with sterile brushes from infected tissues, using a Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen®, <https://www.qiagen.com.br>), according to the manufacturer's instructions. Total DNA extracted was quantified by a NanoDrop® 2000c Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific). The samples were diluted to 10 ng DNA  $\mu\text{L}^{-1}$  and stored at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  for later use.

The rDNA internal transcribed spacer region (ITS), including ITS1-5.8S-ITS2, was amplified using ITS1F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') (WHITE *et al.*, 1990) and P3R (5'-GCCGCTTCACTCGCCGTTAC-3') primers (KUSABA; TSUGE, 1995). For amplification of the 28S rDNA region (including domains D1 and D2), primers PM3 (5'-GKGCTYTMCGCGTAGT-3') (TAKAMATSU; KANO, 2001) and TW14 (5'-GCTATCCTGAGGGAACTTC-3') (MORI *et al.*, 2000) were used. The PCR mixtures (50  $\mu\text{L}$ ) contained 6.25  $\mu\text{L}$  of genomic DNA (10 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ ), 10  $\mu\text{L}$  of buffer 5x, 1  $\mu\text{L}$  of dNTP (10 mM), 2  $\mu\text{L}$  of  $\text{MgCl}_2$  (25 mM), 0.8  $\mu\text{L}$  of each primer (10 mM, forward and reverse primers synthesized by Invitrogen), 0.5  $\mu\text{L}$  of Taq Flexi DNA (5 U  $\mu\text{L}^{-1}$ ) by Promega, and 28.65  $\mu\text{L}$  of sterile deionized water. The thermocycler program consisted of initial denaturing at  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 2 min, followed by 35 cycles of  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ , denaturing for 60 s,  $52\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 28 s and  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  for ITS annealing for 60 s, and elongation for  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , with a final extension at  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 10 min (MORI *et al.*, 2000). The PCR products were separated by electrophoresis in 1.5% agarose gels in Tris-acetate acid EDTA 1X (TAE) buffer, stained with ethidium bromide (0.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) for 1 min and visualized under a UV transilluminator. After verification of the amplified bands, 40  $\mu\text{L}$  aliquots of each PCR product was purified and sequenced in both forward and reverse directions at Macrogen Inc. Korea (<http://www.macrogen.com>).

### ***Phylogenetic analyses***

Nucleotide sequences of ITS and 28S regions were edited using Bio Edit 7.0.5 version software (HALL, 2012) and manually aligned using ClustalW as of *Erysiphe* genus sequences from GenBank (Table 3). The phylogenetic relationships were inferred by the maximum parsimony (MP) analyses and were carried out using an option of heuristic search by tree-bisection-reconnection (TBR) in the MEGA 7 program (KUMAR *et al.*, 2016). The statistical validity of the tree was tested using bootstrap analysis with 1,000 replicates. The sequence alignment and the phylogenetic tree for the concatenated dataset were deposited in

TreeBASE ([http:// www.treebase.org/](http://www.treebase.org/)) under the accession number S23731. *Erysiphe australiana* was used as the outgroup. Tree scores, including tree length, consistency index (CI), retention index (RI) and rescaled consistency index (RC) were also calculated. All sequences obtained were deposited in GenBank (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Table 2).

### ***Pathogenicity tests***

Pathogenicity tests to each species were accomplished by inoculation onto 75-day-old cashew seedlings of susceptible clone BRS 189. Inoculation consisted of transferred conidia from infected leaves onto an adaxial surface of healthy leaves using a paintbrush. Two tests were conducted; for the first one samples of a naturally infected flushing shiny leaf (specimen OID104) and of a dull mature leaf (OID105) were collected and used to inoculate five BRS 189 clone seedlings separately to determine the pathogenicity of each specimen. The inoculum produced in the first test was used for the next one by cross inoculating between shiny and dull leaves. Again, five plants were inoculated, while keeping five uninoculated plants as control. Plants were maintained in incubated chambers under  $22 \pm 2$  °C and  $68 \pm 4$  % relative humidity. Macroscopic examinations of symptoms and signs were performed daily. Upon symptom development, samples of infected tissues were examined under an optic microscope to confirm the presence of the inoculated pathogen, thus fulfilling Koch postulates.

## **Results**

### ***Morphological study***

All specimens from different organs of the plant presented typical morphological characteristics of the *Pseudoidium* type (*Erysiphe*), according to the description of Braun and Cook (2012), with conidia formed singly at the apex of the conidiophore (non-catenescent) and an absence of chasmothecia. There were differences in the morphological characteristics (Table 4) of the specimens obtained from young tissues (Figure 1) compared to those of mature leaf specimens (Figure 2).

Table 3 - Species of *Erysiphe*, vouchers, plant hosts, countries of origin, and GenBank database accession numbers of the sequences used in this study

Specie	Specimens	Host	Origin	Accession number	
				ITS	28S
<i>E. quercicola</i>	VPRI30172 <sup>a</sup>	<i>Citrus limon</i>	Indonesia	AB237791	AB237818
<i>E. quercicola</i>	VPRI30173 <sup>a</sup>	<i>Citrus reticulata</i>	Indonesia	AB237792	AB237819
<i>E. quercicola</i>	MUMH 3210 <sup>a</sup>	<i>Citrus sinensis</i>	Malaysia	AB237793	AB237820
<i>E. quercicola</i>	MUMH 3188 <sup>a</sup>	<i>Mangifera indica</i>	Argentina	AB237794	AB237821
<i>E. quercicola</i>	MUMH 781 <sup>a</sup>	<i>Anacardium occidentale</i>	Tanzania	AB237786	AB237814
<i>E. quercicola</i>	MUMH2419 <sup>a</sup>	<i>Hevea brasiliensis</i>	Brazil	AB193607	AB197134
<i>E. quercicola</i>	MUMH3165 <sup>a</sup>	<i>Bixa orellana</i>	Argentina	AB237787	AB237815
<i>E. quercicola</i>	MUMH 124 <sup>a</sup>	<i>Quercus phillyraeoides</i>	Japan	AB193590	AB197135
<i>E. quercicola</i>	MUMH2546 <sup>a</sup>	<i>Acacia auriculiformis</i>	Malaysia	AB237803	AB237830
<i>E. quercicola</i>	VPRI20907 <sup>a</sup>	<i>Acacia mangium</i>	Australia	AB237808	AB237833
<i>E. quercicola</i>	OID104 <sup>b</sup>	<i>Anacardium occidentale</i>	Brazil	KY172852	-
<i>E. quercicola</i>	- <sup>c</sup>	<i>Quercus robur</i>	Brazil	KT714236	-
<i>E. quercicola</i>	LGM-005 <sup>d</sup>	<i>Delonix regia</i>	Brazil	JQ034229	-
<i>E. quercicola</i>	- <sup>e</sup>	<i>Cinnamomum camphora</i>	Brazil	MF183968	-
<i>E. alphitoides</i>	VPRI20379 <sup>f</sup>	<i>Mangifera indica</i>	Australia	AB237799	AB237826
<i>E. necator</i>	MUMH 530 <sup>g</sup>	<i>Vitis vinifera</i>	Japan	LC028996	LC028996
<i>E. necator</i>	MUMH s141 <sup>g</sup>	<i>Vitis coignetiae</i>	Japan	LC028995	LC028995
<i>E. necator</i>	TSU-MUMH 5733 <sup>h</sup>	<i>Caryocar brasiliense</i>	Brazil	LC228609	-
<i>E. necator</i>	MVAP06370315 <sup>h</sup>	<i>Carica papaya</i>	USA	LC228619	-
<i>E. hyperici</i>	BCRU 04186 <sup>a</sup>	<i>Hypericum perforatum</i>	Japan	LC009887	LC009886
<i>E. baliensis</i>	MUMH 5705 <sup>f</sup>	<i>Gliricidia sepium</i>	Indonesia	LC060726	LC060726
<i>E. hypogena</i>	MUMH 900 <sup>i</sup>	<i>Quercus acutissima</i>	Japan	AB292727	AB292727
<i>E. hypophylla</i>	MUMH 2405 <sup>i</sup>	<i>Quercus serrata</i>	Japan	AB292716	AB292716
<i>E. epigena</i>	MUMH 1958 <sup>i</sup>	<i>Quercus variabilis</i>	Japan	AB292719	AB292719
<i>E. sedi</i>	MUMH 2575 <sup>a</sup>	<i>Sedum aizoon</i>	Russia	LC010045	LC010045
<i>E. thaxteri</i>	MUMH 2465 <sup>a</sup>	<i>Berberis darwinii</i>	Argentina	LC010017	LC010017
<i>E. limonii</i>	MUMH 2568 <sup>a</sup>	<i>Limonium platyphyllum</i>	Ukraine	LC010039	LC010039
<i>E. australiana</i>	LPF 665 <sup>j</sup>	<i>Lagerstroemia speciosa</i>	Brazil	KT941419	KT941421

Source: prepared by the author.

References: <sup>a</sup> Takamatsu *et al.* (2015a), <sup>b</sup> Cardoso *et al.* (2017), <sup>c</sup> Piveta *et al.* (2018), <sup>d</sup> Dallagnol *et al.* (2012), <sup>e</sup> Dorneles *et al.* (2018), <sup>f</sup> Siahaan *et al.* (2016), <sup>g</sup> Takamatsu *et al.* (2015b), <sup>h</sup> Braun *et al.* (2017), <sup>i</sup> Takamatsu *et al.* (2007) and <sup>j</sup> Fonseca *et al.* (2016).

All specimens obtained from young leaves and flowers showed hyaline, septate and branched hyphae; conidiophores ranged in length from 36.1–76.3 (mean 60.3), foot cells measured from 19.2–36.6  $\mu\text{m}$  in length (mean 28.2  $\mu\text{m}$ ) and 5.9–7.7  $\mu\text{m}$  in width (mean 7.2  $\mu\text{m}$ ) (Figures 1e, f). Conidia were produced singly at the apex of the conidiophore; they were ovoid, lacked fibrosis bodies; and measured ranging from 21.2–42.1  $\mu\text{m}$  in length (mean ranges 26.5–31.0  $\mu\text{m}$ ) and from 10.1–33.9  $\mu\text{m}$  in width (mean ranges 15.4–23.3  $\mu\text{m}$ ), with a length to width ratio of 0.5– 2.6 (mean ranges 1.3–1.9) (Table 4, Figure 1f). Hyphal appressoria were lobed to multilobed (Figure 1e).

Table 4 - Conidial measurements of powdery mildew specimens from cashew

Herbarium accession no.	Species	Length range (mean)	Width range (mean)	Length:width ratio (mean)
OID04	<i>E. quercicola</i>	23.3-36.6 (31.0)	10.1-20.8 (16.4)	1.4-3.2 (1.9)
OID14	<i>E. quercicola</i>	21.2-37.3 (29.5)	11.5-20.4 (16.3)	1.4-2.6 (1.8)
OID69	<i>E. quercicola</i>	22.4-42.2 (28.9)	10.9-22.2 (16.2)	1.3-2.5 (1.8)
OID101	<i>E. quercicola</i>	22.4-34.1 (27.6)	10.9-19.1 (15.4)	1.6-2.4 (1.8)
OID104	<i>E. quercicola</i>	21.2-37.3 (29.5)	11.5-20.4 (16.3)	1.4-2.6 (1.8)
OID105	<i>E. necator</i>	27.4-43.8 (35.1)	6.7-13.0 (9.5)	3.2-6.0 (3.7)
OID118	<i>E. necator</i>	26.8-44.0 (33.9)	10.2-15.0 (12.4)	2.1-3.9 (2.8)
OID119	<i>E. necator</i>	29.6-43.4 (35.7)	9.7-15.0 (12.2)	2.2-3.9 (3.0)
OID138	<i>E. quercicola</i>	14.4-36.7 (26.5)	15.5-33.9 (23.3)	0.5-2.0 (1.3)
OID148	<i>E. quercicola</i>	22.4-31.8 (27.6)	10.9-18.5 (15.4)	1.6-2.4 (1.8)
OID150	<i>E. quercicola</i>	23.8-34.8 (30.5)	14.8-21.6 (17.4)	1.5-2.2 (1.8)
OID158	<i>E. necator</i>	29.5-39.6 (34.2)	10.0-16.2 (12.6)	2.11-3.4 (2.7)
Braun and Cook (2012) <sup>(1)</sup>	<i>E. quercicola</i>	25.0-40.0	12.0-22.0	1.5-2.3
Braun and Cook (2012) <sup>(2)</sup>	<i>E. necator</i>	22,5-48,0	12,0-22,0	-

Source: prepared by the author.

(1) Referência para as características morfológicas de *E. quercicola*.

(2) Referência para as características morfológicas de *E. necator*.

All specimens obtained from mature leaves showed hyaline, septated and branched hyphae; the conidiophores were erect with lengths that ranged from 49.7–77.0  $\mu\text{m}$  (mean 63.4  $\mu\text{m}$ ), with a foot cell slightly twisted one or two times, 21.6–38.4  $\mu\text{m}$  in length (mean 29.4  $\mu\text{m}$ ) and 6.3–7.4  $\mu\text{m}$  wide (mean 6.9  $\mu\text{m}$ ) (Figures 2e, f). Conidia were also produced singly at the

apex of the conidiophore; they were ellipsoid to cylindrical; without fibrosis bodies; and measured 26.8–44.0  $\mu\text{m}$  in length (mean range 33.9–35.7  $\mu\text{m}$ ) and 6.7–16.2  $\mu\text{m}$  in width (9.5–12.6  $\mu\text{m}$  mean range), with a length to width ratio of 2.1–5.9 (2.7–3.7 mean range) (Table 4, Figure 2c). Hyphal appressoria were lobated (Figure 2f).

### ***Phylogenetic analyses***

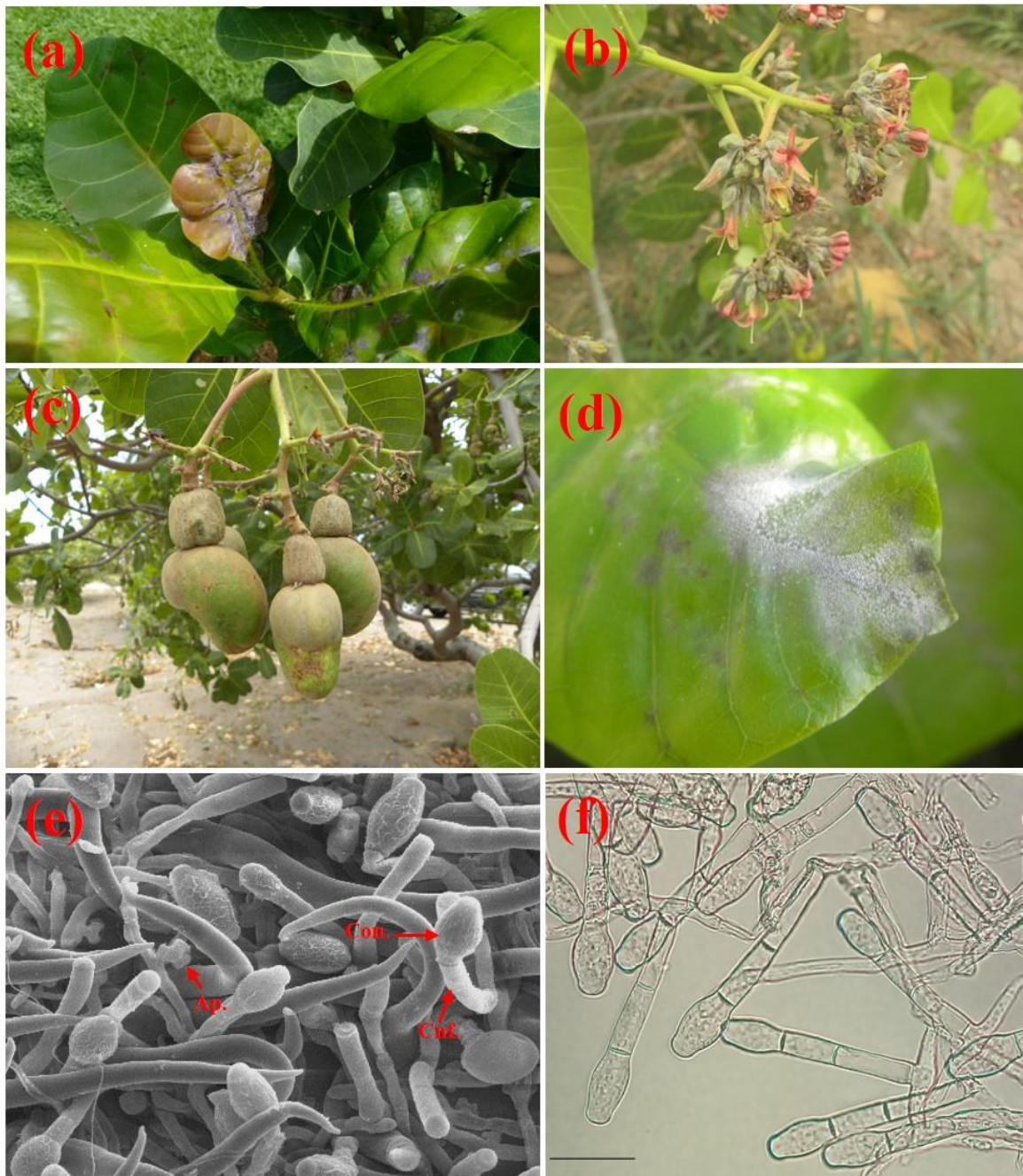
We used a combined dataset of ITS and 28S rDNA sequences to investigate the phylogenetic relationships of 12 cashew powdery mildew specimens. The most parsimonious tree with a length of 123 (CI = 0.7654, RI = 0.9457 and RC = 0.7238) is shown in Figure 3. The specimens obtained from different plant organs were distributed in two distinct clades of the phylogenetic tree, (Figure 3). In the first clade, there were the specimens obtained from flushing shiny leaves (OID04, OID69, OID104 and OID150), flowers and immature fruits (OID14, OID101, OID138 and OID148) grouped with *E. quercicola* specimens from different hosts with a 98% bootstrap. In the second clade, there were mature leaf specimens (OID105, OID118, OID119 and OID158) grouped with *E. necator* specimens from three different hosts with 99% bootstrap support. The information presented in this study confirms the identification of the *E. quercicola* and *E. necator* species as fungi causal agents of the cashew powdery mildew.

### ***Pathogenicity tests***

In the first pathogenicity test, symptoms (Figure 1d) and signs similar to those found in naturally infected tissues of *E. quercicola* (Figures 1e, f) were observed on plants 7 days after inoculation. However, for plants inoculated with *E. necator*, symptoms (Figure 2b) were observed 21 days after inoculation (Figures 2e, f). Uninoculated plants remained healthy. In the second pathogenicity test with cross-inoculations, *E. quercicola* caused symptoms only on immature leaves 6 days after inoculation, while *E. necator* caused symptoms on both immature and mature leaves at 7 and 18 days after inoculation, respectively.

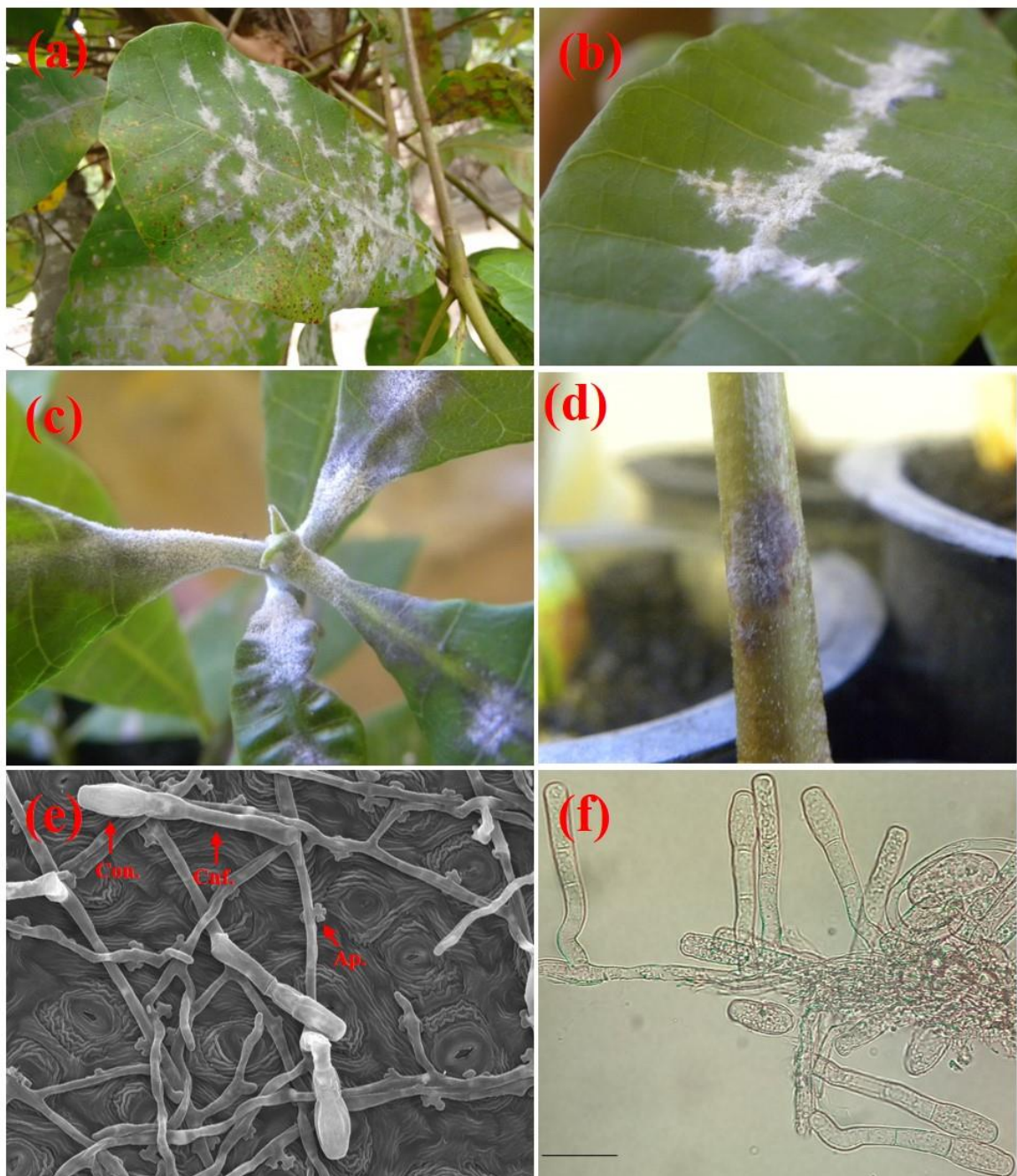


Figure 1 - (a) Powdery mildew symptoms on cashew leaves, (b) Powdery mildew symptoms on cashew inflorescences, (c) Powdery mildew symptoms on cashew young fruits, (d) Powdery mildew symptoms on young leaves of cashew seedlings inoculated with *E. quercicola*. (e) Scanning electron microscopy image showing conidiophores (Cnf.), conidia (Con.) and multilobed appressoria (Ap.) of *E. quercicola* (seta), and, (f) Light microscopy image of conidiophores and conidia of *E. quercicola* (scale bar: 30  $\mu$ m).



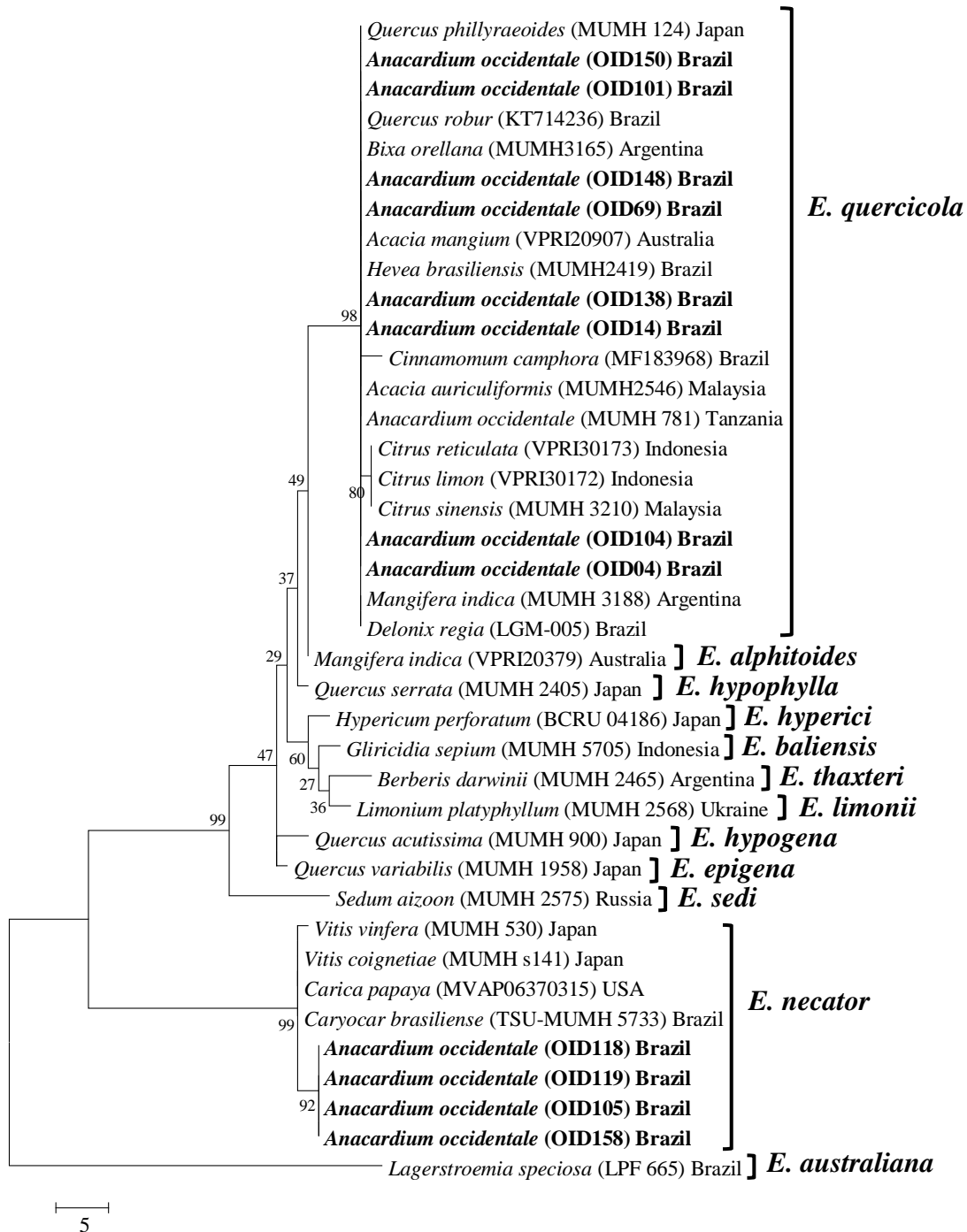
Source: prepared by the author.

Figure 2 - (a) Powdery mildew symptoms on mature cashew leaves, (b) Powdery mildew symptoms on cashew mature leaves inoculated with *E. necator*, (c) Powdery mildew symptoms on young leaves of cashew seedlings inoculated with *E. necator*, (d) Powdery mildew symptoms on cashew young stems inoculated with *E. necator*, (e) Scanning electron microscopy image showing conidiophores (Cnf.), conidia (Con.) and multilobed appressoria (Ap.) of *E. necator* (seta), and, (f) Light microscopy image of conidiophores and conidia of *E. necator* (scale bar: 30  $\mu\text{m}$ ).



Source: prepared by the author.

Figure 3 - Phylogenetic tree inferred from the maximum parsimony (MP) analyses of combined internal transcribed spacer and 28S rDNA regions from species in the genus *Erysiphe*. Horizontal branch lengths are proportional to the number of substitutions that were inferred to have occurred along a particular tree branch. MP bootstrap values with 1000 replications are shown at each node. The sequences of *E. quercicola* and *E. necator* from this study are in bold.



Source: prepared by the author.

## Discussion

In the course of this study, a taxonomic review of the etiology of cashew powdery mildew was performed based on morphological characteristics, phylogenetic analyses and pathogenicity tests. Results presented in this study showed that all powdery mildew specimens associated with young immature tissues including as shining leaves, flowers and young fruits from different regions of Northeast Brazil were *Erysiphe quercicola*. Recently, a taxonomic study based on morphological and molecular characteristics, reported the occurrence of *E. quercicola* causing powdery mildew in cashew trees in Brazil (CARDOSO *et al.*, 2017), while it had already been reported as the cause of epidemics in Tanzania (LIMKAISANG *et al.*, 2006). This species had also been reported to cause powdery mildew in flamboyant trees (*Delonix regia*), rubber trees (*Hevea brasiliensis*), camphor trees (*Cinnamomum camphora*) and oaks (*Quercus robur*) in Brazil (DALLAGNOL *et al.*, 2018; DORNELES *et al.*, 2018; LIMKAISANG *et al.*, 2005; PIVETA *et al.*, 2018). Nevertheless, previous studies (HONORATO *et al.*, 2016) have shown morphological differences in the shapes and sizes of conidiophores and conidia between the original powdery mildew described in Brazil (NOACK, 1898) and the one that has been newly discovered (CARDOSO *et al.*, 2017). *Erysiphe necator* was associated exclusively with diseased mature leaves in this study based on morphology, molecular phylogenetic and pathogenicity on cashew leaves, and we can conclude the involvement of these two species with powdery mildew symptoms on cashew. As far as we know, this is the first report of the co-occurrence of *E. quercicola* and *E. necator* on cashew trees, and the occurrence of *E. necator* on cashew plants at all.

*E. necator* is a common, widespread powdery mildew on *Vitis vinifera* and other species of the genus *Vitis* as well as hosts of other genera of the Vitaceae (BRAUN; COOK, 2012), but it has recently also been found on papaya (*Carica papaya*) in the USA (BRAUN *et al.*, 2017). In Brazil, *E. necator* has been reported to cause powdery mildew on *Caryocar brasiliense*, a tropical plant commonly grown in the same ecosystem in which cashew is grown (BRAUN *et al.*, 2017).

Although *E. necator* was found only in association with powdery mildew symptoms in mature leaves under natural conditions, pathogenicity tests revealed its conidia infecting young leaves (Figures 2c, d) and causing severe symptoms with the same aggressiveness as *E. quercicola*. Presumably, this might be related to sunlight sensitivity of conidia, as pathogenic tests were carried out in a lower-light environment.

## 4 CAPÍTULO II: NOVOS RELATOS DE OCORRÊNCIA DE *Erysiphe quercicola* CAUSANDO OÍDIOS NO BRASIL

### 4.1 Artigo I: First report of *Erysiphe quercicola* causing powdery mildew in *Bixa orellana* L. in Brazil

Artigo publicado na revista *Plant Disease*<sup>2</sup>, v. 106, n. 6, p. 1424, 2019.

(<http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-11-18-2026-PDN>).

<sup>1</sup>W. L. Fonseca, <sup>\*2</sup>J. E. Cardoso, <sup>2</sup>F. M. P. Viana, <sup>1</sup>S. O. S. Brasil, <sup>1</sup>R. F. B. S. Vieira, <sup>3</sup>M. A. Ootani, <sup>2</sup>F. S. A. Araújo, <sup>1</sup>C. S. Lima, <sup>4</sup>M. C. L. S. Cardoso and <sup>2</sup>C. R. Muniz

<sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, CEP 60356-001, Fortaleza, Ceará, Brazil

<sup>2</sup>Embrapa Agroindústria Tropical, Caixa Postal 3761, CEP 6060511-110, Fortaleza, Ceará, Brazil.

<sup>3</sup>Cetene/Laboratório de Bioprocessos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

<sup>4</sup>Faculdade Católica de Quixadá, R. Juvêncio Alves, 660 - Centro, 63900-000, Quixadá - Ceará, Brazil.

\* Corresponding author: José Emilson Cardoso ([jose-emilson.cardoso@embrapa.br](mailto:jose-emilson.cardoso@embrapa.br))

Annatto plant (*Bixa orellana* L.) is a small tropical tree originated from South America cultivated in Brazil mainly for medicinal and natural food coloring usage of its fruits. In May 2017, powdery mildew symptoms and signs were observed on leaves and stems of annatto plants in several villages in Ceará State, Brazil. A representative symptomatic specimen was collected at Fortaleza Forest Nursery (OID116), Fortaleza, Ceará. This specimen was examined at Embrapa Plant Pathology Laboratory to identify the causal agent of the disease. Morphological characteristics and measurements were carried out by microscopic examination and taking microphotographs with a photograph camera (Moticam 1000 1.3 megapixel USB 2.0) coupled to a three ocular optical microscopic. The fungus showed abundant colonies on

---

<sup>2</sup> Revista Plant Disease (Fator de impacto: 3,173. Qualis CAPES: A1).

adaxial leaf surface and stems bearing erect conidiophores with singly conidia at the apex. Foot-cells straight rarely slightly curved uniform width throughout followed by 1-2 shorter cells. Conidia were ellipsoid shaped, with rounded apex and base truncated, lacking fibrosin bodies and measuring 22.7 to 33.9 (29.0)  $\mu\text{m}$  length by 13.4 to 21.5 (17.6)  $\mu\text{m}$  width and 1.3 to 2.0 (1.7) length/width ratio. Appressoria on mycelium were lobated and multilobed. Chasmothecia were not founded. These morphological characteristics were typical to the conidial stage of the genus *Erysiphe*, according to Braun and Cook (2012). Genomic DNA for use in PCR was extracted by DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen®). PCR amplifications of the ITS and 28S rDNA regions were carried out using primers ITS1F/P3R and NL1/TW14 (MEEBOON; TAKAMATSU, 2014), and PCR products were Sanger-sequenced. The ITS and 28S sequences were deposited in the GenBank under accession numbers KY741537 (ITS) and KY741538 (28S). Maximum parsimony (MP) was used to conduct phylogenetic analyses. The tree topology was tested by using bootstrap method with 1000 replications. Upon construction of the phylogenetic tree, the specimen OID 116 grouped into the same clade as *E. quercicola* from *B. orellana* deposited specimens (MUMH3230 and MUMH3165), and with other host species. Pathogenicity tests were performed by rubbing infected leaves onto healthy leaves and stems of five annatto seedlings. Five healthy seedlings were kept separately as noninoculated control. All inoculated seedlings showed symptoms and signs 72 hours after inoculation. While *E. quercicola* was previously reported in Argentina and Thailand on *B. orellana* (LIMKAISANG *et al.*, 2006), and in other tropical plants in Brazil, this is the first report of *E. quercicola* causing powdery mildew in annatto plant in this country. The occurrence of this species poses a serious threat to the annatto production in Brazil by the potential damages to the plant. To our knowledge, this is the first report of *E. quercicola* causing powdery mildew in annatto plant in Brazil.

Supplementary Figure S4 - (A) *Bixa orellana* leaf showing symptoms of powdery mildew on leaves caused by *Erysiphe quercicola*. (B) Scanning electron microscopy image showing conidiophores and conidia of *E. quercicola*.



Source: prepared by the author.





## 4.2 Artigo II: *Clitoria fairchildiana*, new host of anamorphic *Erysiphe quercicola* in Brazil

Artigo publicado online na revista *Journal of General Plant Pathology*<sup>3</sup>, 2019.

(<https://doi.org/10.1007/s10327-019-00870-w>).

Wéverson L. Fonseca<sup>1</sup>, José E. Cardoso<sup>2</sup>, Márcio A. Ootani<sup>3</sup>, Francisco M. P. Viana<sup>2</sup>,  
Cristiano S. Lima<sup>1</sup>, Suane O. S. Brasil<sup>1</sup>, Celli R. Muniz<sup>2</sup>, Regimara F. B. S. Vieira<sup>1</sup>, Maria C.  
L. S. Cardoso

<sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, CEP 60356-001, Fortaleza, CE, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Agroindústria Tropical, Caixa Postal 3761, CEP 60356-001, Fortaleza, CE, Brazil.

<sup>3</sup>Cetene/Laboratório de Bioprocessos, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50740-540, Recife, PE, Brazil.

<sup>4</sup>Faculdade Católica de Quixadá, R. Juvêncio Alves, 660 - Centro, CEP 63900-000, Quixadá, CE, Brazil.

### Correspondence

José Emilson Cardoso, Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Agroindústria Tropical, Caixa Postal 3761, CEP 6060511-110, Fortaleza, CE Brazil. Email: jose-emilson.cardoso@embrapa.br. Orcid J. E. Cardoso <https://orcid.org/about/0000-0002-2844-8451>

### Total text pages

The manuscript features three text pages.

### The numbers of tables and figures

The manuscript presents a table and two figures.

---

<sup>3</sup> Revista Journal of General Plant Pathology (Fator de impacto: 0,887. Qualis CAPES: B1).

## ABSTRACT

The anamorphic form of powdery mildew is the most common form in Brazil. Traditionally, this group of fungi has been classified based on morphological characteristics and host species. This study was designed to determine the species involved in a severe occurrence of powdery mildew on *Clitoria fairchildiana* in northeastern Brazil. Based on morphology, molecular analyses and pathogenicity tests of fungal samples, anamorphic *Erysiphe quercicola* was recognized as the powdery mildew on *C. fairchildiana*. This is the first report of *E. quercicola* causing powdery mildew on this species in Brazil.

**Keywords:** Pathogenicity. Phylogeny. rDNA ITS region. 28S rDNA. Powdery mildew.

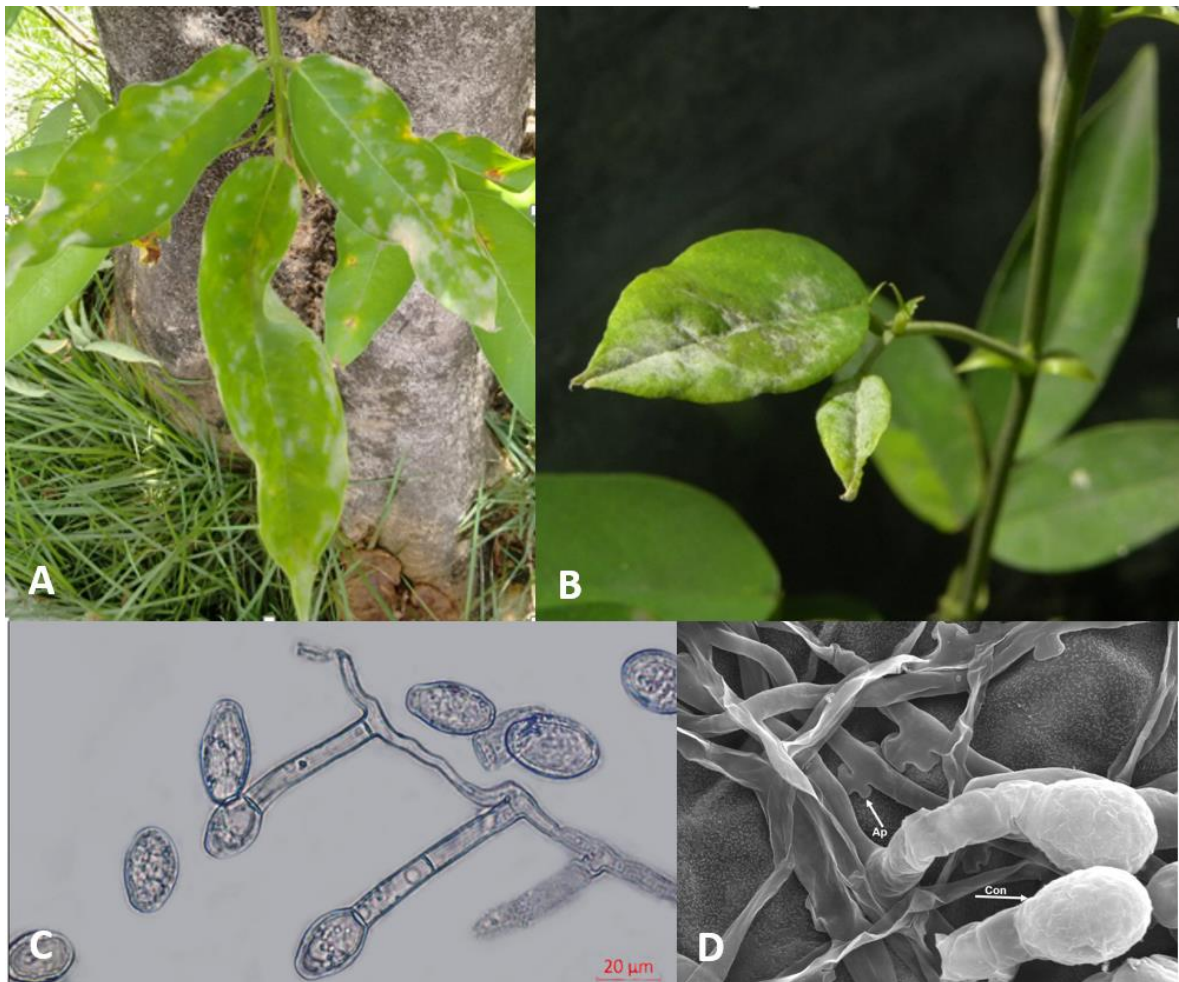
*Clitoria fairchildiana* L. is a leguminous tree native to Brazil, largely grown for landscaping and afforestation of roads, gardens and car parks. It is prized for its shade (which accounts for its Brazilian common name: “sombreiro”), beautiful canopy and high capacity to fix nitrogen. Symptoms and signs associated with powdery mildew were observed on several mature trees of *C. fairchildiana* in Guaramiranga town and in a parking lot of Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza city, both in the State of Ceará. Abundant mycelial growth and sporulation on shoots, new branches and young leaves led to severe distortions of trifoliate leaves (Figure 6a). Identification of the pathogen to species was based on morphological features, phylogenetic analyses of the ITS and large subunit (28S) rDNA gene regions and pathogenicity tests.

Young leaves of *C. fairchildiana* trees with characteristic symptoms and signs of powdery mildew were sampled during the dry period in 2017, in the dryer, windy months of September to November, when temperatures ranged from 23 to 26 °C. Initially, incidence of the fungus, affecting all eight trees in the parking lot of Embrapa Agroindústria Tropical, was low. Subsequently, all eight trees on the main street of Guraramiranga town were affected. Symptoms and signs were identical in both sampled sites.

Fresh samples were taken to the Plant Pathology Laboratory of Embrapa Agroindústria Tropical, where mycelia and conidia were scraped from infected tissues for morphological and phylogenetic identification. Remaining samples were herbarized and stored for further evaluations. Conidia and conidiophores were placed on slides, stained with lactophenol in cotton blue and examined for conidial form, presence of fibrosin bodies, nature of conidiogenesis, characteristics of the conidiophore (i.e., size and shape of the foot cell and

position of the basal septum), shape and position of hyphal appressoria and position of conidial germ tubes. The measurements were made using the Motic Images Plus 2.0 program (Motic images advanced), using a camera (Moticam 1000 1.3 megapixel USB 2.0) coupled to a trilocular optical microscope (LEICA DM LS - Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). Fifty of each structure were measured from each sample. Fungal tissues were also examined with scanning electron microscopy according to methodology described in Bozzola (1999).

Figure 6 - **a** *Clitoria fairchildiana* with powdery mildew on leaves. **b** Powdery mildew on young leaves of *C. fairchildiana* seedlings inoculated with *Erysiphe quercicola*. **c** Conidiophores and conidia of *Erysiphe quercicola*. **d** Scanning electron micrograph of conidiophores, conidia (con) and multilobed appressoria (Ap). (Image credits: J. E. Cardoso (**a-c**) and C. R. Muniz (**d**)).



Source: prepared by the author.

Total DNA from the specimens was extracted at Embrapa's Molecular Biology Laboratory using the Qiagen Dneasy Extraction Kit (Qiagen, Santa Clarita, CA, USA). The nucleotide sequences of ITS and the “5’-end” of the 28S rRNA gene (including domains D1

and D2) regions were determined according to the procedure of Meeboon and Takamatsu (2014). The ITS region (ITS1-5.8S-ITS2) of rDNA was amplified by PCR using primers ITS1F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') and P3R (5'-GCCGCTTCACTCGCCGTTAC-3'). The large subunit rRNA gene (28S region) of rDNA was amplified using primers PM3 (5'-GKGCTYTMCGCGTAGT-3') and TW14 (5'-GCTATCCTGAGGGAAACTTC-3'). The PCR mixture (50 µl) consisted of: 28.65 µl of ultrapure water, 10 µl of buffer 5x, 2 µl of MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 1 µl of dNTP (10 mM), 0.8 µl of each primer (10 mM), 0.5 µl of Taq Flexi DNA polymerase (5 U/ µl) by Promega (Promega, Madison, WI, USA) and 6.25 µl of the extracted DNA. The Techne Flexigene thermal cycler (Techne, Cambridge, UK) was used for the PCR with an initial denaturation at 94 °C for 2 min; 35 cycles of denaturation at 94 °C for 60 s, annealing at 60 °C for 45 s, and extension 72 °C for 60 s; and a final extension at 72 °C for 10 min (MORI *et al.*, 2000). PCR products were purified and sequenced by Macrogen, Seoul, South Korea (<https://dna.macrogen.com>).

Sequences were edited using BioEdit version 7.0.5 (HALL, 2012) and manually aligned using ClustalW with sequences for the genus *Erysiphe* from the GenBank database of the National Center of Biotechnological Information (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Table 5). The phylogenetic relationships were inferred by maximum parsimony (MP) analyses conducted with the heuristic search option using the tree bisection reconstruction (TBR) algorithm in the program MEGA 7 (KUMAR *et al.*, 2016). The strength of the internal branches of the resulting tree was tested with a bootstrap (BS) analysis using 1,000 replications. The sequence alignment and the phylogenetic tree for the concatenated data set were deposited in TreeBASE (<http://www.treebase.org/>; accession S23632). *Erysiphe australiana* was used as the outgroup.

Sequences obtained were deposited in GenBank (ITS/28S: MH569421/MK085085 for OID125 and MK085083/MK085086 for OID128).

Pathogenicity of the isolates was tested by using a fine paintbrush to brush a mass of conidia from infected leaves onto leaves that had not yet fully expanded on 8-week-old *C. fairchildiana* seedlings. Five inoculated and five non-inoculated seedlings were used. After inoculation, seedlings were kept apart in a growth chamber at 22-26°C with 80-90% relative humidity.

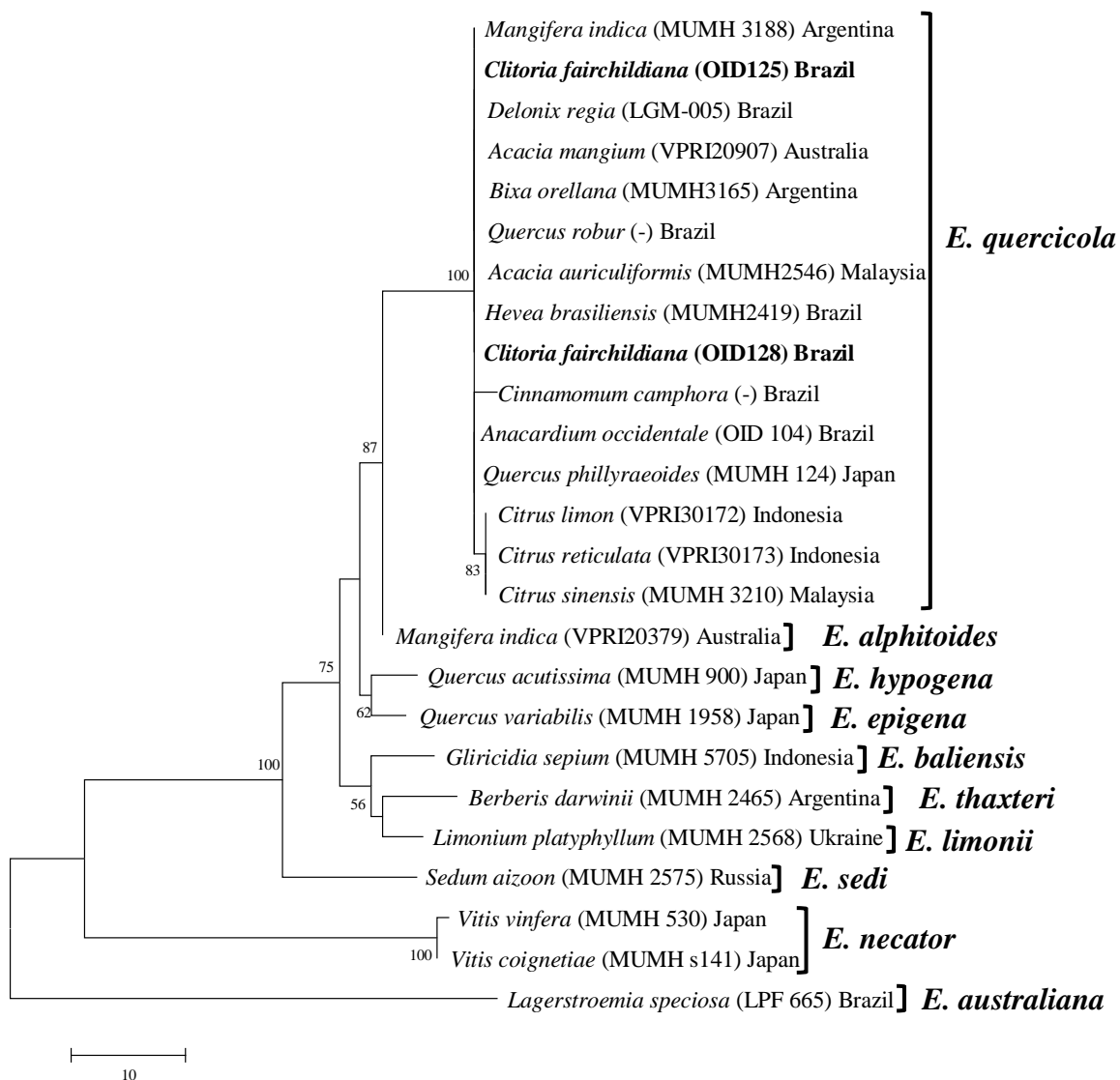
Table 5 - Species of *Erysiphe*, voucher, plant hosts, country of origin, and GenBank accessions used in this study

Specie	Voucher	Host	Origin	Accession	
				ITS	28S
<i>E. quercicola</i>	VPRI30172 <sup>a</sup>	<i>Citrus limon</i>	Indonesia	AB237791	AB237818
<i>E. quercicola</i>	VPRI30173 <sup>a</sup>	<i>Citrus reticulata</i>	Indonesia	AB237792	AB237819
<i>E. quercicola</i>	MUMH 3210 <sup>a</sup>	<i>Citrus sinensis</i>	Malaysia	AB237793	AB237820
<i>E. quercicola</i>	MUMH 3188 <sup>a</sup>	<i>Mangifera indica</i>	Argentina	AB237794	AB237821
<i>E. quercicola</i>	MUMH2419 <sup>a</sup>	<i>Hevea brasiliensis</i>	Brazil	AB193607	AB197134
<i>E. quercicola</i>	MUMH3165 <sup>a</sup>	<i>Bixa orellana</i>	Argentina	AB237787	AB237815
<i>E. quercicola</i>	MUMH 124 <sup>a</sup>	<i>Quercus phillyraeoides</i>	Japan	AB193590	AB197135
<i>E. quercicola</i>	MUMH2546 <sup>a</sup>	<i>Acacia auriculiformis</i>	Malaysia	AB237803	AB237830
<i>E. quercicola</i>	VPRI20907 <sup>a</sup>	<i>Acacia mangium</i>	Australia	AB237808	AB237833
<i>E. quercicola</i>	OID 104 <sup>b</sup>	<i>Anacardium occidentale</i>	Brazil	KY172852	-
<i>E. quercicola</i>	- <sup>c</sup>	<i>Quercus robur</i>	Brazil	KT714236	-
<i>E. quercicola</i>	LGM-005 <sup>d</sup>	<i>Delonix regia</i>	Brazil	JQ034229	-
<i>E. quercicola</i>	- <sup>e</sup>	<i>Cinnamomum camphora</i>	Brazil	MF183968	-
<b><i>E. quercicola</i></b>	<b>OID125</b>	<b><i>Clitoria fairchildiana</i></b>	<b>Brazil</b>	<b>MH569421</b>	<b>MK085085</b>
<b><i>E. quercicola</i></b>	<b>OID128</b>	<b><i>Clitoria fairchildiana</i></b>	<b>Brazil</b>	<b>MK085083</b>	<b>MK085086</b>
<i>E. alphitoides</i>	VPRI20379 <sup>f</sup>	<i>Mangifera indica</i>	Australia	AB237799	AB237826
<i>E. necator</i>	MUMH 530 <sup>g</sup>	<i>Vitis vinifera</i>	Japan	LC028996	LC028996
<i>E. necator</i>	MUMH s141 <sup>g</sup>	<i>Vitis coignetiae</i>	Japan	LC028995	LC028995
<i>E. baliensis</i>	MUMH 5705 <sup>f</sup>	<i>Gliricidia sepium</i>	Indonesia	LC060726	LC060726
<i>E. hypogena</i>	MUMH 900 <sup>h</sup>	<i>Quercus acutissima</i>	Japan	AB292727	AB292727
<i>E. epigena</i>	MUMH 1958 <sup>h</sup>	<i>Quercus variabilis</i>	Japan	AB292719	AB292719
<i>E. sedi</i>	MUMH 2575 <sup>a</sup>	<i>Sedum aizoon</i>	Russia	LC010045	LC010045
<i>E. thaxteri</i>	MUMH 2465 <sup>a</sup>	<i>Berberis darwinii</i>	Argentina	LC010017	LC010017
<i>E. limonii</i>	MUMH 2568 <sup>a</sup>	<i>Limonium platyphyllum</i>	Ukraine	LC010039	LC010039
<i>E. australiana</i>	LPF 665 <sup>i</sup>	<i>Lagerstroemia speciosa</i>	Brazil	KT941419	KT941421

Source: prepared by the author.

A dash (-) denotes missing data. Sources: <sup>a</sup>Takamatsu *et al.* (2015a); <sup>b</sup>Cardoso *et al.* (2017); <sup>c</sup>Piveta *et al.* (2018); <sup>d</sup>Dallagnol *et al.* (2012); <sup>e</sup>Dorneles *et al.* (2018); <sup>f</sup>Siahaan *et al.* (2016); <sup>g</sup>Takamatsu *et al.* (2015b); <sup>h</sup>Takamatsu *et al.* (2007); <sup>i</sup>Fonseca *et al.* (2016). Accessions from this study are in boldface.

Figure 7 - Phylogenetic tree inferred by the maximum parsimony (MP) analysis of the ITS and 28S rDNA regions from species in the genus *Erysiphe* and the outgroup *E. australiana*. This tree was obtained by a heuristic search. Horizontal branch lengths are proportional to the number of substitutions inferred to have occurred along a particular branch of the tree. Percentage bootstrap support values (1000 replications; >50%) are shown at internodes. Specimens obtained in this study are in boldface. Voucher codes of the specimens are in parentheses. Two specimens that do not have codes are indicated with a hyphen (-).



Source: prepared by the author.

Hyphae of the powdery mildew pathogen were hyaline, septate and branched; conidiophores had foot cells 16.7-32.4  $\mu\text{m}$  (mean 23.5  $\mu\text{m}$ ) long and 5.7-8.8  $\mu\text{m}$  (7.1  $\mu\text{m}$ ) wide. Conidia were produced singly at the apex of conidiophores, ovoid, without fibrosin bodies and

24.4-39.8  $\mu\text{m}$  (29.8  $\mu\text{m}$ ) long and 13.3-19.4  $\mu\text{m}$  (16.1  $\mu\text{m}$ ) wide with a length to width ratio 2.1-1.9 (Figure 6c). Appressoria on mycelium were lobed or multilobed (Figure 6d). Germ tubes were *Extensitubus* subtype of *Pseudoidium* type. This powdery mildew may belong to genus *Erysiphe*, according to Braun and Cook (2012) because no chasmothecia were found; therefore, to identify the fungus at the species level, molecular techniques were required.

The phylogenetic tree based on ITS rDNA (including 28S region) sequencing confirmed with strong bootstrap support that the causal agent of powdery mildew of *C. fairchildiana* is *Erysiphe quercicola* (Figure 7). Symptoms and signs on the seedlings at 10 days after inoculation were similar to those on naturally infected tissues (Figure 6b); non-inoculated seedlings remained healthy.

This is the first report of powdery mildew on *C. fairchildiana* in the world although *Pseudoidium clitoriae* has been reported to cause powdery mildew on *Clitoria* spp. in Mexico, Australia and some Asian countries (BRAUN; COOK, 2012). *E. quercicola* was previously reported to cause powdery mildew on cashew (*Anacardium occidentale*), flamboyant (*Delonix regia*), rubber (*Hevea brasiliensis*), camphor (*Cinnamomum camphora*) and oak (*Quercus robur*) in Brazil (CARDOSO *et al.*, 2017; DALLAGNOL *et al.*, 2012; LIMKAISANG *et al.*, 2005; PIVETA *et al.*, 2018; DORNELES *et al.*, 2018). Powdery mildew on this host may pose as a serious threat to this tree in Northeastern region of Brazil.

**Acknowledgements** The authors thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for scholarship support.

### **Compliance with Ethical Standards**

This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

### **Conflicts of interests**

The authors declare that have no conflict of interest.

## 5 CAPÍTULO III: HOSPEDEIROS ALTERNATIVOS DE *Erysiphe quercicola* NO ECOSISTEMA DO CAJUEIRO

W. L. Fonseca<sup>1\*</sup>, J. E. Cardoso<sup>2</sup>, C. S. Lima<sup>1</sup>, R. F. B. S. Vieira<sup>1</sup>, S. O. S. Brasil<sup>1</sup>, C. R. Muniz<sup>2</sup>, I. L. Andrade<sup>1</sup> e M. V. V. Martins<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, CEP 60356-001, Fortaleza, CE, Brazil.

<sup>2</sup>Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Agroindústria Tropical, Caixa Postal 3761, CEP 60356-001, Fortaleza, CE, Brazil.

\* Autor para correspondência: Wéverson Lima Fonseca (weverson.limaf@gmail.com)

### RESUMO

Atualmente, o oídio é a doença mais importante do cajueiro em todas as regiões produtoras do Brasil. Um estudo recente relatou a ocorrência de *Erysiphe quercicola* como o agente causal dos sintomas em folhas, inflorescências, maturis, pedúnculos e castanhas. Evidências morfológicas levantaram a questão de diferentes hospedeiros do fungo ocorrendo em áreas próximas a pomares de cajueiro. Este estudo foi desenvolvido para comparar os fungos causadores de oídio em plantas do ecossistema do cajueiro, visando conhecer suas relações com os hospedeiros, ensejando possíveis envolvimentos de hospedeiros alternativos com as epidemias verificadas no cajueiro. O trabalho constou de coleta de amostras de plantas com sintomas de oídio, análise morfológica, filogenética e patogenicidade cruzada. Este trabalho evidenciou, por meio da caracterização morfológica, molecular e patogênica, que a possível participação de urucuzeiro (*Bixa orellana*), sombreiro (*Clitoria fairchildiana*) e mangueira (*Mangifera indica*) como hospedeiros alternativos de *E. quercicola* patogênico ao cajueiro podem representar fonte de inóculo para o oídio do cajueiro, bem como, identificou, pela primeira vez, a ocorrência deste patógeno em mangueira no Brasil.

**Palavras-chave:** Oídio. Filogenia. Patogenicidade. Inoculação cruzada.



## ABSTRACT

Cashew powdery mildew is presently the most important cashew disease in Brazil. A recent study reported the occurrence of *Erysiphe quercicola* as the fungus causal agent of symptoms in leaves, inflorescences, maturis, peduncles and nuts. Morphological evidence raised the question of different fungus hosts occurring in areas near cashew orchards. This study was the first attempted to elucidate this issue by comparing the fungi associated to powdery mildew of tropical plants in Brazil, aiming to elucidate their relationship with cashew powdery mildew epidemics. The study consisted of sampling powdery mildew occurring in host plants, morphological and phylogenetic analyses and cross-inoculation. This work showed the possible participation of *Bixa orellana*, *Clitoria fairchildiana* and *Mangifera indica* as alternative hosts of pathogenic *E. quercicola* to the cashew, furthermore, they might act as primary source of cashew powdery mildew. This is first report on the occurrence of this pathogen in *M. indica* in Brazil.

**Keywords:** Powdery mildew. Phylogeny. Pathogenicity. Cross-inoculation.

## Introdução

O oídio do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) se tornou um dos principais problemas fitopatológicos desta frutífera, pelos danos em folhas e brotações novas, inflorescências, maturis, frutos maduros e pedúnculos (CARDOSO *et al.*, 2012; CARDOSO *et al.*, 2017). Os danos causados pelo oídio na produção do cajueiro são ainda mais preocupantes, uma vez que tanto o pedúnculo quanto a castanha, principais produtos comercializados, são severamente afetados (CARDOSO *et al.*, 2013). Apesar de ter sido descrito pela primeira vez em cajueiro ainda no final do século dezenove, no Brasil, ocasião em que o seu agente causal foi designado como o fungo *Oidium anacardii* (F. Noack) (NOACK, 1898), o oídio só se tornou a principal doença do cajueiro em meados do século vinte na região oriental africana (CASULLI, 1979). Elevadas perdas na produção de castanha pelo oídio foram observadas na Tanzânia, com reduções de 50% a 70% da produção pelo ataque severo da doença (MARTIN *et al.*, 1997). No Brasil, mais recentemente, algumas áreas, como a região sudeste do Piauí e no litoral do Ceará, têm-se verificado perdas de até 100% em alguns pomares (VIANA *et al.*, 2016).

Em anos posteriores, a doença foi relatada em outras plantas tropicais, sendo a descrição original e nomenclatura baseadas apenas nas características morfológicas e no hospedeiro. Contudo, estudos morfológicos e moleculares mais recentes indicam que *O. anacardii* F. Noack em cajueiro (*A. occidentale* L., Anacardiaceae), *O. mangiferae* Berthet em mangueira (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae), *O. bixae* Viégas em urucuzeiro (*Bixa orellana* L., Bixaceae), *O. citri* (JM Yen) U. Braun em *Citrus* spp. (Rutaceae) e *Oidium* sp. em *Acacia* spp. (Fabaceae) possuem sequências ITS do rDNA idênticas ou muito semelhantes às de *Erysiphe* sp. em *Quercus phillyreoides* (LIMKAISANG *et al.*, 2006), que, posteriormente, foi classificado como *Erysiphe quercicola* S. Takam. & U. Braun por Takamatsu *et al.* (2007). Embora os oídios em plantas tropicais tenham sido classificados como espécies separadas por seus hospedeiros, eles foram reclassificados como formas assexuais de *E. quercicola* por Takamatsu *et al.* (2007). Por outro lado, estudos de inoculação cruzada em conjunto com análises moleculares identificaram espécies polífagas, como *E. quercicola*, que exibe uma gama de hospedeiros, além do nível da família de plantas (KIRSCHNER; LIU, 2014; MEEBOON; TAKAMATSU, 2015; SIAHAAN *et al.*, 2016).

Um estudo recente com base nas características morfológicas e moleculares, relataram a ocorrência do fungo *E. quercicola* causando oídio em cajueiro no Brasil (CARDOSO *et al.*, 2017), embora já tenha sido relatada como a causa de epidemias verificadas na Tanzânia (LIMKAISANG *et al.*, 2006). Com isso, torna-se necessária a realização de pesquisas com o objetivo de estudar a etiologia do oídio em plantas tropicais no Brasil, ensejando possíveis envolvimento de hospedeiros alternativos de *E. quercicola* com as epidemias verificadas em cajueiro. Em áreas onde o cajueiro é cultivado, evidências morfológicas levantam a questão da existência de diferentes hospedeiros do fungo *E. quercicola*. Esse fator ecológico de suma importância à sobrevivência do fungo, representa um sério problema ao manejo dessa doença. A identificação de possíveis hospedeiros alternativos de *E. quercicola* para a ocorrência do oídio do cajueiro contribui na busca de novas alternativas de controle do fungo para seu manejo integrado.

Portanto, os objetivos desta pesquisa foram comparar os fungos associados ao oídio que ocorrem em plantas tropicais nos ecossistemas onde o cajueiro é cultivado, visando determinar (i) as suas relações com o cajueiro e (ii) a possível participação de hospedeiros alternativos na epidemiologia do oídio em cajueiro.

## Material e Métodos

### *Coleta de amostras infectadas pelo oídio*

Levantamentos de campo em três estados da região Nordeste do Brasil foram realizados para coletar amostras de espécimes de oídio em plantas de cajueiro (*A. occidentale* L.) e outras plantas tropicais [capim-carrapicho (*Cenchrus echinatus* L.), crista-de-galo (*Heliotropium indicum* L.), fedegoso (*Senna occidentalis* L.), mangueira (*Mangifera indica* L.), mastruz (*Chemopodium ambrosioides* L.), pião-roxo (*Jatropha gossypifolia* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L.), serralhinha (*Emilia sonchifolia* L.), sombreiro (*Clitoria fairchildiana* L.), urucuzeiro (*B. orellana* L.) e vassourinha (*Scoparia dulcis* L.)] durante o período favorável à ocorrência epidêmica do oídio do cajueiro, ou seja, tempo seco, ventos fortes e temperaturas variando de 23 a 26 ° C, nos meses de setembro a novembro dos anos de 2017 e 2018. Vinte e uma amostras foram coletadas de Buíque no estado de Pernambuco, de São João da Varjota no estado do Piauí e de Amontada, Fortaleza, Guaramiranga, Pacajus e Russas no estado do Ceará. As amostras foram herbarizadas e armazenadas no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical, em Fortaleza, no Estado do Ceará.

### *Caracterização morfológica*

Para a caracterização morfológica, os tecidos infectados foram raspados e montados em lâmina com 40% de lactofenol em azul de algodão (200 mL L<sup>-1</sup> de fenol fundido, 200 mL L<sup>-1</sup> de ácido láctico, 400 mL L<sup>-1</sup> de glicerina branca, 0,5 g L<sup>-1</sup> de algodão azul e 200 mL L<sup>-1</sup> de água pura) para estudos morfológicos em microscopia de luz com objetivas 10x, 20x e 40x de contraste de fase. Realizou-se uma observação prévia para selecionar apenas os espécimes de oídio que apresentaram características típicas do gênero *Erysiphe*, de acordo com a descrição de Braun e Cook (2012). O critério utilizado para a seleção foi a natureza da conidiogênese, caractere morfológico de consistência taxonômica conforme Takamatsu (2013).

Os espécimes de oídio obtidos de capim-carrapicho, crista-de-galo, fedegoso, mastruz, pião-roxo, quebra-pedra, serralhinha e vassourinha tinham conidiogênese do tipo *Euoidium* (catenulado, isto é, conídios amadurecendo em cadeias), enquanto os obtidos de cajueiro, mangueira, sombreiro e urucuzeiro tinham conidiogênese do tipo *Pseudoidium* (não-catenulado, isto é, conídios solitários formados no ápice do conidióforo). Portanto, dentre os

vinte e um espécimes, apenas treze, coletados de cajueiro, urucuzeiro, sombreiro e mangueira, foram selecionados e utilizados para as análises morfológicas e filogenéticas (Tabela 6).

Tabela 6 - Espécimes de *Erysiphe quercicola* usados neste estudo, número de acesso do herbário, órgãos afetados, planta hospedeira, local de coleta e número de acesso no GenBank

<b>No. de acesso herbário</b>	<b>Tecido afetado</b>	<b>Hospedeiro</b>	<b>Local de coleta <sup>(1)</sup> (cidade e estado)</b>	<b>No. de acesso GenBank (ITS/28S)</b>
OID01	Folhas	Sombreiro	Pacajus - CE	KY765028/MK559479
OID101	Inflorescência	Cajueiro	Fortaleza - CE	KY312007/KY692191
OID104	Folha nova	Cajueiro	Pacajus - CE	KY172852/KY692192
OID111	Folha nova	Cajueiro	Guaramiranga - CE	MK559486/MK559480
OID116	Folhas	Urucuzeiro	Fortaleza - CE	KY741537/KY741538
OID125	Folhas	Sombreiro	Guaramiranga - CE	MH569421/MK085085
OID128	Folhas	Sombreiro	Fortaleza - CE	MK085083/MK085086
OID147	Inflorescência	Mangueira	São João da Varjota - PI	MK559487/MK559481
OID148	Inflorescência	Cajueiro	São João da Varjota - PI	MK240381/MK240388
OID155	Folhas	Mangueira	Guaramiranga - CE	MK559488/MK559482
OID156	Folhas	Urucuzeiro	Buíque - PE	MK559489/MK559483
OID157	Folha nova	Cajueiro	Buíque - PE	MK559490/MK559484
OID163	Folhas	Urucuzeiro	Guaramiranga - CE	MK559491/MK559485

Fonte: elaborada pelo autor.

(1) Estados brasileiros: CE – Ceará, PE – Pernambuco e PI – Piauí.

As características morfológicas e as medidas foram realizadas por exame microscópico e fotomicrografias com uma câmera fotográfica (Moticam 1000 1.3 megapixel USB 2.0) acoplada a um microscópio óptico trilocular (LEICA DM LS). Observou-se o tamanho e forma dos conídios, presença de corpos fibrosos, natureza da conidiogênese, características do conidióforo (número de septos, forma e tamanho da célula basal) e forma de apressórios no micélio. Cinquenta conidióforos e conídios foram medidos por amostra. Exames de microscopia eletrônica de varredura também foram realizados.

### ***Extração, amplificação por PCR e sequenciamento do DNA***

O DNA genômico dos espécimes selecionados (Tabela 6) foi extraído de hifas, conidióforos e conídios do fungo coletados de tecidos infectados, usando DNeasy plant mini kit da Qiagen (Qiagen®, <https://www.qiagen.com.br>), de acordo com as instruções do fabricante. O DNA total extraído foi quantificado pelo espectrofotômetro NanoDrop® 2000c (Thermo Fisher Scientific), versão 1.0. A diluição para 10 ng de DNA  $\mu\text{L}^{-1}$  foi armazenada a -20 °C para uso posterior.

A região espaçadora transcrita interna do rDNA (ITS), incluindo ITS1-5.8S-ITS2, foi amplificada usando os iniciadores ITS1F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') (WHITE *et al.*, 1990) e P3R (5'-GCCGCTTCACTCGCCGTTAC-3') (KUSABA; TSUGE, 1995). Para amplificação da região 28S do rDNA (incluindo os domínios D1 e D2), os primers PM3 (5'-GKGCTYTMCGCGTAGT-3') (TAKAMATSU; KANO, 2001) e TW14 (5'-GCTATCCTGAGGGAACTTC-3') (MORI *et al.*, 2000) foram usados. As misturas de PCR (50  $\mu\text{L}$ ) continham 6,25  $\mu\text{L}$  de DNA genômico (10 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ ), 10  $\mu\text{L}$  de buffer 5x, 1  $\mu\text{L}$  de dNTP (10 mM), 2  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (25 mM), 0,8  $\mu\text{L}$  de cada iniciador (10 mM), 0,5  $\mu\text{L}$  de GoTaq polimerase (5 U  $\mu\text{L}^{-1}$ ) e 28,65  $\mu\text{L}$  de água ultrapura estéril.

O programa de termociclador Flexigene® usado na amplificação dos produtos de PCR incluiu uma etapa desnaturação inicial a 94 °C por 2 minutos, seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 60 segundos, anelamento a 52 °C para 28S e 60 °C para ITS por 60 segundos, com uma extensão final a 72 °C por 10 minutos (MORI *et al.*, 2000). Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão Tris Borato EDTA 1X, corados com brometo de etídio (0,5 mg  $\text{mL}^{-1}$ ) durante 1 minuto e visualizados sob transluminador UV. Após verificação das bandas amplificadas, alíquotas de 40  $\mu\text{L}$  de cada produto de PCR foram enviadas para a empresa MacroGen Inc., Coreia do Sul (<http://www.macrogen.com>), para serem purificadas e sequenciadas nas direções senso e antisenso.

### ***Análises filogenéticas***

As sequências nucleotídicas das regiões ITS e 28S do rDNA foram editadas usando o programa BioEdit versão 7.0.5 (HALL, 2012) e alinhadas manualmente usando ClustalW com sequências do gênero *Erysiphe* previamente publicadas e depositadas no GenBank (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (Tabela 7). As relações filogenéticas foram inferidas pela análise

de máxima parcimônia (MP) e realizadas através de uma opção de busca heurística por *tree-bisection-reconnection* (TBR) no programa MEGA 7 (KUMAR *et al.*, 2016). O suporte estatístico da árvore foi testado usando análise de bootstrap com 1.000 repetições. *Erysiphe australiana* foi usado como grupo externo. Os escores de árvore, incluindo o comprimento da árvore, índice de consistência (CI), índice de retenção (IR) e índice de consistência reescalada (RC) também foram calculados. Todas as sequências aqui obtidas foram depositadas no GenBank (Tabela 6).

### ***Teste de patogenicidade e inoculações cruzadas***

Os testes de patogenicidade foram realizados em inoculações cruzadas entre todos os quatro hospedeiros (cajeeiro, urucuzeiro, sombreiro e mangueira) avaliados (Tabela 6). As mudas de cajueiro suscetíveis ao oídio foram produzidas com castanhas do clone BRS189 e inoculadas aos 30 dias de idade. A inoculação foi realizada a partir da transferência de conídios por contato foliar entre discos (6,5 mm de diâmetro) de folhas infectadas com a epiderme adaxial de folhas jovens não infectadas. Dois testes foram realizados: para o primeiro; amostras de folhas naturalmente infectadas (OID104, OID116, OID128 e OID155, Tabela 6) foram coletadas e usadas para inocular separadamente em quatro mudas de cada hospedeiro para assegurar a patogenicidade de cada espécime. O inóculo produzido no primeiro teste foi utilizado para o próximo através de inoculações cruzadas entre hospedeiros alternativos. Novamente, quatro plantas foram inoculadas e quatro plantas saudáveis foram mantidas separadamente como controle não inoculado. As plantas foram mantidas em câmaras de incubação sob temperatura de  $22 \pm 2$  °C e  $68 \pm 4\%$  de umidade relativa. O exame macroscópico dos sintomas e sinais foi feito todos os dias. Após o desenvolvimento dos sintomas, amostras de tecidos infectados foram examinadas sob microscopia óptica para confirmar a presença do patógeno inoculado, cumprindo-se assim os postulados de Koch.

O período de incubação do fungo para cada hospedeiro avaliado foi registrado nos dois testes de patogenicidade. No segundo teste, além do período de incubação, foi avaliado também a severidade da doença aos 15 dias após a inoculação, com base em uma escala descritiva de severidade de sintomas, segundo classes, variando de 0 a 4, sendo 0 = ausência de sintomas; 1 = presença de pequenas lesões (2 cm), cobrindo até 2% da área foliar avaliada; 2 = lesões maiores (> 2 cm), cobrindo até 5% da área foliar avaliada; 3 = lesões coalescidas, cobrindo de 5 a 25% da área foliar avaliada; e 4 = lesões grandes (> 4 cm), cobrindo mais que 25% da área foliar avaliada (CARDOSO *et al.*, 2006).

Tabela 7 - Espécies de *Erysiphe*, número dos espécimes, planta hospedeira, país de origem, e número de acesso GenBank das sequências usadas no estudo filogenético

Espécie	Espécime	Hospedeiro	Origem	Número de acesso		Ref.
				ITS	28S	
<i>E. quercicola</i>	VPRI30172	<i>Citrus limon</i>	Indonésia	AB237791	AB237818	1
<i>E. quercicola</i>	VPRI30173	<i>Citrus reticulata</i>	Indonésia	AB237792	AB237819	1
<i>E. quercicola</i>	MUMH 3210	<i>Citrus sinensis</i>	Malásia	AB237793	AB237820	1
<i>E. quercicola</i>	MUMH 3188	<i>Mangifera indica</i>	Argentina	AB237794	AB237821	1
<i>E. quercicola</i>	MUMH2419	<i>Hevea brasiliensis</i>	Brasil	AB193607	AB197134	1
<i>E. quercicola</i>	MUMH3165	<i>Bixa orellana</i>	Argentina	AB237787	AB237815	1
<i>E. quercicola</i>	MUMH 124	<i>Quercus phillyraeoides</i>	Japão	AB193590	AB197135	1
<i>E. quercicola</i>	MUMH2546	<i>Acacia auriculiformis</i>	Malásia	AB237803	AB237830	1
<i>E. quercicola</i>	VPRI20907	<i>Acacia mangium</i>	Austrália	AB237808	AB237833	1
<i>E. quercicola</i>	-	<i>Anacardium occidentale</i>	Brasil	KY172852	-	2
<i>E. quercicola</i>	-	<i>Quercus robur</i>	Brasil	KT714236	-	3
<i>E. quercicola</i>	LGM-005	<i>Delonix regia</i>	Brasil	JQ034229	-	4
<i>E. quercicola</i>	-	<i>Cinnamomum camphora</i>	Brasil	MF183968	-	5
<i>E. alphitoides</i>	VPRI20379	<i>Mangifera indica</i>	Austrália	AB237799	AB237826	6
<i>E. necator</i>	MUMH 530	<i>Vitis vinifera</i>	Japão	LC028996	LC028996	7
<i>E. necator</i>	MUMH s141	<i>Vitis coignetiae</i>	Japão	LC028995	LC028995	7
<i>E. baliensis</i>	MUMH 5705	<i>Gliricidia sepium</i>	Indonésia	LC060726	LC060726	6
<i>E. hypogena</i>	MUMH 900	<i>Quercus acutissima</i>	Japão	AB292727	AB292727	8
<i>E. epigena</i>	MUMH 1958	<i>Quercus variabilis</i>	Japão	AB292719	AB292719	8
<i>E. sedi</i>	MUMH 2575	<i>Sedum aizoon</i>	Rússia	LC010045	LC010045	1
<i>E. thaxteri</i>	MUMH 2465	<i>Berberis darwinii</i>	Argentina	LC010017	LC010017	1
<i>E. limonii</i>	MUMH 2568	<i>Limonium platyphyllum</i>	Ucrânia	LC010039	LC010039	1
<i>E. australiana</i>	LPF 665	<i>Lagerstroemia speciosa</i>	Brasil	KT941419	KT941421	9

Fonte: elaborada pelo autor.

Dados perdidos = -; Ref. (referências dos acessos utilizados no estudo filogenético): 1 - Takamatsu *et al.* (2015a); 2 - Cardoso *et al.* (2017); 3 - Piveta *et al.* (2018); 4 - Dallagnol *et al.* (2012); 5 - Dorneles *et al.* (2018); 6 - Siahhaan *et al.* (2016); 7 - Takamatsu *et al.* (2015b); 8 - Takamatsu *et al.* (2007); 9 - Fonseca *et al.* (2016).

## Resultados

### *Caracterização morfológica dos espécimes*

Nos levantamentos realizados os sintomas foram caracterizados por intenso crescimento micelial e esporulação nas folhas e hastes de urucuzeiro e sombreiro, bem como, em folhas novas e inflorescências de cajueiro e mangueira. A caracterização morfológica dos espécimes do oídio nestes hospedeiros foi efetuada com base nos conidióforos e conídios (Tabela 8). As características morfológicas destes espécimes eram típicas do gênero *Erysiphe*, de acordo com a descrição de Braun e Cook (2012).

As hifas do fungo eram hialinas, septadas e ramificadas com conidióforos eretos com conídios no ápice (Figura 8e, f). Célula basal do conidióforo cilíndrica medindo 16,7 a 36,6 µm de comprimento por 5,6 a 8,8 µm de largura, seguida por 1-2 células mais curtas (Figura 8 f; Tabela 8). Os conídios eram em forma de elipsoide, com ápice arredondado e base truncada, sem corpos fibrosos e medindo 21,2 a 37,9 µm de comprimento por 10,9 a 21,8 µm de largura, com relação comprimento / largura de 1,3 a 2,6 (Tabela 8). Apressórios no micélio eram lobados. Casmotécios não foram encontrados.

### *Análises filogenéticas*

As análises filogenéticas de treze espécimes amostrados foram realizadas para a identificação do fungo a nível de espécie. Após a construção da árvore filogenética mais parcimoniosa (comprimento = 141, IC = 0,7865, RI = 0,8662, RC = 0,7495) obtida a partir do conjunto de dados combinados de sequências ITS e 28S do rDNA, os espécimes obtidos nos diferentes hospedeiros estudados agruparam-se em um clado com espécimes de *E. quercicola* com 99% de sustentação de bootstrap (Figura 9). Com base nestas informações morfológicas e moleculares, identificou-se a espécie *E. quercicola* como fungo agente causal do oídio nestes hospedeiros.

### *Patogenicidade*

Nos testes de patogenicidade realizados, sintomas e sinais do fungo semelhantes aos encontrados em tecidos naturalmente infectados com *E. quercicola* foram observados em mudas de cajueiro (Figura 8a), urucuzeiro (Figura 8b), sombreiro (Figura 8c) e mangueira



(Figura 8d) aos cinco dias após a inoculação. As plantas não inoculadas permaneceram assintomáticas.

Tabela 8 - Características morfológicas dos espécimes de oídio coletados em plantas tropicais no ecossistema do oídio do cajueiro

No. de acesso herbário	Hospedeiro	Conídios		Célula basal do conidióforo
		C x L (µm)	C / L (µm)	C x L (µm)
OID101	Cajueiro	22,4-34,1 x 10,9-19,1	1,6-2,4	20,5-33,7 x 6,6-7,8
OID104	Cajueiro	21,2-37,3 x 11,5-20,4	1,4-2,6	19,2-36,6 x 5,9-7,7
OID111	Cajueiro	21,5-32,1 x 12,4-16,5	1,5-2,4	22,2-29,2 x 6,5-7,9
OID148	Cajueiro	22,4-31,8 x 10,9-18,5	1,6-2,4	19,4-36,2 x 6,3-7,5
OID157	Cajueiro	25,5-32,0 x 13,4-18,3	1,6-2,3	21,4-34,1 x 6,7-7,8
OID116	Urucuzeiro	22,7-33,9 x 13,4-21,5	1,3-2,0	19,1-35,1 x 6,3-7,8
OID156	Urucuzeiro	22,3-32,1 x 12,6-19,2	1,4-2,5	20,1-34,6 x 6,4-7,8
OID163	Urucuzeiro	20,5-32,9 x 12,4-18,7	1,3-2,5	19,7-34,0 x 6,2-7,7
OID01	Sombreiro	23,9-37,1 x 13,3-17,4	1,6-2,2	17,8-30,2 x 6,1-8,6
OID125	Sombreiro	25,0-37,9 x 13,4-17,0	1,7-2,6	16,9-30,5 x 5,6-8,7
OID128	Sombreiro	24,4-39,8 x 13,3-19,4	1,9-2,1	16,7-32,4 x 5,7-8,8
OID147	Mangueira	25,7-35,7 x 13,7-19,2	1,5-2,4	20,7-33,1 x 6,3-7,9
OID155	Mangueira	25,3-34,6 x 13,1-21,8	1,3-2,1	20,3-35,7 x 6,5-8,0
<b>Braun e Cook (2012) <sup>(1)</sup></b>	-	<b>25,0-40,0 x 12,0-22,0</b>	<b>1,5-2,3</b>	<b>20,0-40,0 x 7,0-11</b>

Fonte: elaborada pelo autor.

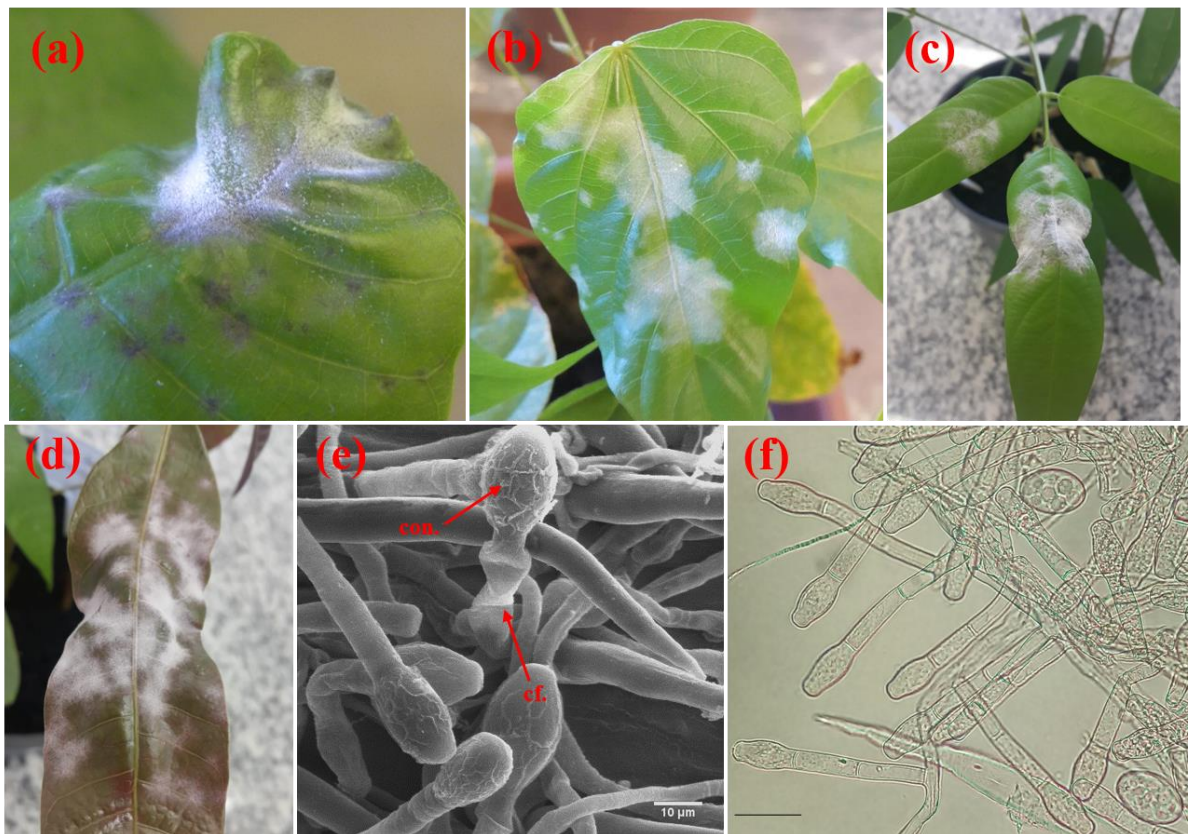
(1) Referência para as características morfológicas de *E. quercicola*. Abreviaturas: C: Comprimento; L: Largura; C/L: relação entre o comprimento e a largura dos conídios.

### ***Patogenicidade cruzada***

Os resultados do teste com inoculações cruzadas (Tabela 9) asseguram a patogenicidade de *E. quercicola* para todas as combinações avaliadas entre os hospedeiros alternativos, com período de incubação variando de 4 a 7 dias, em diferentes padrões de severidade aos 15 dias após a inoculação. Os hospedeiros urucuzeiro (severidade: ++++), sombreiro (severidade: +++) e mangueira (severidade: +++) foram altamente suscetíveis ao

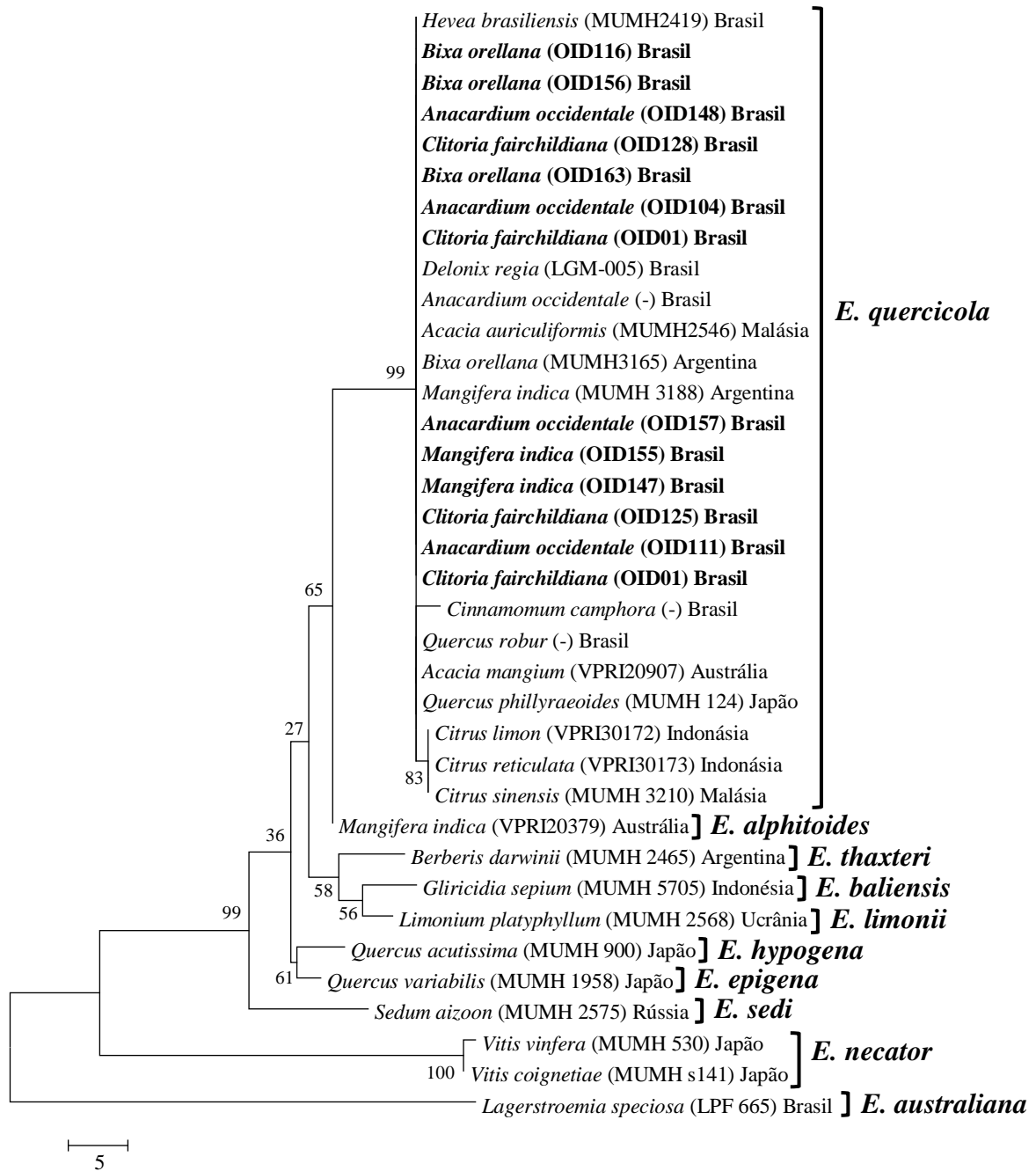
inóculo de cajueiro, com período de incubação variando de 4 a 6 dias. Ao mesmo tempo, os espécimes oriundos de urucuzeiro, sombreiro e mangueira infectaram mudas de cajueiro entre 4 a 6 dias, com severidades de +++, ++ e +++++, respectivamente. As menores severidades (++) foram observadas em cajueiro e mangueira, com inóculo de sombreiro; em mangueira com inóculo de urucuzeiro; e em sombreiro com inóculo de mangueira.

Figura 8 - (a-d) Sintomas de oídio em mudas de cajueiro, urucuzeiro, sombreiro e mangueira inoculadas com *E. quercicola*. (e) Microscopia eletrônica de varredura mostrando conidióforos (cf.) e conídios (con.) de *E. quercicola*. (f) Conidióforos e conídios de *E. quercicola* (barra de escala: 30  $\mu$ m).



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 9 - Árvore filogenética inferida por máxima parcimônia (MP) de dados combinados das regiões genômicas ITS e 28S do rDNA para espécies do gênero *Erysiphe*. Os valores de bootstrap com 1000 repetições são mostrados nos nós. *E. australiana* foi usado como grupo externo. Os espécimes obtidos nesse estudo são destacadas em negrito. Três espécimes não possuem códigos e são indicados por (-).



Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 9 - Inoculações cruzadas entre hospedeiros alternativos de *Erysiphe quercicola* no ecossistema oídio do cajueiro

Hospedeiros (fonte de inóculo)	Hospedeiro	Hospedeiros alternativos		
	Cajueiro	Urucuzeiro	Sombreiro	Mangueira
Período de incubação (dias)				
Cajueiro	4	4	4	6
Urucuzeiro	4	4	7	5
Sombreiro	6	5	4	6
Mangueira	6	5	7	5
Severidade <sup>(1)</sup>				
Cajueiro	++++	++++	+++	+++
Urucuzeiro	+++	++++	+++	++
Sombreiro	++	+++	++++	++
Mangueira	++++	++++	++	++++

Fonte: elaborada pelo autor.

(1) Notas de severidade aos 15 dias após a inoculação variando de 0 a 4: (-) nota 0, sem sintomas; (+) nota 1, presença de lesões cobrindo até 2% de área foliar avaliada; (++) nota 2, cobrindo de 2 a 5% de área foliar avaliada; (+++) nota 3, cobrindo de 5 a 25% de área foliar avaliada; (++++) nota 4, cobrindo mais que 25% de área foliar avaliada.

## Discussão

As características morfológicas, filogenéticas e os testes de patogenicidade revelaram que o fungo agente causal do oídio em cajueiro, urucuzeiro, sombreiro e mangueira é o fungo *Erysiphe quercicola*. Esta ocorrência confirma os relatos feitos recentemente sobre a ocorrência desta espécie causando oídio em urucuzeiro e sombreiro no Brasil (FONSECA *et al.*, 2019, Capítulo II desta Tese). Este é o primeiro relato de *E. quercicola* em mangueira. Embora *O. mangiferae* Berthet (BERTHET, 1914) em mangueira, sinônimo de *E. quercicola* conforme Braun e Cook (2012), tenha sido relatada no Brasil, nenhuma caracterização morfológica, molecular e patogênica do agente etiológico do oídio neste hospedeiro foi realizada até o presente estudo. Em outros países, a ocorrência de *E. quercicola* já foi relatada em mangueira, como na Argentina, Austrália, Espanha e Tailândia (DESPREZ-LOUSTAU *et al.*, 2017; TAKAMATSU *et al.*, 2018). Nos últimos anos, novos hospedeiros de *E. quercicola*

já foram relatados como cajueiro, flamboyant (*Delonix regia*), seringueira (*Hevea brasiliensis*), cânfora (*Cinnamomum camphora*) e carvalho (*Quercus robur*) no Brasil (CARDOSO *et al.*, 2017; DALLAGNOL *et al.*, 2012; LIMKAISANG *et al.*, 2005; PIVETA *et al.*, 2018; DORNELES *et al.*, 2018).

A caracterização do agente etiológico do oídio neste estudo, revela que *E. quercicola* amplia sua lista de hospedeiros no Brasil para mangueira. Testes de patogenicidade com inoculações cruzadas foram realizadas para investigar a existência de hospedeiros alternativos do fungo que causa oídio em cajueiro. Os resultados do teste de inoculações cruzadas evidenciam que urucuzeiro, sombreiro e mangueira podem servir como hospedeiros alternativos de *E. quercicola* e fonte de inóculo para o oídio do cajueiro em pomares estabelecidos próximos a áreas com a presença de tais plantas. Consequentemente, esses hospedeiros apresentam envolvimento com as epidemias do oídio do cajueiro verificadas nos últimos anos.

As informações observadas nos testes de inoculações cruzadas sugerem uma possível causa da recente introdução de *E. quercicola* causando oídio em cajueiro no Brasil (CARDOSO *et al.*, 2017), uma vez que os sintomas da doença que se limitavam apenas às folhas maduras de cajueiro até o ano de 2006 (FREIRE *et al.*, 2002), passaram a se manifestar também em folhas e brotações novas, inflorescências, maturis, frutos maduros e pedúnculos em todas as regiões produtoras do Nordeste (CARDOSO *et al.*, 2013). A capacidade de espécimes de oídios de hospedeiros alternativos em causar infecção no cajueiro (Tabela 9), levanta a importante hipótese de que esta poderia ter sido a causa principal da origem primária das epidemias em cajueiro no Brasil.

Este trabalho evidenciou, por meio da caracterização morfológica, molecular e patogênica, a possível participação dos hospedeiros alternativos de *E. quercicola* na ocorrência de epidemias do oídio do cajueiro no Nordeste brasileiro, além de identificar pela primeira vez a ocorrência deste patógeno em mangueira no Brasil. Trabalhos subsequentes, visando ampliar a lista de hospedeiros alternativos do oídio do cajueiro, devem ser conduzidos, a fim de que uma completa relação possa ser alcançada.

## 6 CONCLUSÕES FINAIS

Com base na morfologia, na filogenia e na patogenicidade, duas espécies são associadas ao oídio do cajueiro: *Erysiphe quercicola* que infecta tecidos jovens imaturos como folhas novas, flores e frutos jovens; e *Erysiphe necator* que infecta tecidos foliares maduros e sombreados.

Este é o primeiro relato sobre a ocorrência tanto de *E. quercicola* quanto de *E. necator* causando oídio em cajueiro e a primeira detecção de *E. necator* nesta planta hospedeira.

Os testes de patogenicidade cruzada evidenciam que *E. necator* em condições de baixa luminosidade infecta também tecidos foliares jovens.

Por meio de estudos morfológicos, moleculares e patogenicidade, o urucuzeiro, o sombreiro e a mangueira são hospedeiros alternativos inéditos de *E. quercicola* no Brasil.

Os testes de inoculação cruzada evidenciam a possibilidade de envolvimento do urucuzeiro, sombreiro e mangueira como fonte primária de inóculo do oídio do cajueiro.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho contribuem não somente para o avanço do conhecimento da biodiversidade de *Erysiphe* spp. em cajueiro, mas também para subsidiar o desenvolvimento de futuros estudos sobre controle dessa doença. Por meio da combinação de dados morfológicos, moleculares e patogênicos foi possível elucidar dúvidas sobre correta etiologia do oídio do cajueiro. Com base nestas análises, as diferenças morfológicas e patogênicas do agente causal da doença que têm sido verificadas em cajueiro no Brasil, na realidade, tratava-se de duas diferentes espécies: *Erysiphe quercicola* que infecta tecidos jovens imaturos, como folhas, flores e frutos jovens; e *Erysiphe necator* que infecta tecidos foliares maduros e sombreados. Testes de patogenicidade cruzada em tecidos foliares jovens e maduros foram realizados em condições de baixa luminosidade. Ao passo que, os mesmos revelaram que *E. quercicola* infecta apenas tecidos foliares jovens, enquanto *E. necator* é capaz de infectar tecidos foliares jovens e maduros. Sugeriu-se por meio destes resultados que condições de luminosidade poderia ser o fator principal que afeta a não infecção de *E. necator* em tecidos foliares jovens em condições de campo. Novas pesquisas, portanto, seriam necessárias para elucidar essa hipótese.

Com base na combinação de dados morfológicos, moleculares e patogênicos foi possível a identificação inédita de urucuzeiro, sombreiro e mangueira como hospedeiros alternativos de *E. quercicola* na epidemiologia da doença em cajueiro. Trabalhos subsequentes, visando ampliar a lista de hospedeiros alternativos do oídio do cajueiro, devem ser conduzidos, a fim de que uma completa relação possa ser alcançada.

## REFERÊNCIAS

- ABF - ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA 2017 / Cleonice de Carvalho. **Caju**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2017. 88 p.
- AMANO, K. **Host range and geographical distribution of the powdery mildew fungi**. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1986.
- BAISWAR, P. NGACHAN, S. V.; RYMBAI, H.; CHANDRA, S. *Erysiphe quercicola*, a powdery mildew fungus on Khasi mandarin in North East India. **Australasian Plant Disease Notes**, Tokyo, v. 10, n. 1, p. 30, 2015.
- BERECZKY, Z.; PINTYE, A.; CSONTOS, P.; BRAUN, U.; KISS, L. Does the parasite follow its host? Occurrence of morphologically barely distinguishable powdery mildew anamorphs on *Oenothera* spp. in different parts of the world. **Mycoscience**, Tokyo, v. 56, n. 3, p. 267-272, 2015.
- BERTHET. *Oidium mangiferae*. **Boln Agric.** (São Paulo), v. 15, p. 818, 1914.
- BOITEUX, L. S.; REIS, A.; FONSECA, M. E. N.; LOURENÇO JR., V.; COSTA, A. F.; MELO, A. G.; BORGES, R. C. F. Powdery mildew caused by *Erysiphe heraclei*: a novel field disease of carrot (*Daucus carota*) in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 8, p. 1544, 2017.
- BOZZOLA, J. J.; RUSSELL, L. D. **Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists**. Jones & Bartlett Learning, 670 p. 1999.
- BRAINER, M. S. de C. P. **Cajucultura nordestina em recuperação**. Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – ETENE. Ano 3, Nº 54, novembro, 2018. Disponível em: <[https://www.bnb.gov.br/documents/80223/4141162/54\\_caju.pdf/95e65093-50e1-b48d-ab01-15f3a8f690b4](https://www.bnb.gov.br/documents/80223/4141162/54_caju.pdf/95e65093-50e1-b48d-ab01-15f3a8f690b4)>. Acesso em: 28 nov. 2019.
- BRAUN, U. A monograph of the Erysiphales (powdery mildews). **Beih Nova Hedwigia**, v. 89, p. 1-700, 1987.
- BRAUN, U. (2210–2232) Proposals to conserve the teleomorph-typified name *Blumeria* against the anamorph-typified name *Oidium* and twenty-two teleomorph-typified powdery mildew species names against competing anamorph-typified names (Ascomycota: Erysiphaceae). **Taxon**, Bratislava, v. 62, n. 6, p. 1328-1331, 2013.
- BRAUN, U.; COOK, R. T. A. Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews). **CBS Biodiversity Series**, n. 11, p. 497, 2012.
- BRAUN, U.; MEEBOON, J.; TAKAMATSU, S.; BLOMQUIST, C.; FERNÁNDEZ, P. S. P.; ROONEY-LATHAM, S.; MACEDO, D. M. Powdery mildew species on papaya - a story of confusion and hidden diversity. **Mycosphere**, v. 8, n. 9, p. 1403-1423, 2017.
- CARDOSO, J. E.; MARTINS, M. V. V.; FREIRE, F. C. O.; VIANA, F. M. P.; LIMA, J. S.; SILVA, L. G.; MELO, J. G. **An outbreak of cashew powdery mildew in Brazil**. 2014.



Disponível em:

<[http://www.apsnet.org/meetings/Documents/2014\\_meeting\\_abstracts/aps2014abO178.htm](http://www.apsnet.org/meetings/Documents/2014_meeting_abstracts/aps2014abO178.htm)>.

Acesso em: 28 jan. 2018.

CARDOSO, J. E.; MARTINS, M. V. V.; LIMA, J. S.; VIANA, F. M. P.; SILVA, L. G. C. **Controle químico do oídio do cajueiro**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 4p. (Comunicado Técnico, 196).

CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. A.; BEZERRA, M. A.; SOUZA NETO, J.; SOUZA, R. N. M. **Epidemiologia do mofo preto e danos na produção do cajueiro**. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2005. 16p. (Boletim de Pesquisa, 23).

CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. A.; FREIRE, F. C. O.; VIANA, F. M. P.; VIDAL, J. C.; OLIVEIRA, J. N.; UCHOA, C. N. **Monitoramento de doenças na cultura do cajueiro**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 24p. (Documentos, 47).

CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre as doenças do cajueiro no Brasil. *In*: GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. (Eds.). **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas do Brasil**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011. p. 161-176.

CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O. **Doenças do cajueiro**. *In*: ARAÚJO, J. P. P. Agronegócio caju: práticas e inovações. Brasília: Embrapa, 2013. p. 217-236.

CARDOSO, J. E.; VIANA, F. M. P.; OOTANI, M. A.; MARTINS, M. V. V.; ARAÚJO, F. S. A. First report of *Erysiphe quercicola* causing powdery mildew on cashew in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 7, p. 1327-1328, 2017.

CASTELLANI, E., CASULI, F. Osservazioni preliminary su *Oidium anacardii* Noack agente del mal bianco dell'anacardio. **Revista di Agricoltura Subtropicale e Tropicale**, Piracicaba, v. 75, n. 2-3, p. 211-222, 1981.

CASULLI, F. Il mal bianco dell'anacardio in Tanzania. **Rivista Di Agricoltura Subtropicale e Tropicale**, Piracicaba, v. 73, p. 241-8, 1979.

CAVALCANTI, J. J. V.; BARROS, L. M., 2015. **Clones comerciais**. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/caju/arvore/CONT000field1lk02wyiv80z4s473j3bjo3y.html>>. Acesso em: 25 fev. 2019.

CAVALCANTI, J. J. V.; CARDOSO, J. E.; BARROS, L. M.; FELIPE, E. M. **Resistência genética de clone de cajueiro anão precoce às principais fitomoléstias**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. 15 p. (Boletim de Pesquisa, 34).

CAVALCANTI, J. J. V.; CRISOSTOMO, J. R.; BARROS, L. M.; PAIVA, J. R. **Avaliação de clones de cajueiro anão precoce na microrregião dos baixões agrícolas piauienses**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 1999. 15 p. (Boletim de Pesquisa, 24).

COUTINHO, I. B. L.; FREIRE, F. C. O.; LIMA, C. S.; LIMA, J. S.; GONCALVES, F. J. T.; MACHADO, A. R. A.; SILVA, M. S.; CARDOSO, J. E. Diversity of genus *Lasiodiplodia*

associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. **Plant Pathology**, Oxford, v. 66, p. 90-104, 2017.

CRISÓSTOMO, L. A.; SANTOS, F. J. S.; OLIVEIRA, V. H.; RAIJ, B. V.; BERNARDI, A. C. C.; SILVA, C. A.; SOARES, I. **Cultivo do cajueiro anão precoce: aspectos fitotécnicos com ênfase na adubação e irrigação**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. 20 p. (Circular Técnica, 08).

CRISÓSTOMO, L. A.; SANTOS, F. J. S.; OLIVEIRA, V. H.; RAIJ, B. van; BERNARDI, A. C. C.; SILVA, C. A.; SOARES, I. **Cultivo do cajueiro anão precoce: aspectos fitotécnicos com ênfase na adubação e irrigação**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 8 p. (Circular Técnica, 08).

DALLAGNOL, L. J.; CASTRO, F. R.; FRARE, G.; CAMARGO, L. E. A. First report of powdery mildew on flamboyant tree caused by *Erysiphe quercicola* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, p. 96, n. 4, p. 589, 2012.

DESPREZ-LOUSTAU, M. L.; MASSOT, M.; FEAU, N.; FORT, T.; VICENTE, A.; TORÉS, J. A.; ORTUNO, F. Further support of conspecificity of oak and mango powdery mildew and first report of *Erysiphe quercicola* and *Erysiphe alphitoides* on mango in Mainland Europe. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 101, n. 7, p. 1086-1093. 2017.

DORNELES, K. R.; DALLAGNOL, L. J.; RIVERA, J. F. First report of powdery mildew caused by *Erysiphe quercicola* on *Cinnamomum camphora* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 102, n. 4, p. 822, 2018.

FIGUEIREDO JUNIOR, H. S. Desafios para a cajucultura no Brasil: O comportamento da oferta e da demanda da castanha de caju. **Revista Econômica do Nordeste**, Fortaleza, v. 37, n. 4, p. 550-571, 2006.

FONSECA, N. R.; GUIMARÃES, L. M. S.; PIRES, R. P.; ALFENAS, A. C. *Erysiphe australiana*: the cause of powdery mildew on *Lagerstroemia speciosa* in Brazil. **Forest Pathology**, Oxford, v. 46, n. 4, p. 366-368, 2016.

FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; SANTOS, A. A.; VIANA, F. M. P. Diseases of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in Brazil. **Crop Protection**, Guildford, v. 21, n. 6, p. 489-494, 2002.

HALL T, 2012. BioEdit v7.2.5: **Biological sequence alignment editor for Win95/98/2K/XP/7**. Available at <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>. Accessed 13 September 2018.

HONORATO, T. B.; LIMA, J. S.; CARDOSO, J. E. **Caracterização morfofisiológica e sensibilidade de *Pseudoidium anacardii* a Fungicidas**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2016. (Boletim de Pesquisa, 119).

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Comissão Especial de Planejamento Controle e Avaliação das Estatísticas Agropecuárias**. Castanha de caju. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Rio de Janeiro, v. 21, n. 7, p. 35, 2013.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal: Culturas temporárias e permanentes – PAM**. Disponível em:

<<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9117-producao-agricola-municipal-culturas-temporarias-e-permanentes.html?&t=resultados>>. Acesso em 28 jan. 2018.

INTINI, M. Phytopathological aspects of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in Tanzania. **International Journal of Tropical Plant Diseases**, Wilmington, v. 5, n. 2, p. 115–130, 1987.

KIRSCHNER, R. First record of *Erysiphe magnifica* on lotus, a host outside the Magnoliales. **Mycological Progress**, Tokyo, v. 9, n. 3, p. 417-424, 2010.

KIRSCHNER, R.; LIU, W. A. Two new hosts of anamorphic *Erysiphe quercicola*: *Cinnamomum camphora* and *Murraya paniculata*. **Mycoscience**, Tokyo, v. 55, n. 3, p. 190-195, 2014.

KISS, L.; KHOSLA, K.; JANKOVICS, T.; SEIKO, N.; BRAUN, U.; TAKAMATSU, S. A morphologically ill-founded powdery mildew species, *Pleochaeta indica*, is recognized as a phylogenetic species based on the analysis of the nuclear ribosomal DNA sequences. **Mycological Research**, v. 110, n. 11, p. 1301-1308, 2006.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v. 33, n. 6, p. 1870-1874, 2016.

KUSABA, M.; TSUGE, T. Phylogeny of *Alternaria* fungi known to produce host-specific toxins on the basis of variation in internal transcribed spacers of ribosomal DNA. **Current Genetics**, Tokyo, v. 28, n. 5, p. 491-498, 1995.

LACAP, D. C.; HYDE, K. D.; LIEW, E. C. Y. An evaluation of the fungal morphotype concept based on ribosomal DNA sequences. **Fungal Diversity**, Kunning, v. 12, p. 53-66, 2003.

LIBERATO, J. R.; CUNNINGTON, J. H. First record of *Erysiphe aquilegiae* on a host outside the Ranunculaceae. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, 35, n. 2, p. 291-292, 2006.

LIMKAISANG, S.; CUNNINGTON, J. H.; WUI, L. K.; SALLEH, B.; SATO, Y.; DIVARANGKOON, R.; FANGFUK, W.; TO-ANUN, C.; TAKAMATSU, S. Molecular phylogenetic analyses reveal a close relationship between powdery mildew fungi on some tropical trees and *Erysiphe alphitoides*, an oak powdery mildew. **Mycoscience**, Tokyo, v. 47, n. 6, p. 327-335, 2006.

LIMKAISANG, S.; KOM-UN, S.; FURTADO, E. L.; LIEW, K. W.; SALLEH, Y. S.; TAKAMATSU, S. Molecular phylogenetic and morphological analysis of *O. heveae*, a powdery mildew of rubber tree. **Mycoscience**, Tokyo, v. 46, n. 4, 220-226, 2005.

MARTIN, P. J.; TOPPER, C. P.; BASHIRU, R. A.; BOMA, F.; DeWAAL, D.; HARRIES, H. C.; KASUGA, L. J.; KATANILA, N.; KIKOKA, L. P.; LAMBOLL, R.; MADDISON, A. C.; MAJULE, A. E.; MASAWA, P. A.; MILLANZI, K. J.; NATHANIELS, N. Q.; SHOMARI, S.

- H.; SIJAONA, M. E.; STATHERS, T. Cashew nut production in Tanzania: constraints and progress through integrated crop management. **Crop Protection**, Guildford, v. 16, n. 1, p. 5-14, 1997.
- MEEBOON, J.; TAKAMATSU, S. *Erysiphe viburni-plicati* and *Podosphaera photiniae*, two new species of Erysiphales (Ascomycota) from Japan. **Mycoscience**, Tokyo, v. 56, n. 1, p. 14-23, 2014.
- MEEBOON, J.; TAKAMATSU, S. Notes on powdery mildews (Erysiphales) in Japan: III. *Golovinomyces* and *Podosphaera*. **Mycoscience**, Tokyo, v. 56, n. 3, p. 243-251, 2015.
- MOREIRA, R. C.; CARDOSO, J. E.; LIMA, J. S.; SILVA, L. G. C. **Resistência de clones de cajueiro-comum à resinose**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 18 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento 58).
- MORI, Y.; SATO, Y.; TAKAMATSU, S. Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi (Erysiphales) using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. **Mycologia**, New York, v. 92, n. 1, p. 74-93, 2000.
- NASIR, M.; MUGHAL, S. M.; MUKHTAR, T.; AWAN, M. Z. Powdery mildew of mango: A review of ecology, biology, epidemiology and management. **Crop Protection**, Guildford, v. 64, p. 19-26, 2014.
- NOACK, F. *Oidium anacardii*. Bol. Instit. Agron. Estado São Paulo, Campinas, v. 9, n. 2, 77p. 1898.
- OLIVEIRA, T. S.; DALLAGNOL, L. J.; ARAUJO FILHO, J. V.; CASTRO MORETTI, F. R.; CAMARGO, L. E. A. First report of powdery mildew caused by *Erysiphe platani* on *Platanus × acerifolia* in Rio Grande do Sul, Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 99, n. 1, p. 157, 2015.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA - FAO. **Production**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 04 dez. 2019a.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA - FAO. **Trade**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/TP>>. Acesso em: 28 nov. 2019b.
- PINTO, O. R. O.; CARDOSO, J. E.; MAIA, A. H. N.; PINTO, C. M.; LIMA, J. S.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Reaction of commercial clones of cashew to powdery mildew in northeastern Brazil. **Crop Protection**, Guildford, v. 112, p. 282-287, 2018.
- PIVETA, G.; MARCOLIN, G.; GARCIA, F. A. O. First report of *Erysiphe quercicola* S. Takam. & U. Braun in *Quercus robur* Linnaeus in Brazil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 47, n. 1, p. 86-87, 2018.
- PROMPUTTHA, I.; JEEWON, S.; LUMYONG, S.; MCKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D. Ribosomal DNA fingerprint in the identification of non sporulating endophytes from *Magnolia lillifera* (Magnoliaceae). **Fungal Diversity**, Kunning, v. 20, n. 1, p. 167-186, 2005.

SERRANO, L. A. L.; MELO, D. S.; TANIGUCHI, C. A. K.; VIDAL NETO, F. C.; CAVALCANTE JÚNIOR, L. F. Porta-enxertos para a produção de mudas de cajueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 9, p. 1237-1245, 2013.

SIAHAAN, S. A. S.; KRAMADIBRATA, K.; HIDAYAT, I.; MEEBOON, J.; TAKAMATSU, S. *Erysiphe baliensis* and *E. sidae*, two new species of anamorphic *Erysiphe* (powdery mildew) from Indonesia. **Mycoscience**, Tokyo, v. 57, n. 1, p. 35-41, 2016.

SIJAONA, M. E. R. **Studies on aspects of cashew resistance to powdery mildew (*Oidium anacardii* Noack)**. 1997. 316 f. Tese (PhD in Plant Pathology). Department of Biological Sciences, Wye College, University of London, London, UK. 1997.

TAKAMATSU, S. Molecular phylogeny reveals phenotypic evolution of powdery mildews (Erysiphales, Ascomycota). **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 79, n. 4, p. 218-226, 2013.

TAKAMATSU, S.; ARAKAWA, H. I.; SHIROYA, Y.; KISS, L.; HELUTA, V. First comprehensive phylogenetic analysis of the genus *Erysiphe* (Erysiphales, Erysiphaceae) II: the *Uncinula* lineage. **Mycologia**, New York, v. 107, n. 3, p. 903-914, 2015b.

TAKAMATSU, S.; BRAUN, U.; LIMKAISANG, S.; KOM-UN, S.; SATO, Y.; CUNNINGTON, J. H. Phylogeny and taxonomy of the oak powdery mildew *Erysiphe alphitoides* sensu lato. **Mycological Research**, v. 111, n. 7, p. 809-826, 2007.

TAKAMATSU, S.; HIRATA, T.; SATO, Y. Phylogenetic analysis and predicted secondary structures of the rDNA internal transcribed spacers of the powdery mildew fungi (Erysiphaceae). **Mycoscience**, Tokyo, v. 39, n. 4, p. 441-453, 1998.

TAKAMATSU, S.; KANO, Y. PCR primers useful for nucleotide sequencing of rDNA of the powdery mildew fungi. **Mycoscience**, Tokyo, v. 42, n. 1, p. 135-139, 2001.

TAKAMATSU, S.; KATSUYAMA, S.; AND SHINODA, T. 2018. First record of *Erysiphe quercicola* (Ascomycota: Erysiphales) on species of *Quercus* subgenus *Cyclobalanopsis* (evergreen oaks, Fagaceae). **Mycoscience**, Tokyo, v. 59, n. 2, p. 105-109, 2018.

TAKAMATSU, S.; KISS, L.; HELUTA, V. First comprehensive phylogenetic analysis of the genus *Erysiphe* (Erysiphales, Erysiphaceae) I. The *Microsphaera* lineage. **Mycologia**, New York, v. 107, n. 3, p. 475-489, 2015a.

VIANA, F. M. P.; CARDOSO, J. E.; MARTINS, M. V. V.; FREIRE, F. C. O. Doenças do cajueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 37, n. 290, p. 34-46, 2016.

VIDAL, M. F. **Situação da cajucultura nordestina após a seca**. Banco do Nordeste, Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste, ano 1, n. 4, 2016. Disponível em: <[https://www.bnb.gov.br/documents/80223/2809571/22\\_cajucultura\\_12-2017\\_V3.pdf/cdde0738-0df4-ce6c-ed86-89c53ef7758e](https://www.bnb.gov.br/documents/80223/2809571/22_cajucultura_12-2017_V3.pdf/cdde0738-0df4-ce6c-ed86-89c53ef7758e)>. Acesso em 25 fev. 2019.

VIDAL, M. F. **Situação da cajucultura nordestina após a seca**. Banco do Nordeste, Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste, ano 1, n. 4, 2016. Disponível em:

<<https://www.bnb.gov.br/documents/80223/1362740/cajucultura.pdf/ab38a224-57d8-3bf7-242b-6666846b0d12>>. Acesso em 28 jan. 2018.

WHITE, T. J.; BRUNS, T. D.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal genes for phylogenetics. In: INNIS, M. A., GELFAND, D. H., SNINSKY, J. J., WHITE, T. J., eds. **PCR protocols: a guide to methods and applications**. California: Academic Press, p. 315-322, 1990.