

CÁSSIA CRISTINA CHAVES PINHEIRO

ETIOLOGIA DO MOFO CINZENTO EM FEIJOA NO BRASIL

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Gleiber Quintão Furtado

Coorientadora: Daiana Maria Queiroz Azevedo

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Pinheiro, Cássia Cristina Chaves, 1994-
P654e Etiologia do mofo cinzento em feijoa no Brasil / Cássia
2022 Cristina Chaves Pinheiro. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (55 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Gleiber Quintão Furtado.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Fitopatologia, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.107>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Acca sellowiana*. 2. Goiaba-serrana - Doenças e pragas.
3. Mofo-cinzento - Etiologia. 4. Espécie críptica. 5. *Botrytis
cinerea*. 6. *Botrytis pseudocinerea*. I. Furtado, Gleiber Quintão,
1974-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitopatologia. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia.
III. Título.

CDD 22. ed. 634.42


CÁSSIA CRISTINA CHAVES PINHEIRO

ETIOLOGIA DO MOFO CINZENTO EM FEIJOA NO BRASIL


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de maio de 2022.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 CASSIA CRISTINA CHAVES PINHEIRO
Data: 07/03/2024 06:03:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Cássia Cristina Chaves Pinheiro
Autor

Documento assinado digitalmente
 GLEIBER QUINTAO FURTADO
Data: 06/03/2024 15:37:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Gleiber Quintão Furtado
Orientador

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus por me conceder uma vida abençoada e por sempre me guiar mansamente nos momentos difíceis.

À minha família, em especial, aos meus pais, Kátia e Júlio, às minhas primas, Gisele e Márcia, por sempre apoiarem as minhas escolhas, me proporcionando forças que, sem elas, não seria possível chegar até aqui.

À Karoliny Alves, Waldiney Xavier, Leidiane Araújo, Rhandara Moura e Victor Bezerra, pela amizade cativada desde os tempos da graduação e que se estendeu até aqui.

À Karoline Mendes, por sua amizade e companheirismo. Por contribuir de forma direta na realização e desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, em especial ao Mateus Durso, Priscila Andrade e Willian Marlon, pela amizade firmada, pela alegria e a tristeza que vivenciamos juntos.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Gleiber Quintão Furtado. Sempre gentil e disposto em me auxiliar, contribuindo para a realização deste trabalho. Obrigada pela orientação, dedicação, apoio, compreensão e ensinamentos.

À minha coorientadora, D. Sc. Daiana Azevedo, pela amizade e apoio desde o início deste estudo, fazendo apontamentos e sugestões necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos colegas da Clínica de Doença de Plantas, em especial a D. Sc Débora Guterres e a Nívia Maria, pela disponibilidade e contribuições que foram essenciais para minha pesquisa.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia (DFP) pela oportunidade de conhecimento concebida, no âmbito profissional e pessoal.

À FAPEMIG pelo apoio financeiro e ao CNPq pela bolsa de estudo.

Agradeço à Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI, em especial ao Leonardo Araújo, pela parceria no projeto de pesquisa, gentileza e o apoio constante. Um exemplo a ser seguido!

Por fim, agradeço aos membros da banca examinadora pelas contribuições e ensinamentos, agradeço a todos aqueles que colaboraram direta ou indiretamente na realização deste trabalho e que torceram por mim.

RESUMO

PINHEIRO, Cássia Cristina Chaves, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2022. **Etiologia do mofo cinzento em feijoa no Brasil**. Orientador: Gleiber Quintão Furtado. Coorientadora: Daiana Maria Queiroz Azevedo.

Acca sellowiana (Myrtaceae), também conhecida como feijoa, é uma espécie frutífera nativa do Brasil e Uruguai. A produção comercial da feijoa no Brasil ainda é impactada pela sua suscetibilidade a doenças, como por exemplo o mofo cinzento em flores e frutos. Com intuito de avaliar a etiologia do mofo cinzento em feijoa no Brasil, 14 isolados de *Botrytis* foram obtidos a partir de flores sintomáticas entre 2020 e 2021. Foi determinado, por meio de análises filogenéticas dos genes gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (G3PDH), proteína de choque térmico 60 (HSP60) e RNA polimerase dependente de DNA subunidade II (RPB2) e caracterização morfológicas, que nove isolados pertenceram a espécie *Botrytis cinerea* e cinco a *Botrytis pseudocinerea*. Para confirmação da patogencidade das espécies de *Botrytis*, dois isolados de cada espécie foram inoculados em flores e frutos das cultivares Helena, Mattos, Nonante, Alcântara e Pierre. A inoculações em flores foram realizadas em pomares, por isso devido as condições climáticas extremas, não foram observados sintomas. Os isolados de *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* foram aptos a causar sintomas em frutos das diferentes cultivares de feijoa, com agressividade das espécies fúngicas variando em função da cultivares. Por meio de inoculações foi demonstrado que flores de violeta e frutos de maçã, pera, kiwi e goiaba são potenciais órgãos hospedeiros de *B. pseudocinerea*. Este é o primeiro relato de ocorrência das espécies *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* de forma simpátrica em pomares de feijoa no mundo. A definição da etiologia da doença mofo cinzento em feijoa proporcionará o aprimoramento das estratégias de manejo.

Palavras-chave: gama de hospedeiros, espécies crípticas, *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*.

ABSTRACT

PINHEIRO, Cássia Cristina Chaves, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2022. **Etiology of feijoa gray mold in Brazil**. Advisor: Gleiber Quintão Furtado. Co-advisor: Daiana Maria Queiroz Azevedo.

Acca sellowiana (Myrtaceae), also known as feijoa, is a fruit species native to Brazil and Uruguay. Commercial production of feijoa in Brazil is still impacted by its susceptibility to diseases, such as gray mold on flowers and fruits. In order to evaluate the etiology of feijoa gray mold in Brazil, 14 isolates of *Botrytis* were obtained from symptomatic flowers between 2020 and 2021. It was determined, through phylogenetic analyzes of the genes Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH), Heat shock protein 60 (HSP60) and RNA polymerase II gene (RPB2) and morphological characterization, that nine isolates belonged to *Botrytis cinerea* and five to *Botrytis pseudocinerea*. To confirm the pathogenicity of *Botrytis* species, two isolates of each species were inoculated into flowers and fruits of cultivars Helena, Mattos, Nonante, Alcântara and Pierre. Flower inoculations were carried out in orchards, so due to extreme weather conditions, no symptoms were observed. The isolates of *B. cinerea* and *B. pseudocinerea* were able to cause symptoms on fruits of different feijoa cultivars, with aggressiveness of the fungal species varying in function of the cultivars. Through inoculations, it was demonstrated that violet flowers and apple, pear, kiwi and guava fruits are potential host organs for *B. pseudocinerea*. This is the first report of the occurrence of the species *B. cinerea* and *B. pseudocinerea* in sympatry in orchards of feijoa in the world. These findings on the etiology of gray mold in feijoa will be useful to improve disease management strategies.

Keywords: Host range, cryptic species, *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	7
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
CAPÍTULO I.....	14
INTRODUÇÃO.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
Obtenção dos isolados	17
Extração de DNA, PCR e sequenciamento	17
Análises filogenéticas	18
Caracterização morfológica dos isolados	19
Teste de patogenicidade	20
Teste de gama de hospedeiros	21
RESULTADOS.....	22
Análises filogenéticas	22
Caraterização morfológica.....	23
Teste de patogenicidade	25
Teste de gama de hospedeiros	26
DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÕES.....	30
AGRADECIMENTO	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

INTRODUÇÃO GERAL

Acca sellowiana (Berg.) Burret (= *Feijoa sellowiana* Berg), comumente chamada de feijoa, goiabeira-serrana, goiaba do mato e araçá do rio grande, é uma espécie que pertence à família Myrtaceae, a qual abriga diferentes frutíferas distribuídas em 121 gêneros (Farias et al., 2020; Mattos, 1986).

A feijoa ocorre naturalmente em remanescentes florestais e em campos de altitude nos planaltos do Sul do Brasil e Nordeste do Uruguai (Parra-Coronado e Fischer, 2013). No Brasil, ela apresenta uma boa adaptabilidade a condições de clima frio, ocorrendo com maior frequência em áreas com altitudes superiores a 900 metros (Wagner et al., 2020). Entretanto, a espécie foi introduzida em ambientes diferentes daqueles em que ocorrem naturalmente (Moretto et al., 2014), a exemplo Colômbia e Nova Zelândia. Nesses países, a feijoa é amplamente cultivada devido a existência de clones com características físico-químicas adequadas ao mercado consumidor (Schotsmans et al., 2011).

A planta possui crescimento perenifólio, tronco ramificado e pode atingir entre dois a seis metros de altura. Seu fruto é classificado como pseudofruto do tipo pomo, com comportamento climatérico, e se assemelha em aparência, tamanho e textura ao da goiabeira (*Psidium guajava*). Entretanto, é bastante aromático e possui sabor ácido adocicado singular. Tais características contribuíram para sua comercialização em diversas regiões do mundo. E em relação ao seu consumo, ele pode ser *in natura* ou como base para alimentos processados (Amarante e Santos, 2011).

Os frutos também apresentam propriedades nutraceuticas relacionadas à ação antitumoral, antioxidante, hepatoprotetora e gastroprotetora (Karami et al., 2013; Monforte et al., 2014), além de importante fonte de vitamina C (Amarante et al., 2017) e minerais (Amarante et al., 2018). Adicionalmente, devido à arquitetura da copa e beleza de suas flores, a feijoa apresenta forte potencial para uso ornamental e paisagístico. A espécie também tem sido recomendada para restauração de ecossistemas degradados devido a atratividade dos seus frutos e flores para a fauna (Amarante et al., 2017).

Apesar da feijoa ser nativa e ter um considerável potencial econômico, o cultivo comercial no Brasil é recente e só foi possível a partir da domesticação

da espécie (Moretto et al., 2014). Dessa forma, atualmente, o Brasil é importador de feijoa da Colômbia (Nava et al., 2016).

A produção comercial da feijoa no Brasil ainda é impactada pela sua suscetibilidade a doenças e, principalmente, devido à ausência de um manejo consolidado para as principais doenças. Sendo assim, usualmente, o controle de doenças baseia-se em produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para doenças similares que ocorrem em plantas perenes, incluindo fruteiras de clima temperado (Araújo e Pinto, 2018), pois não existem produtos registados para essa cultura. No Brasil, dentre os principais patógenos que podem acometer a cultura da feijoa, destacam-se os fungos *Colletotrichum* spp. (Andrade e Ducroquet, 1993; Lopes, 2013), *Phyllachora feijoeae* (Costa et al., 2012), *Botrytis cinerea* (Santos et al., 2012) e *Botrytis pseudocinerea* (Azevedo et al., 2020).

As espécies de *Botrytis* são necrotróficas, cosmopolitas e causam doenças economicamente importantes em cerca de 600 gêneros de plantas, compreendendo mais de 1.400 espécies de plantas hospedeiras monocotiledôneas e dicotiledôneas (Elad et al. 2016). Dessa forma, podem infectar frutíferas, hortícolas, ornamentais (Dean et al., 2012) e espécies florestais como eucalipto (Alfenas et al., 2009). Os sintomas podem ser expressos na forma de deterioração de flores, apodrecimento de frutos e brotos, manchas foliares, tombamento em plântulas, cancrios em caules, pecíolos e hastes, bem como podridões, sendo mais destrutivo em tecidos maduros ou senescentes (Staats et al., 2005; Tofoli et al., 2011; Fillinger e Elad, 2016).

Geralmente, *Botrytis* spp. produzem uma grande quantidade de micélio acinzentado, formados por hifas e conidióforos ramificados, possuindo no ápice conídios unicelulares, ovoides, incolores ou acinzentados. Além disso, essas espécies podem produzir estruturas de sobrevivência compactas, irregulares e de coloração negra denominadas escleródios, em tecidos da planta infectados ou mortos pelo patógeno (Tofoli et al., 2011). Os escleródios são capazes de produzir hifas infectivas e conídios, que podem penetrar através da superfície intacta do hospedeiro. Em condições específicas, o escleródio pode produzir apotécio dos quais se originam esporos sexuais, os ascósporos (Töfoli et al., 2011; Hahn, 2014).

Desde a descrição inicial do gênero em 1729, 38 espécies filogenéticas foram reconhecidas em *Botrytis* (Yohalem et al., 2003; Staats et al., 2005 ; O'Gorman et al., 2008; Zhang et al., 2010, 2016; Walker et al., 2011; Li et al., 2012; Zhou et al., 2014; Ferrada et al., 2016; Liu et al., 2016; Saito et al., 2016; Garfinkel et al., 2017; Rupp et al., 2017; Harper et al., 2019). Dentre elas, a espécie *Botrytis cinerea* foi determinada a espécie-tipo do gênero (Garfinkel, 2021)

Botrytis cinerea possui uma significativa diversidade genética e diversos estudos mostraram que esse fungo existe dentro de um complexo de espécies morfológicamente crípticas (Complexo de Espécies *Botrytis cinerea* – CEBC) (Walker et al., 2011). Além de *B. cinerea*, dentro do complexo foram descritas mais quatro espécies crípticas, *B. pseudocinerea*, em uvas na França (Walker et al., 2011), *B. sinoviticola*, em uvas na China (Zhou et al., 2014), *B. californica*, em uvas e mirtilos na Califórnia (Saito et al., 2016), e *B. medusae* em uvas para vinho na Austrália (Harper et al., 2019). As espécies que compõem o complexo possuem características morfológicas semelhantes e ocorrem em simpatria. Por outro lado, elas podem diferir em relação à ecologia, preferências de hospedeiro e em seu perfil de resistência a fungicidas, sendo *B. cinerea* mais vulnerável ao desenvolvimento de resistência (Walker, 2016).

Diante das similaridades biológicas e morfológicas entre diversas espécies de *Botrytis*, a identificação em nível de espécie vem sendo determinada a partir de abordagem polifásica. Em relação as análises filogenéticas, os genes codificadores de proteínas gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (G3PDH), proteína de choque térmico 60 (HSP60) e subunidade II da polimerase de RNA dependente de DNA (RPB2) têm sido os mais eficientes para delimitação e separação das espécies (Staats et al., 2005).

Com base no exposto, o presente estudo teve como objetivo reavaliar a etiologia do mofo cinzento em feijoa no Brasil. Para isso, ao longo dos anos de 2021 e 2022, isolados de *Botrytis* foram obtidos a partir de flores sintomáticas no estado de Santa Catarina e identificados por meio de análise filogenética multilocus e morfológica com intuito do aprimoramento das estratégias de manejo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas, A. C., Zauza, E. A. V., Mafia, R. G., e De Assis, T. F. (2004) Clonagem e doenças do eucalipto. 500 p.
- Amarante, C. V. T. do, Souza, A. G., Benincá, T. D. T., e Steffens, C. A. (2017) Phenolic content and antioxidant activity of fruit of Brazilian genotypes of feijoa. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52(12), 1223–1230.
- Amarante, C. V. T., e Santos, K. L. dos. (2011) Goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(1), 0–0.
- Andrade, E.R.e Ducroquet, J.P.H.J (1993) Antracnose em goiaba serrana. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Cruz das Almas, v.15, n.2, p.7-10.
- Araújo, L. e Pinto, F.A.M.F (2018) Principais doenças e seu controle. In: Ciotta, M.N.; Arioli, C.J.; Pinto, F.A.M.F.; Santos, K.; Araújo, L. e Pasa, M.S. (Orgs.). A cultura da goiabeira-serrana. Florianópolis: Epagri, p.147-166.
- Azevedo, D. M. Q., Martins, S. D. S., Guterres, D. C., Martins, M. D., Araújo, L., Guimarães, L. M. S., Alfenas, A. C., e Furtado, G. Q. (2020). Diversity, prevalence and phylogenetic positioning of *Botrytis* species in Brazil. *Fungal Biology*, 124(11), 940–957. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.08.002>
- Coradin, L., Siminski, A., e Reis, A (2011) Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – região Sul. Brasília: MMA.
- Costa, L. C, Macedo, D. M. e Barreto, R. W (2012) Reavaliação e neotipificação de *Phyllachora feijoeae*. *IMA Fungo* 3, 9-14. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2012.03.01.02>
- Dean, R., Van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., e Foster, G. D. (2012) The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology: Top 10 fungal pathogens. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- Elad, Y., e Fillinger, S. (Orgs.). (2016). *Botrytis*—The fungus, the pathogen and its management in agricultural systems (1st ed. 2016). Springer International Publishing: Imprint: Springer.
- Elad, Y., Pertot, I., Cotes Prado, A. M., e Stewart, A. (2016) Plant hosts of *Botrytis* spp. In S. Fillinger e Y. Elad (Orgs.), *Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (p. 413–486). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_20
- Farias, P. D., Neri-Numa, I. A., de Araújo, F. F., e Pastore, G. M. (2020) A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. *Food Chemistry*, 306, 125630.

Ferrada, E. E., Latorre, B. A., Zoffoli, J. P., e Castillo, A. (2016). Identification and characterization of *Botrytis blossom* blight of japanese plums caused by *Botrytis cinerea* and *B. Prunorum* sp. Nov. In Chile. *Phytopathology*, 106(2), 155–165. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-15-0143-R>

Garfinkel, A. R. (2021). The history of *Botrytis* taxonomy, the rise of phylogenetics, and implications for species recognition. *Phytopathology*, 111(3), 437–454. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-20-0211-IA>

Garfinkel, A. R., Lorenzini, M., Zapparoli, G., e Chastagner, G. A. (2017) *Botrytis euroamericana*, a new species from peony and grape in north america and europe. *Mycologia*, 109(3), 495–507. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1354169>

Hahn, M. (2014) The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of Chemical Biology*, 7(4), 133–141. <https://doi.org/10.1007/s12154-014-0113-1>

Harper, L. A., Derbyshire, M. C., e Lopez-Ruiz, F. J. (2019) Identification and characterization of *Botrytis medusae*, a novel cryptic species causing grey mould on wine grapes in Australia. *Plant Pathology*, 68(5), 939–953. <https://doi.org/10.1111/ppa.13005>

Karami, M., Saeidnia, S., e Nosrati, A. (2013) Study of the hepatoprotective activity of methanolic extract of *Feijoa sellowiana* fruits against MDMA using the isolated rat liver perfusion system. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 12(1), 85.

Li, X., Kerrigan, J., Chai, W., e Schnabel, G. (2012). *Botrytis caroliniana*, a new species isolated from blackberry in South Carolina. *Mycologia*, 104(3), 650–658. <https://doi.org/10.3852/11-218>

Liu, Q., Li, G., Li, J., e Chen, S. (2016). *Botrytis eucalypti*, a novel species isolated from diseased Eucalyptus seedlings in South China. *Mycological Progress*, 15(10–11), 1057–1079. <https://doi.org/10.1007/s11557-016-1229-1>

Mattos, J. R. (1986). A goiabeira serrana. Instituto de Pesquisas de Recursos Naturais. Renováveis. 84p.

Monforte, M. T., Lanuzza, F., Mondello, F., Naccari, C., Pergolizzi, S., e Galati, E. M. (2014) Phytochemical composition and gastroprotective effect of *Feijoa sellowiana* Berg fruits from Sicily. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(1), 14-21. <https://doi.org/10.12980/JCLM.2.2014J12>

Moretto, S. P., Nodari, E. S., e Nodari, R. O. (2014) A introdução e os usos da feijoa ou goiabeira serrana (*Acca sellowiana*): A perspectiva da história ambiental. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, 3(2), 67. <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2014v3i2.p67-79>

Nava, G., Santos, K. L. dos, Costa, M. D., e Ciotta, M. N. (2016). Growth, mineral composition, fruit yield, and mycorrhizal colonization of feijoa in response to lime

and phosphorus application. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51(8), 942–949. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000800006>

O’Gorman, D. T., Sholberg, P. L., Stokes, S. C., e Ginns, J. (2008) DNA sequence analysis of herbarium specimens facilitates the revival of *Botrytis mali*, a postharvest pathogen of apple. *Mycologia*, 100(2), 227–235. <https://doi.org/10.1080/15572536.2008.11832478>

Parra-Coronado, A., e Fischer, G. (2013) Maduración y comportamiento poscosecha de la feijoa (*Acca sellowiana* (o. Berg) burret). Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(1), 98–110. <https://doi.org/10.17584/rcch.2013v7i1.2039>

Rupp, S., Plesken, C., Rumsey, S., Dowling, M., Schnabel, G., Weber, R. W. S., e Hahn, M. (2017) *Botrytis fragariae*, a new species causing gray mold on strawberries, shows high frequencies of specific and efflux-based fungicide resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(9), e00269-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00269-17>

Saito, S., Margosan, D., Michailides, T. J., e Xiao, C. L. (2016) *Botrytis californica*, a new cryptic species in the *B. cinerea* species complex causing gray mold in blueberries and table grapes. *Mycologia*, 108(2), 330–343. <https://doi.org/10.3852/15-165>

Schotsmans, W. C., East, A., Thorp, G., e Woolf, A. B. (2011) Feijoa (*Acca sellowiana* [berg] burret). In *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (p. 115–135e). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9780857092885.115>

Staats, M. (2005). Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular Biology and Evolution*, 22(2), 333–346. <https://doi.org/10.1093/molbev/msi020>

Töfoli, J. G., Ferrari, J. T., Domingues, R. J., e Nogueira, E. M. C. (2011). *Botrytis* sp. em espécies hortícolas: hospedeiros, sintomas e manejo. *Biológico*, São Paulo, 73(1), 11-20.

Wagner, M. de A., e Fiaschi, P. (2020) Myrtaceae from the Atlantic forest subtropical highlands of São Joaquim National Park (Santa catarina, brazil). *Rodriguésia*, 71, e04032017.

Walker, A. S. (2016) Diversity within and between species of *Botrytis*. In S. Fillinger e Y. Elad (Orgs.), *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems* (p. 91–125). *Springer International Publishing*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_6

Walker, A.-S., Gautier, A., Confais, J., Martinho, D., Viaud, M., Le Pêcheur, P., Dupont, J., e Fournier, E. (2011) *Botrytis pseudocinerea*, a new cryptic species causing gray mold in french vineyards in sympatry with *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 101(12), 1433–1445. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-11-0104>

Yohalem, D. S. (2003) Taxonomic and nomenclatural clarification of the onion neck rotting *Botrytis* species. *Mycotaxon*, 85, 175-182.

Zhang, J., Yang, H., Yu, Q. Y., Wu, M. D., Yang, L., Zhuang, W. Y., Chen, W. D., e Li, G. Q. (2016) *Botrytis pyriformis* sp. Nov., A novel and likely saprophytic species of *Botrytis*. *Mycologia*, 108(4), 682–696. <https://doi.org/10.3852/15-340>

Zhang, J., Zhang, L., Li, G.-Q., Yang, L., Jiang, D.-H., Zhuang, W.-Y., e Huang, H.-C. (2010) *Botrytis sinoallii*: A new species of the grey mould pathogen on *Allium* crops in China. *Mycoscience*, 51(6), 421–431. <https://doi.org/10.1007/S10267-010-0057-4>

Zhou, Y. J., Zhang, J., Wang, X. D., Yang, L., Jiang, D. H., Li, G. Q., Hsiang, T., e Zhuang, W. Y (2014). Morphological and phylogenetic identification of *Botrytis sinoviticola*, a novel cryptic species causing gray mold disease of table grapes (*Vitis vinifera*) in China. *Mycologia*, 106(1), 43–56. <https://doi.org/10.3852/13-032>

CAPÍTULO I
ETIOLOGIA DO MOFO CINZENTO EM FEIJOA NO BRASIL

INTRODUÇÃO

Acca sellowiana (Myrtaceae), comumente conhecida como feijoa, é uma espécie frutífera nativa do Brasil e Uruguai. A planta, com copa densa e baixa, pode atingir até quatro metros de altura. No Brasil, seu florescimento e amadurecimento de frutos ocorre, respectivamente, entre meses setembro-novembro e janeiro-março (Lorenzi, 1992; Moretto et al., 2014).

Os pomares comerciais de feijoa podem ser encontrados na região Sul do Brasil, Colômbia, França, Israel, Itália, Estados Unidos, Nova Zelândia e Rússia (Amarante e Santos, 2011). Atualmente, a Colômbia é considerado o país líder no ranking de exportação da fruta (Moretto et al., 2014).

No Brasil, o mofo cinzento em flores e frutos, causado por espécies de *Botrytis spp.*, ocorre com elevada frequência em pomares de feijoa. Os sintomas da doença em flores consistem em lesões escuras que atingem todo o órgão, tornando-os secos, mumificados e com coloração escura. Em frutos, a doença é observada em diferentes estádios fenológicos e também no armazenamento. Os sintomas iniciam-se geralmente a partir das sépalas podendo evoluir para toda a extensão do fruto (Araújo e Pinto, 2018).

Em relação a etiologia do mofo cinzento em feijoa, apesar da doença ter sido atribuída inicialmente a *B. cinerea*, atualmente é sabido que tal fungo é considerado uma espécie críptica do Complexo de Espécie *Botrytis cinerea* (CSBC). Portanto, o CSBC, além de *B. cinerea*, abriga também as espécies *B. pseudocinerea*, *B. sinoviticola*, *B. californica* e *B. medusae* (Walker et al., 2011; Zhou et al. 2014; Saito et al, 2016; Harper et al, 2019). Apesar destas espécies possuírem características morfológicas bastante similares, elas podem diferir em outros aspectos, como agressividade e resistência a fungicidas (Walker et al., 2011). Dessa forma, a identificação de *Botrytis* em nível de espécie torna-se importante especialmente para a determinação de estratégias de manejo, pois a biologia e epidemiologia das espécies são similares. Portanto, considerando o aumento do número de espécie de *Botrytis*, novas pesquisas tornam-se necessárias para aprimorar o manejo do mofo cinzento em sistemas agrícolas (Grafinkel, 2021).

Em relação a taxonomia molecular de *Botrytis*, a região ITS foi apta a confirmar a natureza monofilética do gênero e corroborar o relacionamento

genético entre o estágio sexual (*Botryotinia*) e assexual (*Botrytis*), embora se mostrou incapaz de separar as espécies devido a falta de loci informativos. No entanto, o marco para taxonomia de *Botrytis* veio com a validação dos genes housekeeping, *G3PDH*, *HSP60* e *RPB2*, os quais se apresentaram como filogeneticamente informativos (Staats et al., 2005).

Recentemente, em um estudo realizado com o intuito de avaliar a prevalência das espécies de *Botrytis* no Brasil, foi revelado que *B. cinerea* é a espécie predominante ao considerar diferentes hospedeiros e regiões geográficas, e que na população do patógeno existe uma considerável diversidade genética. Entretanto, dentre os 56 isolados caracterizados, um deles se diferenciou dos demais. O isolado obtido à partir de flor de feijoa com sintomas de mofo cinzento, foi identificado como pertencente à espécie *B. pseudocinerea*. O que consistiu no primeiro relato de ocorrência desta espécie no Brasil (Azevedo et al., 2020). Entretanto, apesar da identificação de *B. pseudocinerea* ter sido realizada por meio de técnicas acuradas, ela foi baseada em apenas um isolado do patógeno. Dessa forma, considerando a necessidade de reavaliar a etiologia do mofo cinzento em flores de feijoa no Brasil, os objetivos deste estudo foram: (i) realizar uma ampla amostragem de isolados de *Botrytis* e identificá-los por meio de análise filogenética e morfológica; (ii) realizar testes de patogenicidade dos isolados em flores e frutos de diferentes cultivares de feijoa; e (iii) avaliar os potenciais hospedeiros de *B. pseudocinerea* no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos isolados

Isolados de *Botrytis* foram obtidos, entre os anos de 2020 e 2021, a partir de isolamentos realizados em flores de feijoa sintomáticas, provenientes do banco ativo de germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI, localizada em São Joaquim, estado de Santa Catarina. Os isolados foram obtidos de forma indireta. Portanto, os conídios foram transferidos, em condições assépticas, para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata dextrose ágar).

Os isolados foram cultivados em meio BDA para obtenção de culturas monospóricas e, em seguida, as culturas obtidas foram armazenadas na coleção de cultura Octávio Almeida Drumont (COAD) localizada na Universidade Federal de Viçosa–UFV.

Extração de DNA, PCR e sequenciamento

Para a extração de DNA, culturas monospóricas foram repicadas para meio BD (batata dextrose) e armazenadas em câmara de crescimento sob temperatura de 20 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após três dias, o micélio foi seco em temperatura ambiente por 12 horas sobre papel filtro esterilizado.

A partir do micélio seco, o DNA genômico total de cada isolado foi extraído utilizando-se o Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega Corporation, WI, EUA), de acordo com o protocolo de extração do fabricante. A qualidade e a quantidade do DNA extraído foram estimadas utilizando o espectrofotômetro Nanovix e a concentração de DNA ajustada para 30 ng L⁻¹.

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi realizada utilizando as sequências parciais dos genes nucleares codificadores de gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (G3PDH), proteína de choque térmico 60 (HSP60) e RNA polimerase dependente de DNA subunidade II (RPB2) por meio dos pares de primers G3PDHfor / G3PDHrev, HSP60for / HSP60rev e RPB2for / RPB2rev, respectivamente (Staats et al., 2005). As reações e condições de amplificação foram procedidas conforme descrito por Staats et al. (2005), mas com temperaturas de anelamento de 55 °C para GAPDH, 54,3 °C para HSP60, e 49 °C para RPB2 (Ferrada et al., 2016). Os produtos de genes amplificados foram

confirmados por eletroforese em um gel de agarose a 2 %. Posteriormente, foram purificados e enviados para Macrogen Inc. (Seul, Coréia) para sequenciamento.

Análises filogenéticas

Para análises filogenéticas, sequências gênicas parciais de G3PDH, HSP60 e RPB2 dos 14 isolados de *Botrytis* coletados neste estudo e 118 táxons, representando 38 espécies reconhecidas de *Botrytis* foram incluídos no alinhamento. *Sclerotinia sclerotiorum* e *Monilinia fructigena* foram incluídos na análise filogenética como grupo externo (Tabela suplementar 1).

As sequências consenso foram montadas utilizando a versão gratuita do software DNA Dragon e posições ambíguas foram resolvidas manualmente, a partir da comparação das fitas senso e antisenso. A sequência consenso, representativa de cada isolado, foi utilizada para identificação preliminar através da ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLASTn) mantida pelo National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Alinhamentos individuais foram realizados para cada região gênica em estudo, usando a ferramenta MUSCLE (Edgar, 2004) implementado no programa Aliview (Larsson, 2014) e a qualidade do alinhamento foi corrigida manualmente. Os alinhamentos concatenados foram gerados por meio do software SequenceMatrix ver. 1.8 (Vaidya et al., 2011).

Reconstruções filogenéticas com base nos genes individuais e concatenados foram realizadas através de análises de Máxima Verossimilhança (Maximum Likelihood - ML), Inferência Bayesiana (BI) e de Máxima Parcimônia (MP).

As árvores geradas pela reconstrução de ML foram obtidas utilizando o método RAxML-HPC ver. 8.2.12 (Stamatakis, 2016), ferramenta implementada no portal CIPRES Science Gateway (Miller; Pfeiffer; Schwartz, 2010). A reamostragem de bootstrap foi definida para realizar 1000 bootstrap, buscando avaliar a estabilidade das árvores inferidas e definir a melhor árvore.

A análise de BI para reconstruir a árvore filogenética foi realizada empregando o método da cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC). O modelo de substituição de nucleotídeos que melhor representou os alinhamentos foi para G3PDH (SYM+I+G), HSP60 (GTR+I+G) e RPB2 (GTR+I+G). Os modelos foram

calculados utilizando o software MrModelTest v. 2.3 (Nylander, 2004) de acordo com Akaike Information Criterion (AIC).

Para BI, as análises filogenéticas dos alinhamentos individuais e concatenados, foram realizadas no portal CIPRES (Miller; Pfeiffer; Schwartz, 2010), usando MrBayes v.3.2.7a (Ronquist et al., 2012). As cadeias de Markov Monte Carlo (MCMC) foram executadas simultaneamente a partir de árvores aleatórias por 10.000.000 de gerações. As árvores foram amostradas a cada milésima geração para um total de 10.000 árvores.

Na análise de MP, a busca por topologias foi realizada por meio da utilização do programa MEGA X (Kumar et al., 2018). A robustez das árvores mais parcimoniosas foi avaliada por 1000 repetições de bootstrap resultantes da análise de MP, cada uma com 10 repetições de adição de taxa aleatória (Felsenstein, 1985). As árvores resultantes da ML, BI e MP foram visualizadas no software FigTree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) (Rambaut, 2018) e, posteriormente, foram editadas no programa CorelDRAW.

Caracterização morfológica dos isolados

Após a identificação filogenética, foi realizado a caracterização cultural e morfológica dos isolados. A caracterização de cultura foi baseada em observações das colônias dos isolados a partir do cultivo em placas de Petri (90 x 15 mm) contendo meio de cultura BDA. Um disco de micélio (5 mm) foi depositado na superfície do meio de cultura e incubados a $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, por sete dias. Para a caracterização morfológica das colônias, seguiu-se a terminologia de Crous et al. (2009), enquanto que para a terminologia de cores foi consultada a carta de cores de Rayner (1970).

Para caracterização de conídios e conidióforos, foram preparadas lâminas para microscopia dos isolados a partir da técnica de microcultivo, usando lactoglicerol incolor como líquido de montagem. Após seladas com esmalte incolor, as lâminas foram examinadas sob microscópio de luz, modelo Olympus BX51, e o registro fotográfico foi realizado através de uma câmera digital Olympus Q-COLOR3 acoplada ao microscópio. Foram avaliadas as dimensões de pelo menos de 50 conídios e 30 conidióforos. Para avaliação de formação de escleródios, os isolados foram cultivados em placas contendo meio BDA a 20

°C \pm 2 °C no escuro, por 40 dias. Após esse período, avaliou-se a forma e o tamanho de 50 escleródios. As características morfológicas dos isolados representativos de *Botrytis* foram comparadas com as descrições existentes na literatura.

Teste de patogenicidade

Para o teste de patogenicidade, isolados de duas espécies de *Botrytis* (COAD 3387, COAD 3394, COAD 3390 e COAD 3399), sendo dois de cada espécie, foram cultivados em meio BDA a 20 °C sob fotoperíodo de 12 h (claro/escuro) por 15 dias. As inoculações foram realizadas em flores e frutos de feijoa. Para a inoculação em flores, uma suspensão de conídios foi ajustada para 10^5 conídios/mL com auxílio de uma câmara de Neubauer. Foram selecionadas cinco plantas das cultivares Helena, Mattos, Nonante Alcântara e Pierre e, estas foram inoculadas em campo. A inoculação de cada isolado foi realizada em um ramo contendo três flores, as quais, foram atomizadas com a suspensão com o volume de 50 mL de conídios dos isolados. O controle consistiu em um ramo de flor por planta atomizado com 50 mL água destilada estéril. Para criar o ambiente de câmara úmida, os pedúnculos florais foram recobertos com toalha de papel esterilizado e umedecido, e envoltos em um saco plástico por 48h. A incidência das lesões foi observada diariamente, e nos casos positivos, avaliou-se o número de flores infectadas.

Em frutos, o teste de patogenicidade foi realizado em frutos pertencentes às mesmas cinco cultivares mencionadas anteriormente. Os frutos foram submetidos a assepsia, sendo lavados com detergente e enxaguados em água corrente. Posteriormente, foram imersos em solução de hipoclorito de sódio (0,5 % v/v) por 5 minutos. Em seguida, os frutos foram enxutos em papel toalha e mantidos por 15 minutos sob luz ultravioleta em câmara de fluxo laminar. Ferimentos de 1 mm de diâmetro foram realizados na região equatorial de cada fruto (Sholberg et al., 1995), e um disco de micélio (5 mm) dos isolados foi depositado sobre a epiderme ferida. Para fungos do gênero *Botrytis*, não é necessário ferimentos para causar infecção, entretanto, na presença destes, ocorre rápida colonização e desenvolvimento de lesões (Santos et al. 2008), que

podem acontecer durante a colheita e manuseio dos frutos. Para o tratamento controle, foram utilizados discos de BDA não colonizados pelos fungos.

Os frutos inoculados foram incubados em bandejas plásticas forradas com papel toalha umedecido e cobertos com saco plástico. As bandejas contendo os frutos foram mantidas a 20 °C, com fotoperíodo de 12h. A avaliação foi iniciada 24 horas após a inoculação, medindo-se o diâmetro das lesões com auxílio de um paquímetro.

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com sete repetições por tratamento. Para avaliar se interação foi significativa entre as espécies de *Botrytis* e os frutos de diferentes cultivares de feijoa, a análise foi estimada através do método estatístico paramétrico ANOVA dopacote cAr (Fox e Weisberg, 2019). Quando observada diferença significativa entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a $p \leq 0.05$. A comparação entre as médias foi efetuada por meio do pacote emmeans ('Estimated Marginal Means') (Lenth, 2018). Todas as análises foram realizadas utilizando o software R (R Core Team, 2020).

Teste de gama de hospedeiros

As inoculações foram realizadas utilizando colônias de culturas puras de duas espécies de *Botrytis* (COAD 2812 e COAD 2849) crescidas em meio de cultura BDA por sete dias a 20°C sob fotoperíodo de 12 horas. E como hospedeiros, foram utilizados frutos, em estágio de maturação comercial, de maçã (*Malus domestica*), pera (*Pyrus communis*), kiwi (*Actinidia deliciosa*) e goiaba (*Psidium guajava*).

A inoculação em frutos, seguiu a mesma metodologia utilizada para o teste de patogenicidade em frutos de feijoa. Já a inoculação em flores de violeta foi realizada com uma suspensão de inóculo ajustada para 10^5 conídios/mL, foi adicionada uma gota de 10 µl de Tween 80, 0,05% (v/v). As plantas foram atomizadas com a suspensão e o tratamento controle apenas com água destilada estéril. As plantas inoculadas foram incubadas em câmara de nebulização por 48 h, no escuro. Em seguida, foram transferidas para câmara de crescimento com temperatura ajustada para 20°C. A incidência de mofo

cinzento foi avaliada após o surgimento dos primeiros sintomas da doença contando o número de flores infectadas.

A patogenicidade dos isolados de *Botrytis* foi confirmada com o reisolamento em meio BDA e observação das estruturas em microscópio de luz, completando os Postulados de Koch. Os ensaios foram repetidos. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com sete repetições por tratamento. Para comparação da agressividade das diferentes espécies de frutos avaliados no experimento, foi utilizado o mesmo método estatístico do teste de patogenicidade.

RESULTADOS

Análises filogenéticas

O alinhamento de sequências do gene G3PDH de 120 representantes de gênero *Botrytis*, incluindo os 12 isolados introduzidos no presente estudo, e os dois espécimes *M. fructigena* e *S. sclerotiorum* (*outgroup*), resultou em uma matriz contendo 776 sítios incluindo os *gaps*, dos quais 598 são sítios conservados, 176 variáveis, 123 informativos para parcimônia e 52 sítios únicos (*singletons*). As análises filogenéticas baseadas em BI, MP e ML a partir da região parcial permitiram verificar que oito dos isolados presentes no estudo pertencem à espécie *B. cinerea* e quatro se agruparam com a espécie *B. pseudocinerea* (Figura 1).

O alinhamento de sequências representativas do gene HSP60 contém 126 sequências, incluindo 14 isolados introduzidos no presente estudo e *M. fructigena* e *S. sclerotiorum* (*outgroup*), resultando em uma matriz contendo 939 sítios alinhados, incluindo *gaps*. Destes, 655 são sítios conservados, 275 variáveis, 206 informativos para parcimônia e 69 sítios únicos. Altos valores de suporte (1,0) e bootstrap (100%) nas análises de BI, ML e MP permitiram inferir 9 isolados dos 14 isolados, dentro do clado pertencente a espécie *B. cinerea* e os 5 isolados restantes se mostraram filogeneticamente próximo de *B. pseudocinerea* (Figura 2).

O alinhamento de sequências representativas do RBP2 contém 112 sequências, das quais 13 são de isolados introduzidos no presente estudo e as espécies *M. fructigena* e *S. sclerotiorum* como *outgroup*. A matriz contém 1079

sítios alinhados, incluindo gaps, dos quais 766 são conservados, 313 variáveis, 235 informativos para parcimônia e 77 únicos (singletons). Nesse alinhamento, verificou-se que dos 13 isolados, 9 se agruparam no clado pertencente a espécie *B. cinerea* e 4 isolados a espécie *B. pseudocinerea* nas três análises filogenéticas (Figura 3).

Na comparação entre as reconstruções filogenéticas de BI, ML e MP dos genes G3PDH, HSP60 e RPB2, observa-se divergências na topologia das árvores. Entretanto, houve congruência na delimitação de espécies e alto suporte para clados terminais.

A análise filogenética com genes combinados de *Botrytis* foi composta por um total de 127 sequências, sendo destas, 111 de espécies já descritas, 14 dos isolados obtidos no presente estudo e dois isolados (*M. fructigena* e *S. sclerotiorum*) utilizados como outgroup. O alinhamento concatenado dos genes G3PDH, HSP60 e RPB2, resultou em uma matriz contendo 2794 sítios incluindo os gaps, dos quais 2019 são sítios conservados, 764 variáveis, 564 informativos para parcimônia e 198 sítios únicos (singletons). Dos 14 isolados presentes no estudo, 9 se agruparam no clado da espécie *B. cinerea* com suporte 1,0 de probabilidade posterior na análise BI; 100% de bootstrap em ML e MP na árvore filogenética (Figura 4). Este resultado sugeriu que esses 9 isolados pertencem a espécie *B. cinerea*. Os cinco isolados restantes agruparam-se com os representantes de espécie *B. pseudocinerea* formando um clado bem suportado, com alto valor de bootstrap (100%) e alta probabilidade posterior (1). O isolado COAD 3389, embora tenha se agrupado com os isolados da espécie *B. pseudocinerea*, houve a formação de um clado parafilético suportado, com bom valor de bootstrap (78) em ML e boa probabilidade posterior (0,93). Isso pode ter ocorrido devido a sequência do isolado ser curta no gene RPB2 (671 sítios) em comparação com as demais sequências (1079 sítios), sendo necessário a realização de uma nova PCR.

Caraterização morfológica

De acordo com que foi apresentado anteriormente, nove isolados foram identificados como *B. cinerea* e cinco como *B. pseudocinerea*. A descrição morfológica de cada espécie segue abaixo:

Botrytis cinerea Persoon – em Ellis M. B. Dematiaceous Hyphomycetes, 1971, 604p. MycoBank:217312.

Materiais examinados – BRASIL: Santa Catarina, São Joaquim, Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI, isolados de flores *Acca Sellowiana*, 2021, L. Araújo (isolados COAD 3386, COAD 3387, COAD 3388, COAD 3392, COAD 3393, COAD 3394, COAD 3395, COAD 3396 e COAD 3397)

Características culturais e microscópicas são apresentadas abaixo. Para ilustrações adicionais e uma descrição completa e detalhada da morfologia, ver Ellis (1971: 179, Fig. 121A).

Características culturais: Colônia em BDA com crescimento extremamente rápido, atingindo 90 mm em 8 dias a 22°C, plana, com bordas inteiras, textura cotonosa; após 8 dias, colônia com micélio aéreo cor iron grey com presença de esporos mouse grey. Em reverso, centro buff a honey, com presença de raios de micélio partindo para a borda da colônia com coloração iron grey; esporulação abundante (Figura 5).

Conidióforos 12~25 µm de comprimento, longos, eretos, septados, acinzentados partindo para uma tonalidade levemente acinzentados no ápice, ramificados no ápice, com células conidiogênicas terminais, dilatadas, formando agregados de conídios. Conídios elipsoides a ovoides, unicelulares, asseptados, com hilo protuberante, hialinos a ligeiramente acinzentados, medindo de 8~16 × 5~10 µm. Colônia após 40 dias com esporulação e formação de escleródios solitários espalhados por todo meio e das bordas das placas, variando de tamanho 1~4 mm de formas esféricas e irregulares.

Notas: nem todos os isolados de *B. cinerea* formaram estruturas de resistência e uma pequena variação de tamanhos de conídios, conidióforos e escleródios também foi observada.

Botrytis pseudocinerea A. S. Walker, A. Gautier, Confais, Martinho, Viaud, Lepêcheur, J. Dupont e E. Fourn – em Walker *et al.*, *The American Phytopathological Society*, 101(12):1433-45, 2011. MycoBank:581579.

Materiais examinados – BRASIL: Santa Catarina, São Joaquim, Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI, isolados de flores *Acca Sellowiana*, 2021, L.

Araújo (isolados COAD 3389, COAD 3390, COAD 3391, COAD 3398 e COAD 3399)

Características culturais e microscópicas são apresentadas abaixo. Para ilustrações adicionais e uma descrição completa e detalhada da morfologia, ver Walker et al. (2011: 1439, Fig. 2).

Características culturais: Colônia em BDA com crescimento rápido, atingindo 90 mm em 8 dias a 22°C, plana, com bordas inteiras, textura cotonosa; após 8 dias, colônia com centro cor olivaceus grey, seguido de micélio esbranquiçado até a borda. Em reserva, colônia de uma única cor buff sutil (Figura 6).

Conidióforos 12~20 µm de comprimento, longos, eretos, septados, acinzentados partindo para uma tonalidade levemente acinzentados no ápice, ramificados no ápice, com células conidiogênicas terminais, dilatadas, formando agregados de conídios. Colônia após 40 dias com suave esporulação e formação de escleródios solitários espalhados por todo meio e das bordas das placas, variando de tamanho 1~6 mm de formas esféricas, irregulares ou elípticas.

Notas: Todos os isolados de *B. pseudocinerea* formaram estruturas de resistência e houve uma pequena variação de tamanhos de conídios, conidióforos e escleródios observada.

Teste de patogenicidade

Devido à estiagem que ocorreu nos meses de outubro a dezembro de 2021 no Sul do País, época de florescimento da feijoa, não foi possível observar o desenvolvimento de sintomas nas flores inoculadas com os isolados representantes das espécies *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* para comprovação da patogenicidade dos isolados obtidos no presente estudo. Portanto, o experimento será repetido na próxima floração.

Em relação aos frutos de feijoa, as espécies *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* foram aptas a causar doença em todas as cultivares. Houve interação significativa entre espécies fúngica e cultivares de feijoa. Nas cultivares Helena, Pierre e Mattos, os isolados de *B. pseudocinerea* mostraram-se mais

agressivos quando comparados aos de *B. cinerea*. Enquanto para as cultivares Nonante e Alcântara, os isolados de *B. cinerea* demonstraram mais agressividade nos sintomas (Tabela 1). Na avaliação entre as cultivares, a espécie *B. cinerea* foi menos agressiva na cultivar Helena quando comparada às demais. Em contrapartida, a espécie *B. pseudocinerea* foi menos agressiva nas cultivares Nonante e Alcântara, e para as cultivares Pierre e Mattos, ela se apresentou como a mais agressiva.

Teste de gama de hospedeiros

As espécies *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* foram aptas a causarem lesões nos diferentes frutos e em flor de violeta. Os fungos foram recuperados por meio de isolamentos de tecidos sintomáticos. Além disso, foi observada diferença estatística para a agressividade das duas espécies fúngicas em relação aos diferentes frutos inoculados. O isolado de *B. cinerea* foi mais agressivo em frutos de goiaba, pera e kiwi. Em frutos de maçã, não houve diferença na intensidade dos sintomas entre as espécies (Figura 7).

Os sintomas em frutos de goiaba, consistiram em lesões beges ao redor do disco de micélio que, posteriormente se tornaram amarronzadas. Aqueles inoculados com o isolado de *B. cinerea* foi observado micélio branco-acinzentado (Figura 8-A). Em pera, as lesões desenvolvidas eram amarronzadas e com aspecto úmido, as quais progrediram rapidamente ocupando quase todo o fruto. Foi detectado um crescimento cotonoso acinzentado sobre o tecido sintomático para as duas espécies fúngicas inoculadas (Figura 8-B). Em kiwi, observou-se lesões menores que às demais, as quais eram arredondadas e necróticas ao redor do disco de micélio, internamente houve o amolecimento do tecido (Figura 8-C). Nos frutos de maçã, os sintomas consistiram na presença de lesões amarronzadas e amolecimento dos frutos (Figura 8-D). Em flores de violeta, foram observadas lesões necróticas úmidas e com a presença de sinais do patógeno (Figura 8-E).

DISCUSSÃO

A proposta do presente estudo foi investigar a etiologia da doença mofo cinzento em flores de feijoa, no Sul do Brasil, principal região produtora da fruta no país. Para isso, foram analisados 14 isolados por meio de técnicas moleculares de reconstrução filogenética a partir dos genes codificadores de proteínas nucleares G3PDH, HSP60 e RPB2; genes propostos por Staats et al. (2005) para a separação das espécies filogenéticas de *Botrytis*. Portanto, foi possível inferir que nove isolados pertenciam a espécie *B. cinerea* e cinco a *B. pseudocinerea*. Os clados referentes as espécies *B. cinerea* e *B. pseudocinerea*, foram gerados tanto na análise dos três genes concatenados (G3PDH, HSP60 e RPB2), quanto nas árvores dos genes individuais.

A espécie *B. pseudocinerea* foi descrita em 2011 e faz parte de um complexo de espécies morfologicamente crípticas (Complexo de Espécies *Botrytis cinerea* – CEBC), tais espécies possuem características morfológicas e gama de hospedeiros semelhantes, além de ocorrer em simpatria. Dessa forma, a análise filogenética é a única ferramenta de diferenciação dessas espécies até o presente momento (Walker et al., 2011). O que corrobora os resultados encontrados nesse estudo, onde nenhum dos critérios morfológicos (tamanho de conídios e conidióforos, e crescimento micelial) avaliados foram capazes de discriminar as espécies de *Botrytis* identificadas. A única diferença morfológica observada foi ausência da formação de escleródios em alguns isolados de *B. cinerea*. De acordo com Paul (1929), alguns isolados de *B. cinerea* podem não ser capazes de produzirem estruturas de resistência, produzindo apenas micélio. Isaza et al., (2019) confirmou variações morfológicas intraespecífica isolados de *B. cinerea* provenientes da amora-preta. Alguns isolados não formaram escleródios e houve diferença no crescimento micelial, na disposição e no tamanho dos escleródios.

Botrytis pseudocinerea foi a primeira espécie críptica caracterizada e tem sido relatada co-ocorrendo em diversas espécies hospedeiras em diferentes países do mundo (Walker et al., 2011; Fekete et al., 2012; Muñoz et al., 2016; Plesken et al., 2015; Testempasis et al., 2020). Além de *B. pseudocinerea*, outras espécies crípticas existem dentro do complexo: *B. sinoviticola*, descrita em uvas na China (Zhou et al., 2014); *B. californica*, descrita em uvas e mirtilos na

Califórnia (Saito et al., 2016); e *B. medusae* descrita em uvas para vinho na Austrália (Harper et al., 2019).

Este é o primeiro relato com base em análises filogenéticas de *B. cinerea* como agente de mofo cinzento em flores de feijoa. A presença do gênero *Botrytis* já havia sido confirmada por Santos et al., (2012) anteriormente como agente da doença na mesma região onde foi realizado a coleta dos isolados. Entretanto, apenas em nível morfológico, impossibilitando saber a qual espécie pertencia. Azevedo et. al., (2020) realizaram o primeiro relato de *B. pseudocinerea* no Brasil em flores de feijoa, porém na época que a coleta foi realizada, apenas um isolado do fungo foi obtido. Diante disso, não era conhecido se outras espécies poderiam infectar flores de feijoa.

Na literatura, alguns estudos, envolvendo uma ampla gama de hospedeiros, mostraram que *B. pseudocinerea* é considerada uma espécie de menor importância, como agente causador de mofo cinzento. Em videira na França, *B. pseudocinerea* foi encontrada em baixas frequências quando comparada a ocorrência da espécie *B. cinerea* (Walker et al., 2011). Da mesma forma, em cultivos de morango na Alemanha foi observado em uma amostragem de 173 isolados apenas três foram identificados como *B. pseudocinerea* (Leroch et al. 2013). A espécie foi também relatada em frequência baixa em campos de mirtilo na Califórnia (Saito et al., 2014) e em vinhedos em diferentes localidades na Nova Zelândia (Johnston et al., 2014). Na China, de oito isolados de *Botrytis* obtidos em folhas de tomate, apenas um foi identificado como *B. pseudocinerea* (Li et al., 2015). Ainda na China, relataram que em uma amostragem de 707 isolados de *Botrytis* coletados em morango e tomate cultivados em túneis de plástico, apenas um deles era *B. pseudocinerea* (Yang et al., 2021).

Entretanto, em alguns estudos *B. pseudocinerea* foi encontrada como dominante dentre as demais espécies de *Botrytis* causadora do mofo cinzento. Em plantios orgânicos de maçã, morango, groselha, framboesa, fava, peônia e colza na Alemanha, *B. pseudocinerea* foi encontrada com maior frequência que *B. cinerea* (Plesken et al., 2015). Isso foi encontrado em uma ampla amostragem de frutos de romã sintomáticos em pomares em diferentes regiões da Grécia e Califórnia (Testempasis et al., 2020).

O fato de termos detectado menor ocorrência de *B. pseudocinerea* associada a flores de feijoa com sintomas de mofo cinzento pode estar

relacionado com coletas realizadas em plena floração. Em videira, mostraram que *B. pseudocinerea* é encontrado com maior frequência em tecidos senescentes, como restos florais, do que em frutos maduros, possivelmente devido a sua melhor capacidade saprotrófica, o que proporciona uma colonização mais eficiente desses órgãos (Plesken et al., 2015, Walker et al., 2011).

Uma outra possibilidade, seria a diferença entre as duas espécies quanto a sensibilidade a fungicidas, pois *B. cinerea* parece ser mais propensa a desenvolver resistência (Walker, 2016; Plesken et al., 2015). Em um estudo foi avaliada a frequência de *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* em pomares manejados organicamente e tratados com fungicida. Nos pomares de morango, maçã, cereja, mirtilo, groselha, fava e peônia submetidos a tratamentos com fungicidas, a espécie *B. cinerea* foi prevalente sobre *B. pseudocinerea*. Por outro lado, nos pomares manejados organicamente, a maioria dos isolados se tratava de *B. pseudocinerea* (Plesken et al., 2015). Nos estudos de Testempasis et al. (2020), também foi possível constatar que população resistente a fungicidas da Califórnia e Grécia é dominada por isolados de *B. cinerea*.

Para a cultura da feijoa no Brasil, não existem fungicidas registrados no MAPA (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento) para o tratamento de mofo cinzento. Portanto, nos pomares, são utilizados fungicidas registrados para o controle de mofo cinzento para as culturas de maçã e uva (Araújo e Pinto, 2018). Entre os fungicidas utilizados na cultura, estão incluídos tiofanato-metílico, dicarboximida iprodiona, ciprodinil e anilinopirimidina. Vários estudos demonstram por meio de testes de resistência aos fungicidas citados acima, que

B. pseudocinerea possui sensibilidade (Plesken et al., 2015; Hauschildt, Steinkellner, e Weber, 2020). E isso pode explicar a baixa frequência encontrada nesse estudo. De acordo com Araújo e Pinto (2018), o controle do mofo cinzento na floração e em frutos, não tem sido efetivo por meio de fungicidas, isso indica que *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* em pomares de feijoa podem ter adquirido resistência aos botricidas utilizados em pomares próximos aos plantios de feijoa.

O experimento que avaliou a gama de hospedeiro de *B. pseudocinerea* teve como propósito revelar se esta espécie poderia infectar também outras hospedeiras de *B. cinerea*. Portanto, não existe relato na literatura de ocorrência de *B. pseudocinerea* associada ao mofo cinzento em flores de violeta e frutos de

maçã, pera, kiwi e goiaba (Farr e Rossman, 2022). De acordo com os nossos resultados, *B. pseudocinerea* é apta a infectar diversos hospedeiros de *B. cinerea*. No entanto, apesar de no Brasil, até o presente momento, esta espécie ter sido relatada apenas em feijoa (Azevedo et al., 2020), existem diversos hospedeiros cultivados nos países que são suscetíveis à espécie.

Em relação a patogenicidade das espécies fúngicas em frutos de feijoa, apesar de ambas terem causado doença nos frutos, a avaliação da agressividade permitiu o entendimento que ambas as espécies possuem um importante papel como agente etiológico da doença, mas podendo variar de acordo com a cultivar. Portanto, apesar de *B. pseudocinerea* ter sido encontrada em menor frequência, não se pode afirmar que tal espécie possui um papel menos importante para o desenvolvimento do mofo cinzento em feijoa no Brasil. Para um melhor entendimento da suscetibilidade das cultivares, novos estudos devem ser conduzidos envolvendo um maior número de isolados de *B. cinerea* e *B. pseudocinerea*.

Este estudo revelou a ocorrência das espécies *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* de forma simpátrica em pomares de feijoa no Brasil e no mundo, além de ter proporcionado um melhor entendimento da etiologia do mofo cinzento na cultura, o que será de grande importância para o aprimoramento das estratégias de manejo da doença.

CONCLUSÕES

- O mofo cinzento em flores de feijoa (*Acca sellowiana*) na região Sul do Brasil tem como agentes etiológicos as espécies *Botrytis cinerea* e *Botrytis pseudocinerea*.
- Frutos de feijoa são suscetíveis as espécies *B. cinerea* e *B. pseudocinerea*.
- A agressividade das espécies *B. cinerea* e *B. pseudocinerea* em frutos varia em função das cultivares de feijoa.
- Flores de violeta e frutos de maçã, pera, kiwi e goiaba são suscetíveis a *B. pseudocinerea*.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amarante, C. V. T. do, e Santos, K. L. dos. (2011). Goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(1). doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000100042>

Araújo, L. e Pinto, F.A.M.F (2018) Principais doenças e seu controle. In: Ciotta, M.N.; Arioli, C.J.; Pinto, F.A.M.F.; Santos, K.; Araújo, L. e Pasa, M.S. (Orgs.). A cultura da goiabeira-serrana. Florianópolis: Epagri, 147-166.

Azevedo, D. M. Q., Martins, S. D. S., Guterres, D. C., Martins, M. D., Araújo, L., Guimarães, L. M. S., Alfenas, A. C., e Furtado, G. Q. (2020). Diversity, prevalence and phylogenetic positioning of *Botrytis* species in Brazil. *Fungal Biology*, 124(11), 940–957. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.08.002>

Campanhola, C., e Bettiol, W. (2003) Métodos alternativos de controle fitossanitário. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente.

Crous, P. W.; Verkley, G. J. M.; Groenewald, J. Z (2009) Glossary and descriptive terms. Fungal biodiversity. CBS-KNAW *Fungal Biodiversity* Centre, Utrecht, Netherlands. 199-206.

Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>

Ellis, M.B. (1971) Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 608.

Farr, D.F., e Rossman, A.Y. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved. Acesso em 14 de abril de 2022; <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>

Fekete, É., Fekete, E., Irinyi, L., Karaffa, L., Árnayasi, M., Asadollahi, M., e Sándor, E. (2012). Genetic diversity of a *Botrytis cinerea* cryptic species complex in Hungary. *Microbiological Research*, 167(5), 283–291. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.10.006>

Fox, J., Weisberg, S (2019). An (R) Companion to Applied Regression, Third Edition. Thousand Oaks CA: Sage.

Isaza, L., Zuluaga, Y. P., e Marulanda, M. L. (2019) Morphological, pathogenic and genetic diversity of *Botrytis cinerea* Pers. in blackberry cultivations in Colombia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452019490>

Ferrada, E. E., Latorre, B. A., Zoffoli, J. P., e Castillo, A. (2016) Identification and characterization of *Botrytis blossom* blight of japanese plums caused by *Botrytis cinerea* and *B. Prunorum* sp. Nov. In chile. *Phytopathology*, 106(2), 155–165. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-15-0143-R>

Garfinkel, A. R. (2021). The history of *Botrytis* taxonomy, the rise of phylogenetics, and implications for species recognition. *Phytopathology*, 111(3), 437–454. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-20-0211-IA>

Harper, L. A., Derbyshire, M. C., e Lopez-Ruiz, F. J. (2019) Identification and characterization of *Botrytis medusae*, a novel cryptic species causing grey mould on wine grapes in Australia. *Plant Pathology*, 68(5), 939–953. doi: <https://doi.org/10.1111/ppa.13005>

Johnston, P. R., Hoksbergen, K., Park, D., e Beever, R. E. (2014) Genetic diversity of *Botrytis* in New Zealand vineyards and the significance of its seasonal and regional variation. *Plant Pathology*, 63(4), 888–898. doi: <https://doi.org/10.1111/ppa.12143>

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., e Tamura, K. (2018). Mega x: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

Larsson, A. (2014). AliView: A fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30(22), 3276–3278. doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>

Lenth, R (2018). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.2.1.

Leroch, M., Plesken, C., Weber, R. W. S., Kauff, F., Scalliet, G., e Hahn, M. (2013). Gray mold populations in german strawberry fields are resistant to multiple fungicides and dominated by a novel clade closely related to *Botrytis cinerea*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(1), 159–167. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.02655-12>

Li, N., Zhang, J., Yang, L., Wu, M. D., e Li, G. Q. (2015) First report of *Botrytis pseudocinerea* causing gray mold on tomato (*Lycopersicon esculentum*) in central china. *Plant Disease*, 99(2), 283–283. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-14-0256-PDN>

Lorenzi, H. (1992) Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. *Editores Plantarum Ltda.*, Nova Odessa.

Miller, M. A., Pfeiffer, W., e Schwartz, T. (2010) Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In 2010 gateway computing environments workshop (GCE), 1-8. doi: <https://doi.org/10.1109/GCE.2010.5676129>

Moretto, S. P., Nodari, E. S., e Nodari, R. O. (2014). A Introdução e os Usos da Feijoa ou Goiabeira Serrana (*Acca sellowiana*): A perspectiva da história ambiental. *Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, 3(2), 67. doi: <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2014v3i2.p67-79>

Muñoz, G., Campos, F., Salgado, D., Galdames, R., Gilchrist, L., Chahin, G., e Andrade, O. (2016). Molecular identification of *Botrytis cinerea*, *Botrytis paeoniae* and *Botrytis pseudocinerea* associated with gray mould disease in peonies (*Paeonia lactiflora* Pall.) in Southern Chile. *Revista Iberoamericana de Micología*, 33(1), 43–47. doi: <https://doi.org/10.1016/j.riam.2015.02.002>

Nylander, J. A. A. (2004) MrModeltest 2.3. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. <http://www.abc.se/~nylander/>.

Paul, W. R. C. (1929) A comparative morphological and physiological study of a number of strains of *Botrytis cinerea* Pers. With special reference to their virulence. *Transactions of the British Mycological Society*, 14(1–2), 118–135. doi: [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(29\)80036-8](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(29)80036-8)

Peng, R. D. (2019) Simpleboot: Simple Bootstrap Routines. R package version 1.1-7.

Plesken, C., Weber, R. W. S., Rupp, S., Leroch, M., e Hahn, M. (2015) *Botrytis pseudocinerea* is a significant pathogen of several crop plants but susceptible to displacement by fungicide-resistant *B. cinerea* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(20), 7048–7056. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.01719-15>

Rambaut, A (2018) FigTree Version v1.4.4 [computer Program]

Rayner, R. W (1970) A mycological colour chart. England, Surrey: Mycological institute e British Mycological Society.

Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., e Huelsenbeck, J. P. (2012). Mrbayes 3. 2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539–542. doi: <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

Saito, S., Margosan, D., Michailides, T. J., e Xiao, C. L. (2016) *Botrytis californica*, a new cryptic species in the *B. cinerea* species complex causing gray mold in blueberries and table grapes. *Mycologia*, 108(2), 330–343. doi: <https://doi.org/10.3852/15-165>

Santos, J.P.; Corrent, A.R.; Berton, O.; Schwarz, L.L.; Denardi, F. (2008). Incidência de podridão branca em frutos da macieira com e sem fermentos. *Rev. Bras.Frútic.* 30: 118-121. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000100022>

Santos, K.L.; Ducroquet, J.P.H.J.; Nava, G.; Amarante, C.V.T.; Souza, S.N.; Peroni, N.; Guerra, M.P.; Nodari, R.O (2012) Orientações para o cultivo da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*). Florianópolis: Epagri, 2. 44. (Epagri. Boletim Técnico, 153).

Staats, M. (2005) Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular Biology and Evolution*, 22(2), 333–346. doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/msi020>

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

Testempasis, S., Puckett, R. D., Michailides, T. J., e Karaoglanidis, G. S. (2020) Genetic structure and fungicide resistance profile of *Botrytis* spp. Populations causing postharvest gray mold of pomegranate fruit in Greece and California. *Postharvest Biology and Technology*, 170, 111319. doi: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111319>

Vaidya, G., Lohman, D. J., e Meier, R. (2011) SequenceMatrix: Concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, 27(2), 171–180. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2010.00329.x>

Walker, A. S. (2016) Diversity within and between species of *Botrytis*. In S. Fillinger e Y. Elad (Orgs.), *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*, 91–125. *Springer International Publishing*. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_6

Walker, A. S., Gautier, A., Confais, J., Martinho, D., Viaud, M., Le Pêcheur, P., Dupont, J., e Fournier, E. (2011) *Botrytis pseudocinerea*, a new cryptic species causing gray mold in french vineyards in sympatry with *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 101(12), 1433–1445. doi: <https://doi.org/10.1094/PHTO-04-11-0104>

Yang, R., Li, N., Zhou, Z., e Li, G. (2021) Characterization of the populations of *Botrytis cinerea* infecting plastic tunnel-grown strawberry and tomato in the hubei province of china. *Plant Disease*, 105(7), 1890–1897. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0164-RE>

Zhou, Y. J., Zhang, J., Wang, X. D., Yang, L., Jiang, D. H., Li, G. Q., Hsiang, T., e Zhuang, W. Y. (2014) Morphological and phylogenetic identification of *Botrytis sinoviticola*, a novel cryptic species causing gray mold disease of table grapes (*Vitis vinifera*) in China. *Mycologia*, 106(1), 43–56. doi: <https://doi.org/10.3852/13-032>

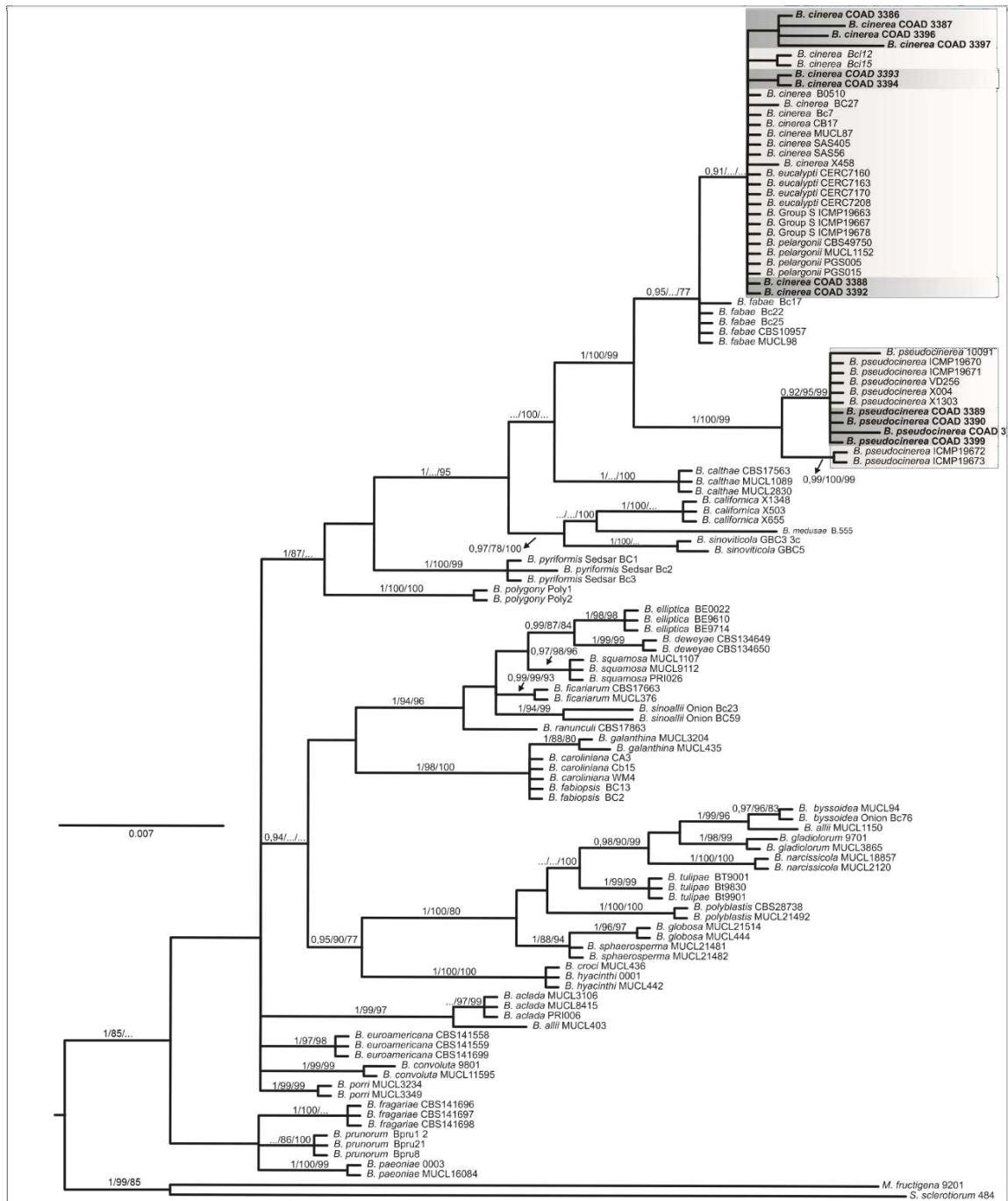


Figura 1. Árvore filogenética resultante da análise de Inferência Bayesiana (BI) a partir de dados de sequência do gene G3PDH de espécies de *Botrytis*, utilizando *M. fructigena* e *S. sclerotiorum* como grupos externos. Nós bem suportados apresentam os valores de bootstrap (>70%) para Máxima Verossimilhança (ML) e Máxima Parcimônia (MP); probabilidade posterior (>0.9) da Inferência Bayesiana (BI). Os isolados em estudo encontram-se destacados em negrito e em bloco colorido.

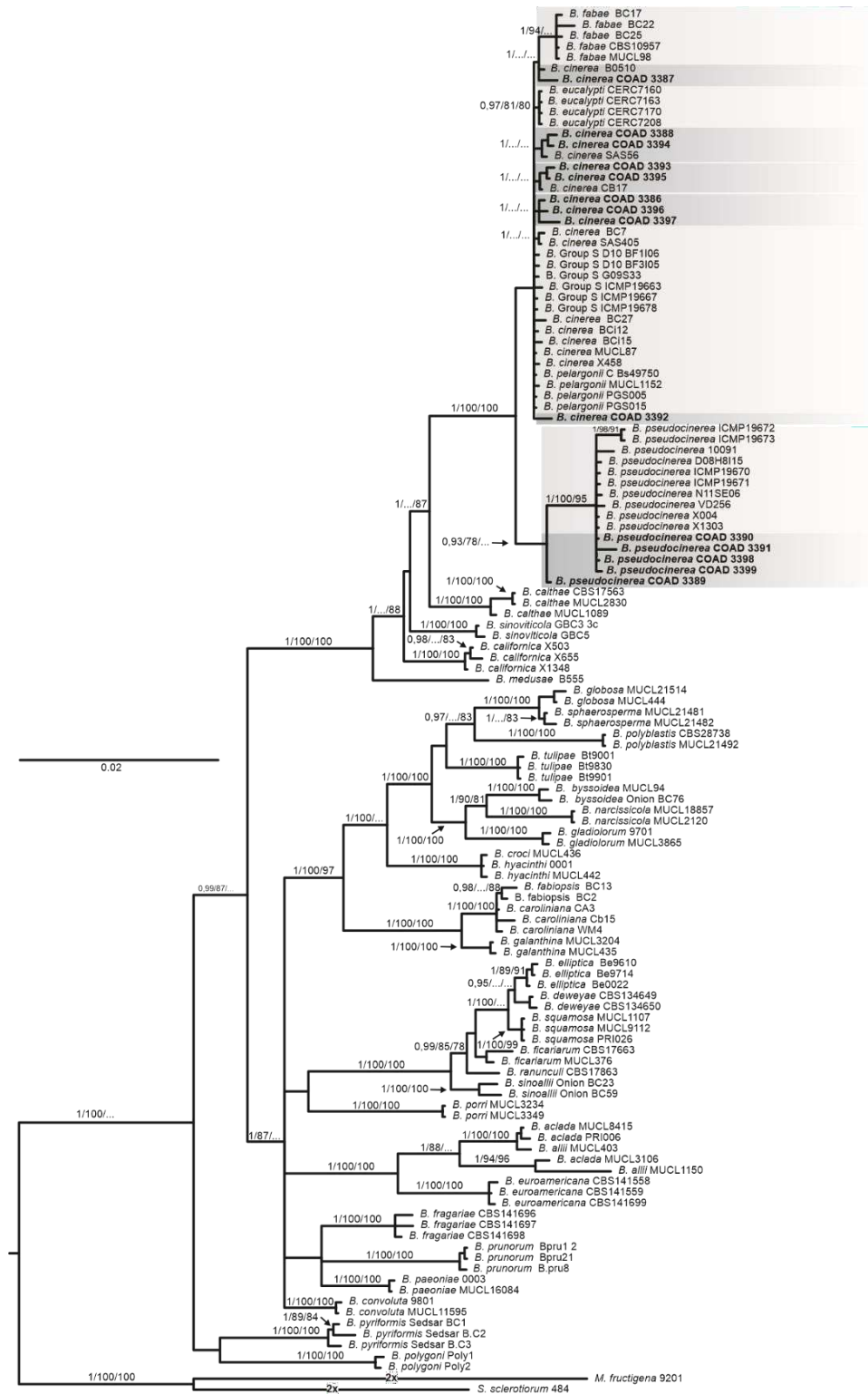


Figura 4. Árvore filogenética resultante da análise de Inferência Bayesiana (BI) a partir de dados de sequência de genes parciais concatenados de G3PDH, HSP60 e RPB2 de espécies de *Botrytis*, utilizando *M. fructigena* e *S. sclerotiorum* como grupos externos. Nós bem suportados apresentam os valores de bootstrap (>70%) para Máxima Verossimilhança (ML) e Máxima Parcimônia (MP); probabilidade posterior (>0.9) da Inferência Bayesiana (BI). Os isolados em estudo encontram-se destacados em negrito e em bloco colorido.

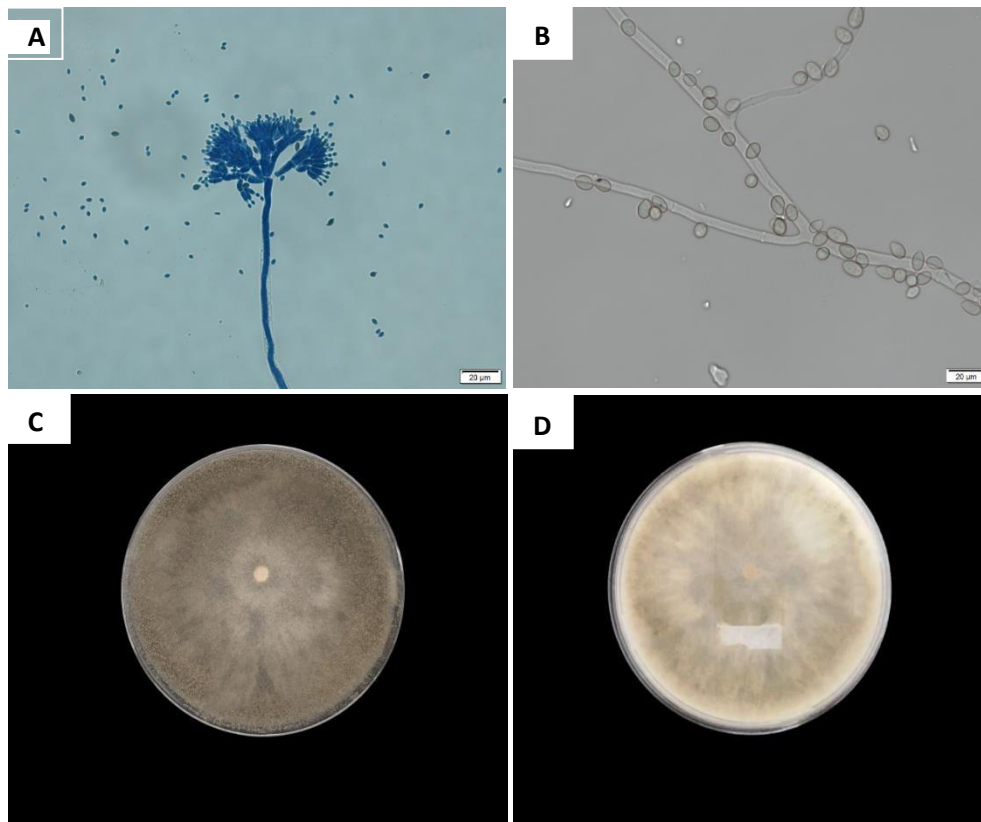


Figura 5. *Botrytis cinerea*. (A e B) Conidióforos e conídios. (C e D) Colônia em meio de cultura BDA. Barras de escala = 20 μm .

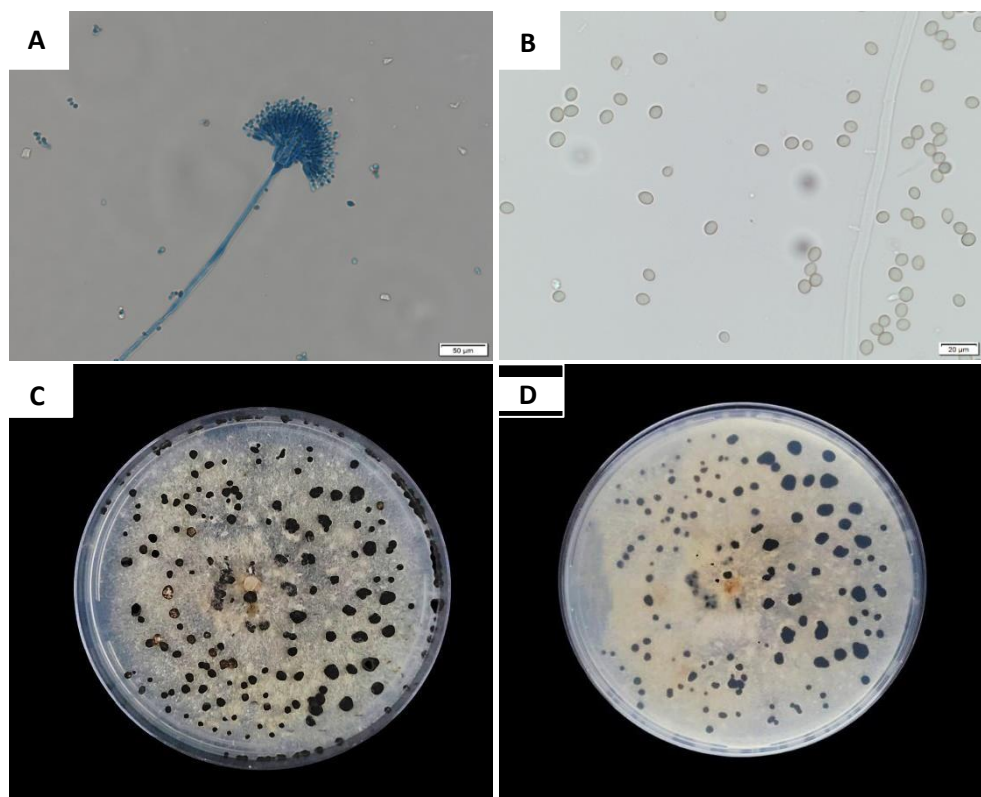


Figura 6. *Botrytis pseudocinerea*. (A e B) Conidióforos e conídios. (C e D) Colônia em meio de cultura BDA. Barras de escala = 20 μm

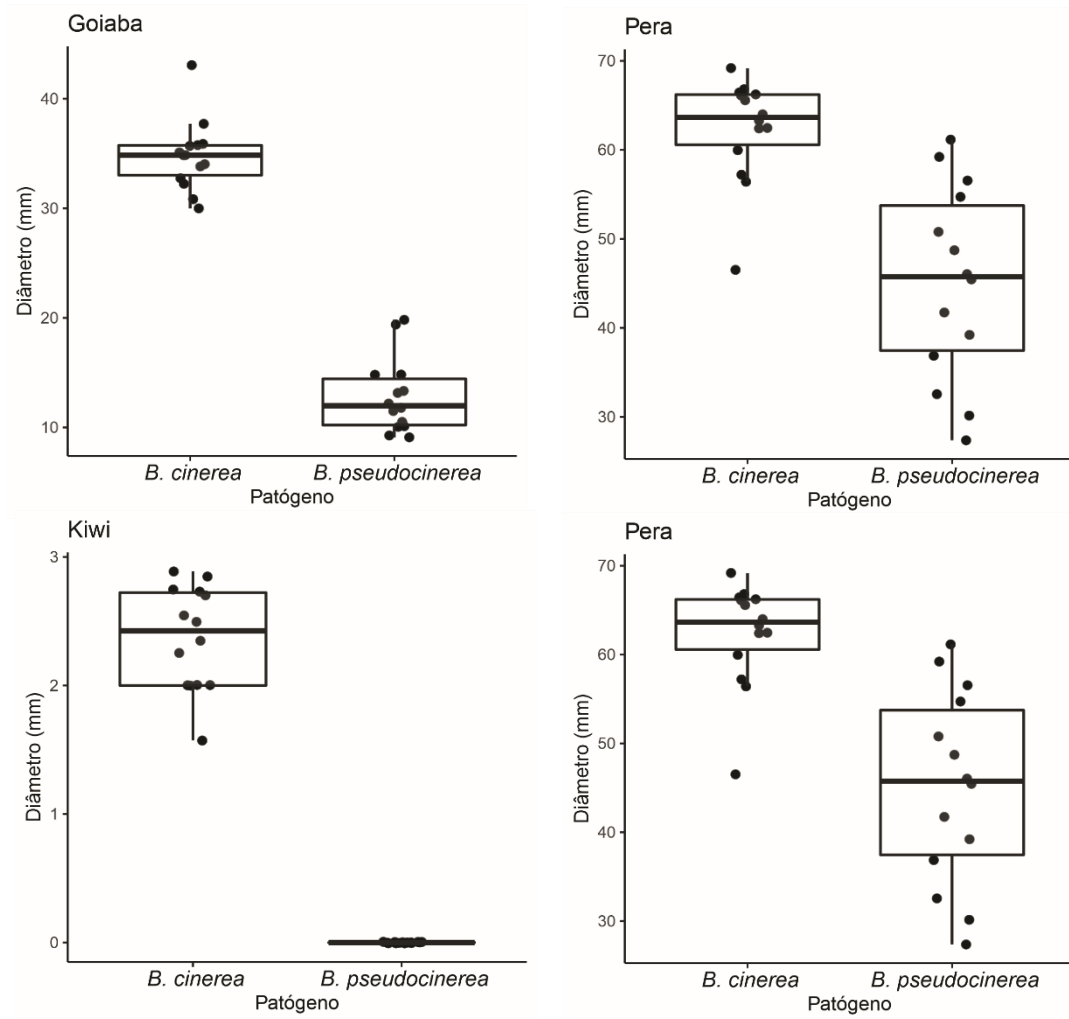


Figura 7. Agressividade das espécies *Botrytis cinerea* e *Botrytis pseudocinerea* em frutos de goiaba, pera, kiwi e maçã.

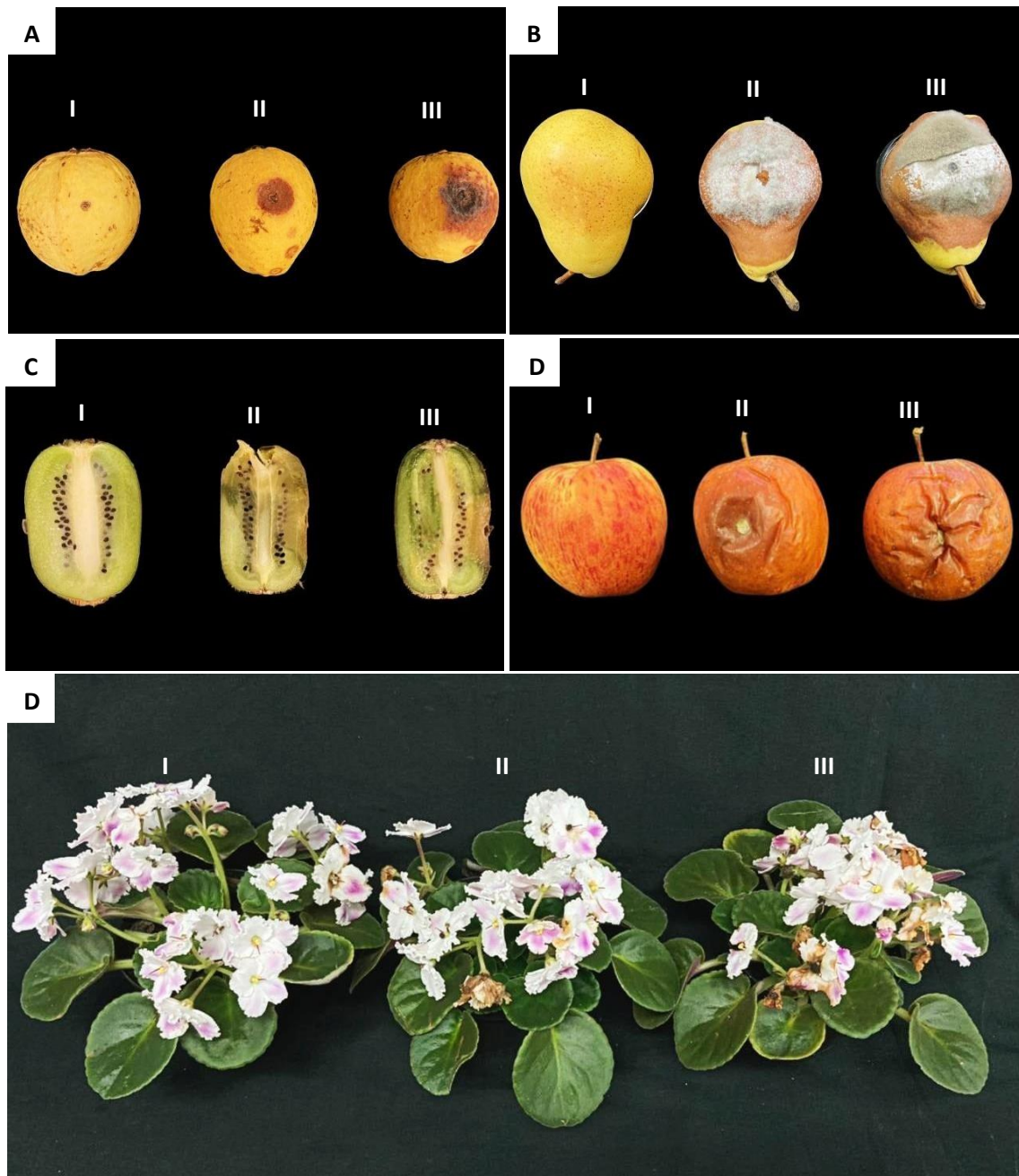


Figura 8. Sintomas de mofo cinzento em diferentes frutos e em flores de violeta inoculados com *Botrytis cinerea* e *Botrytis pseudocinerea*. A. Frutos de goiaba; B. Frutos de pera; C. Frutos de kiwi; D. Frutos de maçã; E. Flores de violeta I. Tratamento controle, II. *B. pseudocinerea* e III. *B. cinerea*.

Tabela 1. Avaliação da agressividade das espécies *Botrytis cinerea* e *Botrytis pseudocinerea* causadoras da doença mofo cinzento em frutos das cultivares de feijoa.

Cultivar	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Botrytis pseudocinerea</i>
Helena	14,4 b B	28,2 bc A
Nonante	27,2 a A	17,3 d B
Pierre	28,9 a B	33,3 ab A
Alcântara	31,9 a A	24,3 cd B
Mattos	32,6 a B	35,9 a A

* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), letras maiúsculas comparam a agressividade entre patógenos em uma mesma cultivar (horizontal) e minúsculas comparam a reação das cultivares para um mesmo patógeno (vertical).

** Os valores acima correspondem ao diâmetro (mm) das lesões nos frutos.

Tabela suplementar 1. Isolados de *Botrytis* utilizados nas análises filogenéticas.

Espécie	Isolado	Hospedeiro	Família	Local	Ano	RPB2	HSP60	G3PDH	Referência
<i>B. aclada</i>	PRI006	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	-	-	AJ745665	AJ716051	AJ704993	Staats et al. 2005
	MUCL3106	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	USA	1961	AJ745663	AJ716049	AJ704991	Staats et al. 2005
	MUCL8415	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	Germany	1965	AJ745664	AJ716050	AJ704992	Staats et al. 2005
<i>B. allii</i>	MUCL403	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	The Nertherlands	1957	AJ745666	AJ716055	AJ704996	Staats et al. 2005
	MUCL1150	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	Norway	1960	AJ745668	AJ716052	AJ704994	Staats et al. 2005
<i>B. byssoidea</i>	MUCL94*	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	USA	1923	AJ745670	AJ716059	AJ704998	Staats et al. 2005
	OnionBC-76	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	YunXi, HuBei, China	2008	FJ169681	FJ169661	FJ169652	Zhang et al. 2010b
<i>B. californica</i>	X655*	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	Reedley, CA	2012	KJ937049	KJ937059	KJ937069	Saito et al. 2016
	X503	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	Earlimart, CA	2012	KJ937048	KJ937058	KJ937068	Saito et al. 2016
	X1348	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Ericaceae	Tulare, CA	2013	KJ937051	KJ937061	KJ937071	Saito et al. 2016
<i>B. calthae</i>	CBS 175.63	<i>Caltha palustris</i>	Ranunculaceae	USA	1961	AJ745671	AJ716060	AJ704999	Staats et al. 2005

	MUCL1089	<i>C. palustres</i>	Ranunculaceae	Belgium	1960	AJ745672	AJ716061	AJ705000	Staats et al. 2005
	MUCL2830	<i>C. palustres</i>	Ranunculaceae	USA	1961	AJ745673	AJ716062	AJ705001	Staats et al. 2005
<i>B. caroliniana</i>	CB15*	<i>Rubus fruticosus</i>	Rosaceae	Long Creek, South Carolina, USA	2010	JF811590	JF811587	JF811584	Li et al. 2012
	WM4	<i>R. fruticosus</i>	Rosaceae	Six Mile, South Carolina, USA	2010	JF811592	JF811589	JF811586	Li et al. 2012
	CA3	<i>R. fruticosus</i>	Rosaceae	Cheddar, South Carolina, USA	2010	JF811591	JF811588	JF811585	Li et al. 2012
<i>B. cinerea</i>	SAS56	-	-	Italy	-	AJ745677	AJ716067	AJ705006	Staats et al. 2005
	SAS405	-	-	Italy	-	AJ745678	AJ716066	AJ705005	Staats et al. 2005
	B05.10	-	-	-	1994	AJ745674	AJ716063	AJ705002	Staats et al. 2005
	BC7	-	-	The Nertherlands	1970	AJ745675	AJ716064	AJ705003	Staats et al. 2005
	MUCL87*	-	-	The Nertherlands	1928	AJ745676	AJ716065	AJ705004	Staats et al. 2005
	Bci-12	<i>Prunus salicina</i>	Rosaceae	Rosario, Chile	2013	KP136779	KP120874	KP120867	Ferrada et al. 2016
	Bci-15	<i>Prunus salicina</i>	Rosaceae	San Francisco, Chile	2013	KP136781	KP120876	KP120869	Ferrada et al. 2016
	X458	<i>Vitis vinifera</i>		Exeter, CA,	2012	KJ937054	KJ937064	KJ937074	Saito et al. 2016

CB17	<i>Rubus fruticosus</i>	Rosaceae	Long Creek, South Carolina, USA	2010	JN672677	JN672675	JN672671	Li et al. 2012
BC-27	<i>Vicia faba</i>	Rosaceae	Ba Dong, HuBei, China	2007	EU563118	EU563101	EU563107	Zang et al. 2010a
COAD 3386	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
COAD 3387	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
COAD 3388	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
COAD 3392	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
COAD 3393	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
COAD 3394	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
COAD 3395	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
COAD 3396	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo

	COAD 3397	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
<i>B. convoluta</i>	9801	<i>Iris</i> sp.	Iridaceae	The Nertherlands, Lisse	1998	AJ745679	AJ716068	AJ705007	Staats et al. 2005
	MUCL11595	<i>Iris</i> sp.	Iridaceae	USA	1968	AJ745680	AJ716069	AJ705008	Staats et al. 2005
<i>B. croci</i>	MUCL436	<i>Crocus</i> sp.	Iridaceae	The Nertherlands	1968	AJ745681	AJ716070	AJ705009	Staats et al. 2005
<i>B. deweyae</i>	CBS 134649*	<i>Hemerocallis</i> sp.	Hemerocallidacea e	UK, Oxford,	2009	HG799518	HG799519	HG799521	Grant-Downton et al. 2014
	CBS 134650	<i>Hemerocallis</i> sp.	Hemerocallidacea e	UK, Oxford,	2009	-	-	HG799523	Grant-Downton et al. 2014
<i>B. elliptica</i>	BE9714	<i>Lilium</i> sp.	Liliaceae	The Nertherlands, Elsloo	-	AJ745684	AJ716073	AJ705012	Staats et al. 2005
	BE9610	<i>Lilium</i> sp.	Liliaceae	The Nertherlands	-	AJ745683	AJ716072	AJ705011	Staats et al. 2005
	BE0022	<i>Lilium</i> sp.	Liliaceae	The Nertherlands, Smilde	2001	AJ745682	AJ716071	AJ705010	Staats et al. 2005
<i>B. eucalypti</i>	CERC7170* = CGMCC3.18028	<i>E. urophylla</i> x <i>E.</i> <i>grandis</i>	Myrtaceae	ZhanJiang, GuangDong, China	2016	KX301028	KX301024	KX301020	Liu et al. 2016
	CERC7160 = CFCC51322	<i>E. urophylla</i> x <i>E.</i> <i>grandis</i>	Myrtaceae	ZhanJiang, GuangDong, China	2016	KX301026	KX301022	KX301018	Liu et al. 2016

	CERC7163 = CFCC51323	<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	Myrtaceae	ZhanJiang, GuangDong, China	2016	KX301027	KX301023	KX301019	Liu et al. 2016
	CERC7208 = CGMCC3.18029	<i>E. urophylla</i> x <i>E. grandis</i>	Myrtaceae	ZhanJiang, GuangDong, China	2016	KX301029	KX301025	KX301021	Liu et al. 2016
				Valle dei Laghi,					Lorenzini et al. 2014
	CBS 141699*= 889	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	Trento District, Provincia Autonoma di Trento, Italy	2011	KC191679	KC191678	KC191677	Garfinkel et al. 2017
<i>Botrytis euroamericana</i>	CBS141559= AK10	<i>Paeonia x lactiflora</i>	Paeoniaceae	North Pole, Fairbanks North Star Borough, Alaska, USA	2013	KX266739	KX266733	KX266727	Garfinkel et al. 2017
	CBS141558 =HA06	<i>Paeonia x lactiflora</i>	Paeoniaceae	Trapper Creek, Matanuska- Susitna Borough, Alaska, USA	2014	KX266740	KX266734	KX266728	Garfinkel et al. 2017
<i>B. fabae</i>	CBS 109.57	<i>Vicia faba</i>	Fabaceae	The Nertherlands	1957	AJ745685	AJ716074	AJ705013	Staats et al. 2005

	MUCL98*	<i>V. faba</i>	Fabaceae	Spain	1929	AJ745686	AJ716075	AJ705014	Staats et al. 2005
	BC-17	<i>V. faba</i>	Fabaceae	Yi Du, China	2007	EU563112	EU563095	EU563104	Zhang et al. 2010a
	BC-22	<i>V. faba</i>	Fabaceae	Xuan Em, China	2007	EU563111	EU563102	EU563105	Zhang et al. 2010a
	BC-25	<i>V. faba</i>	Fabaceae	Xiang Fan, China	2007	EU563116	EU563098	EU563110	Zhang et al. 2010a
<i>Botrytis fabiopsis</i>	BC-2*	<i>Vicia faba</i>	Fabaceae	WuHan, HuBei, China	2006	EU514473	EU514482	EU519211	Zhang et al. 2010a
	BC-13	<i>V. faba</i>	Fabaceae	XianNing, HuBei	2007	EU563115	EU563100	EU563109	Zhang et al. 2010a
<i>B. ficariarum</i>	CBS 176.63*	<i>Ficaria verna</i>	Ranunculaceae	Belgium	1960	AJ745687	AJ716076	AJ705015	Staats et al. 2005
	MUCL376	<i>Ficaria verna</i>	Ranunculaceae	Belgium	1957	AJ745688	AJ716077	AJ705016	Staats et al. 2005
<i>B. fragariae</i>	CBS 141696 *= D11_H_R4	<i>Fragaria x ananassa</i>	Rosaceae	Germany	2011	KX429709	KX429695	KX429702	Rupp et al.,2017
	CBS 141697 = D13_F_Me3	<i>Fragaria x ananassa</i>	Rosaceae	Germany	2011	KX429710	KX429696	KX429703	Rupp et al.,2017
	CBS 141698 = D13_F_Ju10	<i>Fragaria x ananassa</i>	Rosaceae	Germany	2011	KX429711	KX429697	KX429704	Rupp et al.,2017
<i>B. galanthina</i>	MUCL435	<i>Galanthus</i> sp.	Amaryllidaceae	The Nertherlands	1958	AJ745689	AJ716079	AJ705018	Staats et al. 2005

	MUCL3204	<i>Galanthus</i> sp.	Amaryllidaceae	The Nertherlands	1963	AJ745690	AJ716078	AJ705017	Staats et al. 2005
<i>B. gladiolorum</i>	9701	<i>Gladiolus</i> sp.	Iridaceae	-	1997	AJ745691	AJ716080	AJ705019	Staats et al. 2005
	MUCL3865	<i>Gladiolus</i> sp.	Iridaceae	The Nertherlands, Andijk	1963	AJ745692	AJ716081	AJ705020	Staats et al. 2005
<i>B. globosa</i>	MUCL444	<i>Allium ursinum</i>	Alliaceae	Belgium	1958	AJ745693	AJ716083	AJ705022	Staats et al. 2005
	MUCL21514	<i>Allium ursinum</i>	Alliaceae	UK	1963	AJ745694	AJ716082	AJ705021	Staats et al. 2005
	D10_B_F1-06	<i>F. ananassa</i>	Rosaceae	Germany	2010	-	JX266717	-	Leroch et al. 2013
	G09_S33	<i>F. ananassa</i>	Rosaceae	Greece	2009	-	JX266719	-	Leroch et al. 2013
<i>Botrytis</i> Group S	D10_B_F3-05	<i>F. ananassa</i>	Rosaceae	Germany	2010	-	JX266718	-	Leroch et al. 2013
	ICMP 19667	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	NZ, Waipara	-	-	KC620327	KC620364	Johnston et al. 2014
	ICMP 19663	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	NZ, Auckland	-	-	KC620328	KC620363	Johnston et al. 2014
	ICMP 19678	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	NZ, Auckland	-	-	KC620331	KC620357	Johnston et al. 2014

<i>B. hyacinthi</i>	0001	<i>Hyacinthus</i> sp.	Hyacinthaceae	The Nertherlands, Lisse	1999	AJ745695	AJ716084	AJ705023	Staats et al. 2005
	MUCL442	<i>Hyacinthus</i> sp.	Hyacinthaceae	The Nertherlands, Breezand	1958	AJ745696	AJ716085	AJ705024	Staats et al. 2005
<i>B. medusae</i>	B-555	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	Australia	-	MH732870	MH732866	MH732861	Lopez-Ruiz et al. 2019
<i>B. narcissicola</i>	MUCL18857	<i>Narcissus</i> sp.	Amaryllidaceae	UK	1972	AJ745698	AJ716086	AJ705025	Staats et al. 2005
	MUCL2120	<i>Narcissus</i> sp.	Amaryllidaceae	Canada	1961	AJ745697	AJ716087	AJ705026	Staats et al. 2005
<i>B. paeoniae</i>	MUCL16084	<i>Paeonia</i> sp.	Paeoniaceae	Belgium	1970	AJ745700	AJ716089	AJ705028	Staats et al. 2005
	0003	<i>Paeonia</i> sp.	Paeoniaceae	The Netherlands	2002	AJ745699	AJ716088	AJ705027	Staats et al. 2005
<i>B. pelargonii</i>	CBS 497.50*	<i>Pelargonium</i> sp.	Geraniaceae	Norway	1949	AJ745662	AJ716046	AJ704990	Staats et al. 2005
	MUCL1152	<i>Pelargonium</i> sp.	Geraniaceae	Norway	1960	AJ745701	AJ716090	AJ705029	Staats et al. 2005
	PG-S005	<i>Panax ginseng</i>	Araliaceae	China	2016	KY827218	KY827202	KY827186	Lu et al. 2019
	PG-S015	<i>P. ginseng</i>	Araliaceae	China	2016	KY827228	KY827212	KY827196	Lu et al. 2019
<i>B. pseudocinerea</i>	VD256*	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	Courteron, France	2007	N/A	JF421576	JF421574	Walker et al., 2011
	X004	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Ericaceae	Stockton, CA	2012	KJ796647	KJ796655	KJ796651	Saito et al. 2014, 2016
	X1303	<i>Vaccinium</i>	Ericaceae	Delano, CA	2013	KJ796650	KJ796658	KJ796654	

							<i>corymbosum</i>		Saito et al. 2014, 2016
10091	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	Versailles, France	-	JN692428	JN692400	JN692414	Zhou et al. 2014	
D08_H_8-15	<i>F. ananassa</i>	Rosaceae	Germany	-	-	JX266721	-	Leroch et al. 2013	
N11_S_E06	<i>F. ananassa</i>	Rosaceae	Norway	2012	-	JX266723	-	Leroch et al. 2013	
ICMP 19670	<i>V. vinifera</i>	Vitaceae	Auckland, New Zealand	-	-	KC620318	KC620371	Johnston et al. 2014	
ICMP 19671	<i>V. vinifera</i>	Vitaceae	Auckland, New Zealand	-	-	KC620319	KC620372	Johnston et al. 2014	
ICMP 19672	<i>V. vinifera</i>	Vitaceae	Auckland, New Zealand	-	-	KC620320	KC620368	Johnston et al. 2014	
ICMP 19673	<i>V. vinifera</i>	Vitaceae	Auckland, New Zealand	-	-	KC620321	KC620367	Johnston et al. 2014	
COAD 3389	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo	
COAD 3390	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo	
COAD 3391	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo	
COAD 3398	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo	

	COAD 3399	<i>Acca sellowiana</i>	Myrtaceae	São Joaquim, Santa Catarina, Brasil	2021	-	-	-	Estudo
<i>B. polyblastis</i>	MUCL21492	<i>Narcissus</i> sp.	Amaryllidaceae	UK	1963	AJ745703	AJ716092	AJ705031	Staats et al. 2005
	CBS287.38*	<i>Narcissus</i> sp.	Amaryllidaceae	UK	1938	AJ745702	AJ716091	AJ705030	Staats et al. 2005
<i>B. polygoni</i>	Poly-1			Tongwei, Gansu, China	2012	MG846506	MG846501	MG846496	
	Poly-2		Polygonaceae	Tongwei, Gansu, China	2011	MG846507	MG846502	MG846497	Wang et al. 2021
	Poly-3			Tongwei, Gansu, China	2012	MG846508	MG846503	MG846498	
<i>B. porri</i>	MUCL3234*	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	-	1926	AJ745704	AJ716093	AJ705032	Staats et al. 2005
	MUCL3349	<i>Allium</i> sp.	Alliaceae	Belgium	1963	AJ745705	AJ716094	AJ705033	Staats et al. 2005
<i>B. prunorum</i>	Bpru-21 *	<i>Prunus salicina</i>	Rosaceae	Pirque, Chile	2012	KP339987	KP339994	KP339980	Ferrada et al., 2016
	Bpru-8	<i>Prunus salicina</i>	Rosaceae	Pirque, Chile	2012	KP339986	KP339993	KP339979	Ferrada et al., 2016
	Bpru-1.2	<i>Prunus salicina</i>	Rosaceae	Rosario, Chile	2013	KP339989	KP339996	KP339982	Ferrada et al., 2016
<i>B. pyriformis</i>	SedsarBC-2*	<i>Sedum sarmentosum</i>	Crassulaceae	Shiyan, HuBei, China	2010	KJ543493	KJ543489	KJ543485	Zhang et al. 2017

	SedsarBC-1	<i>Sedum sarmentosum</i>	Crassulaceae	Shiyan, HuBei, China	2010	KJ543492	KJ543488	KJ543484	Zhang et al. 2017
	SedsarBC-3	<i>Sedum sarmentosum</i>	Crassulaceae	Shiyan, HuBei, China	2010	KJ543494	KJ543490	KJ543486	Zhang et al. 2017
<i>B. ranunculi.</i>	CBS178.63*	<i>Ranunculus</i> sp.	Ranunculaceae	USA	1963	AJ745706	AJ716095	AJ705034	Staats et al. 2005
	OnionBC-23 *	<i>Allium fistulosum</i>	Alliaceae	XianNing, Hubei, China	2006	EU514479	EU514488	EU519217	Zang et al. 2010b
<i>B. sinoallii</i>	OnionBC-59	<i>Allium fistulosum</i>	Alliaceae	JianShi,, HuBei, China	2007	FJ169678	FJ169658	FJ169646	Zang et al. 2010b
	GBC-5*	<i>V. vinifera</i>	Vitaceae	Shihezi, Xinjiang, China	2010	JN692427	JN692399	JN692413	Zhou et al. 2014
<i>B. sinoviticola</i>	GBC-3-3c	<i>V. vinifera</i>	Vitaceae	Wuhan, Hubei, China	2009	JN692426	JN692398	JN692412	Zhou et al. 2014
	MUCL21481	<i>Allium. Triquetrum</i>	Alliaceae	UK	1963	AJ745708	AJ716096	AJ705035	Staats et al. 2005
<i>B. sphaerosperma</i>	MUCL21482b	<i>A. triquetrum</i>	Alliaceae	UK	1963	AJ745709	AJ716097	AJ705036	Staats et al. 2005

	PRI026	<i>A. cepa</i>	Alliaceae	-	-	AJ745707	AJ716100	AJ705039	Staats et al. 2005
<i>B. squamosa</i>	MUCL1107*	<i>A. cepa</i>	Alliaceae	USA	1923	AJ745710	AJ716098	AJ705037	Staats et al. 2005
	MUCL9112	<i>A. cepa</i>	Alliaceae	The Nertherlands	1966	AJ745711	AJ716099	AJ705038	Staats et al. 2005
	BT9830	<i>Tulipa</i> sp.	Liliaceae	The Nertherlands	2000	AJ745713	AJ716102	AJ705041	Staats et al. 2005
<i>B. tulipae</i>	BT9001	<i>Tulipa</i> sp.	Liliaceae	The Nertherlands	2000	AJ745712	AJ716101	AJ705040	Staats et al. 2005
	BT9901	<i>Tulipa</i> sp.	Liliaceae	The Nertherlands, Apeldoorn	2000	AJ745714	AJ716103	AJ705042	Staats et al. 2005
<i>M. fructigena</i>	9201	-	-	-	1992	AJ745715	AJ716047	AJ705043	Staats et al. 2005
<i>S. sclerotiorum</i>	484	-	-	-	-	AJ745716	AJ716048	AJ705044	Staats et al. 2005