

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

MATHEUS GUILHERME DE PAULA

**FUNGOS FITOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS A *Neomarica longifolia* NO
BRASIL**

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2017

MATHEUS GUILHERME DE PAULA

**FUNGOS FITOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS A *Neomarica longifolia* NO
BRASIL**

**Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Universidade Federal
de Viçosa como parte das
exigências para a obtenção do título
de Engenheiro Agrônomo.
Modalidade: trabalho científico.**

Orientador: Robert Weingart Barreto

Coorientadores:

Bruno Wesley Ferreira

María Del Carmen

Herrera Rodríguez

VIÇOSA – MINAS GERAIS

2017

MATHEUS GUILHERME DE PAULA

**FUNGOS FITOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS A *Neomarica longifolia* NO
BRASIL**

**Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Universidade Federal
de Viçosa como parte das
exigências para a obtenção do título
de Engenheiro Agrônomo.
Modalidade: trabalho científico.**

APROVADO:

Prof. Robert Weingart Barreto
(orientador, UFV)

RESUMO

Neomarica longifolia conhecida popularmente como íris amarela é uma planta nativa do Brasil e ocorre nos estados da região sudeste. É uma ornamental nova em cultivo e praticamente desconhecida sobre o ponto de vista agrônomo, inclusive sob aspectos fitopatológicos. Há apenas um registro de fungo fitopatogênico atacando esse hospedeiro. Em junho e julho de 2017 foram observadas plantas de *N. longifolia* apresentando sintomas de manchas foliares e mofo cinzento nos botões florais na cidade de Antonio Carlos (MG). Dois hifomicetos estavam regularmente associados aos sintomas das doenças. Culturas puras foram obtidas e depositadas na coleção de culturas da UFV. Estudos morfológicos foram realizados e permitiram a identificação dos fungos como pertencendo aos táxons *Botrytis cinerea* e *Cercospora* sp. DNA foi extraído de culturas puras e realizou-se uma PCR com as regiões ITS para *Cercospora* e *Botrytis cinerea* e CAL e ACT para *Cercospora*. A comparação da sequência com as disponíveis do GenBank resultaram, para o primeiro, em 100% de identidade com o isolado St15 (*Botrytis cinerea*). A incongruência dos resultados da comparação das sequências de três regiões gênicas de *Cercospora* sp., com às disponíveis no GenBank, torna difícil inferir sua posição taxonômica a nível de espécie. Os postulados de Koch foram cumpridos, demonstrando o status patogênico dos fungos. Este trabalho é a segunda contribuição mundial para o estudo da microbiota fitopatogênica de *N. longifolia*.

Palavras-chave: mancha foliar, mofo cinzento, íris amarela, ornamental, taxonomia.

ABSTRACT

Neomarica longifolia popularly known as yellow iris is a plant native to Brazil and occurs in the states of the southeast region. It is a new in cultivation as an ornamental. In June and July 2017 *N. longifolia* individuals were observed presenting leaf spots and gray mold symptoms. Two hyphomycetes were regularly associated with disease symptoms. A pure culture was obtained for the two fungi and deposited in the collection of cultures of the UFV. Morphological studies were carried out and allowed for the preliminary identification of the fungi as *Botrytis cinerea* and *Cercospora* sp. DNA was extracted and PCR was performed with the ITS regions for both fungi and CAL and ACT for *Cercospora*. Sequence comparison with those available from GenBank resulted in 100% identity with St15 isolate (*Botrytis cinerea*) for the gray mold fungus. Unfortunately, the incongruence of results of the comparison of the sequences of three gene regions for the *Cercospora* sp. with those available in GenBank, did not allow its identification at the species level. Koch's postulates were performed, demonstrating the pathogenic status of both fungi. This work represents the second worldwide contribution to the study of the phytopathogenic mycobiota of *N. longifolia*

Keywords: Gray mold, leaf spot, ornamental, taxonomy, yellow iris.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	9
3 MATERIAL E MÉTODOS	9
4 RESULTADOS	12
5 DISCUSSÃO	14
6 CONCLUSÃO	15
7 REFERÊNCIAS	16
8 ANEXOS	18

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é conhecido mundialmente pela riqueza de sua biodiversidade, em que se destacam as plantas ornamentais, como as orquídeas, as bromeliáceas e as flores do cerrado, muitas de valor comercial e praticamente inexploradas (ALMEIDA & AKI, 1995). Muitas espécies brasileiras já são cultivadas amplamente como ornamentais, seja para cultivo em vasos, para a produção de flores ou para a composição de jardins, (BIONDI, 1990; LORENZI, 2013). O consumo de flores e plantas ornamentais tem crescido significativamente nos últimos anos. No período entre 2008 e 2013, a floricultura comercial brasileira cresceu em média 10% ao ano nas quantidades ofertadas e 15% ao ano no valor de vendas. No ano de 2013, a taxa de crescimento do mercado de plantas e flores ornamentais foi de 8,3% em relação ao faturamento total do ano anterior, movimentando 5,3 bilhões de reais (SEBRAE 2015). Esses dados ilustram a crescente importância econômica dessa atividade agrícola e o seu notável potencial. Naturalmente que, considerando as perdas que os fitopatógenos podem ocasionar nessas culturas, inclusive na qualidade do produto, é de grande importância estratégica se identificar e estudar os fitopatógenos que atacam as plantas ornamentais.

O gênero *Neomarica* Sprague, da família Iridaceae, tem uma grande participação no conjunto das plantas ornamentais originárias do Brasil. De acordo com CAPELLARI JR. (2000), 20 espécies compõem este gênero, que se distribuem ao longo da costa oriental do continente americano. A folhagem em leque, ereta ou arqueada para um dos lados, já torna essa planta interessante para a ornamentação. Isso é ampliado por sua bela floração que ocorre na primavera – verão, podendo-se estender, dependendo das condições de cultivo. Apreciam a luminosidade, porém desenvolvem-se melhor à meia sombra. Necessitam de água em abundância e cuidados especiais (CAPELLARI JR. 2003). Dentre as espécies de *Neomarica*, *N. longifolia*, apesar de não ser ainda muito utilizada, tem um grande potencial para o cultivo ornamental.

Neomarica longifolia, conhecida popularmente com íris amarela é nativa do Brasil, ocorre nas restingas dos estados litorâneos da região sudeste e, também, adentra o estado de Minas Gerais (CAPELLARI JR., 2000). Utilizada como ornamental, é uma planta herbácea, perene, ereta, de 60-90 cm de altura (LORENZI, H. 2013). Ela se assemelha à *N. humilis*, devido à cor amarelada de suas flores, porém se diferencia por apresentar bráctea basal com uma projeção aliforme e pela ramificação da inflorescência (CAPELLARI JR., 2000). É uma planta nova em cultivo entre as ornamentais, e seu uso é indicado para formação de conjuntos maciços em áreas abertas, ou em bordaduras ao longo

de muretas, caminhos e grades (LORENZI, H. 2013). A planta é ainda pouco conhecida para a agronomia, inclusive quanto a aspectos fitopatológicos. Há apenas um registro de doença atacando plantas desta espécie - *Sclerotium rolfsii*, registrado por INÁCIO et al. (2017) atacando *N. longifolia*.

Dentre os fungos fitopatogênicos mais importantes como limintantes para o cultivo de plantas ornamentais destaca-se *Botrytis cinerea* (VOLPIN, 1991). O patógeno é o agente etiológico do mofo cinzento. O principal dano do fungo ocorre sobre o botão floral de roseiras e muitas outras espécies, prejudicando tanto a qualidade quanto a quantidade do produto produzido. Sintomas também do seu ataque podem também ser observados sobre as hastes e folhas das plantas (HORST, 1998).

As espécies de *Cercospora* são comumente associadas a manchas foliares e também são isoladas de lesões necróticas de flores, frutas e sementes ou associadas a doenças pós-colheita de podridão de frutos (SILVA & PEREIRA 2008) de milhares de hospedeiros em todo o mundo (AGRIOS 2005, TO-ANUN et al. 2011). No Brasil, espécies do gênero *Cercospora* são relatadas em diversas plantas ornamentais de importância econômica, tais como antúrio (*Anthurium andraeanum*), crisântemo (*Chrysanthemum sp.*), gérbera (*Gerbera jamesonii*), vedélia (*Wedelia palludosa*) e violeta (*Viola odorata*) (FREIRE, 2009).

Ainda não há qualquer relato no Brasil destes dois importantes patógenos em *N. longifolia*.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo a caracterização morfológica, molecular e patológica dos agentes etiológicos de dois fungos fitopatogênicos associados a mofo cinzento e mancha foliar em íris amarela (*Neomarica longifolia*).

3. MATERIAL E METODOS

3.1 Coleta das amostras

Em junho de 2017, em jardim particular na cidade de Antonio Carlos (estado de Minas Gerais), foram coletadas amostras de *Neomarica longifolia*, apresentando sintomas de manchas foliares, estas, foram levadas para a Clínica de Doenças de Plantas para proceder à identificação e isolamento do patógeno. Em julho de 2017, plantas de *N. longifolia* mantidas em casa de vegetação, para fins de inoculação com o patógeno causador da doença observada em Antonio Carlos, exibiram sintomas de mofo cinzento nas flores e botões florais e foram também, separadas para inclusão no estudo. Primeiramente foram analisadas sob microscópio estereoscópico, para confirmação da presença de estruturas de fungo, em seguida foram selecionadas folhas e flores apresentando esporulação para o preparo de lâminas para análise microscópica e obtenção de cultura pura. Uma amostra representativa de cada sintoma foi selecionada, colocada em prensa botânica para secagem. Depois de secas, as amostras herborizadas foram colocadas em envelopes, devidamente identificados e depositados no Herbário da Universidade Federal de Viçosa (VIC).

3.2 Obtenção de culturas puras

As culturas puras do fungo foram obtidas através da transferência de esporos presentes na superfície das flores e folhas, por isolamento direto, com auxílio de uma agulha de ponta fina, esterilizada, para placas de Petri, contendo meio de cultura. Foram utilizados dois meios de cultura: batata dextrose-ágar (BDA) e batata cenoura-ágar (BCA). Após o isolamento e crescimento, isolados representativos da cultura foram depositados na coleção

de culturas da Universidade Federal de Viçosa – Coleção Otávio de Almeida Drumond (COAD).

3.3 Estudos morfológicos

As lâminas foram preparadas por raspagem, com auxílio de um bisturi, das estruturas fúngicas presentes nas folhas e botões florais e montados em lactofucsina e lactoglicerol. Depois de prontas, foram analisadas sob microscópio de luz (Olympus, BX53) adaptado com iluminação por contraste diferencial e equipado com sistema de captura digital (Olympus Q-Color 5™). A morfologia foi estudada e dados biométricos foram obtidos a partir da medição de pelo menos 30 estruturas.

3.4 Descrição de culturas

As descrições de cultura basearam-se na observação de colônias em placas contendo batata-dextrose-ágar (BDA) e batata-cenoura-ágar (BCA), mantidas a 25°C sob um regime diário de 12 horas (luz fornecida por duas lâmpadas de luz branca e uma lâmpada com luz próxima a UV, colocada 35 cm das placas) ou no escuro (placas envoltas em papel alumínio). A terminologia de cores segue RAYNER (1970).

3.5 Estudos de moleculares

DNA genômico foi extraído de culturas puras dos fungos, cultivados em CVA a 25°C sob um fotoperíodo de 12 h, durante 1 semana. Aproximadamente 50 mg de micélio foi raspado da superfície do CVA e colocados em tubos ependorf esterilizados, contendo esferas de zircônio e colocados em equipamento próprio para triturar (L-Beater-3). Após trituração, a extração foi realizada de acordo com o protocolo Wizard Genomic DNA Purification Kit. As amostras foram, em seguida, armazenadas a -20 ° C para uso posterior. A reação de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foi realizada de acordo com Pinho et al. 2012. Os primers ITS4 e ITS5 (WHITE et al., 1990) foram usados para amplificar a região ITS e o gene 5.8S rRNA, e parte de calmodulina (CAL) e actina (ACT) foram amplificados com os primers CAL228F, CAL2Rd e ACT512F, ACT783R, respectivamente. Os produtos de

PCR foram analisados em géis de agarose 2% corados com GelRed™ (Biotium Inc., Hayward, CA, E.U.A.) e visualizadas sob luz UV para verificar o tamanho e pureza de amplificação. Os produtos de PCR foram purificados e sequenciados pela Macrogen Inc., Coreia do Sul (<http://www.macrogen.com>). As sequências de nucleotídeos foram editadas com o software DNA Dragon (HEPPERLE 2011). Todas as sequências foram verificadas manualmente e nucleotídeos com posições ambíguas foram esclarecidas usando sequências iniciadoras em ambas as direções.

3.6 Testes de patogenicidade

Seis plantas sadias de íris amarela (*N. longifolia*) foram selecionadas para a realização do teste de patogenicidade.

Para o fungo associado ao mofo cinzento - uma suspensão de conídios na concentração de 10^6 conídios/ml (concentração ajustada com auxílio de uma Câmara de Neubauer) e inoculada em duas plantas por pincelamento dos botões florais. A testemunha consistiu de uma planta pincelada com água estéril.

Para o fungo associado à mancha foliar foi feita a inoculação em duas plantas, pela deposição de disco de micélio de um centímetro de diâmetro, obtidos a partir de colônias de duas semanas de idade. A testemunha foi inoculada com disco com meio de cultura, sem crescimento micelial.

Após inoculação, as plantas foram deixadas em câmara úmida, por um período de 48 horas. Após este período, as plantas foram retiradas da câmara úmida e deixadas dentro da casa de vegetação para observação diária do aparecimento dos sintomas. Após o aparecimento dos sintomas, o tecido lesionado foi levado para observação em microscópio estereoscópico e procedeu-se o reisolamento e identificação do patógeno.

3.7 Local da realização da pesquisa

A Clínica das Doenças das Plantas está localizada na casa 36 da Villa Giannetti da UFV, presta serviço de análise de materiais vegetais incluindo sementes, grãos, amostras de solo e materiais em processo de importação, para detecção de patógenos quarentenários. Além da área de pesquisas, também são realizadas análises de material para diagnose de doenças. Tem como coordenador o Professor Robert Weingart Barreto.

4. RESULTADOS

4.1 Taxonomia

Botrytis cinerea

As plantas atacadas exibiram rápida necrose das flores e botões florais. O fungo associado a estas lesões apresentava crescimento cotonoso, com esporulação acizentada intensa sobre o tecido atacado; conidióforos $300 - 2000 \times 12,5 - 22,5 \mu\text{m}$, ramificados, subcilíndricos, lisos, marrom claro, pálido próximo ao ápice; células conidiogênicas ampuliformes, $10 - 20 \times 7,5 - 12,5 \mu\text{m}$; conídios $6 - 12 \times 6 - 10 \mu\text{m}$, solitários, elipsoides ou subesféricos, com hilo ligeiramente protuberante, lisos, castanho claro ou sub-hialino.

Em cultura: Rápido crescimento da colônia (6,5 cm de diâmetro em BDA e 3,5 cm em BCA aos 4 dias). Colônias planas, lanosas; margens fimbriadas a inteiras; textura lanosa; cor Lavander Grey em BCA (com fotoperíodo) e Smoke Grey e margens Lavander Grey(sem fotoperíodo). Em BDA com fotoperíodo a coloração era Lavander Grey com bordas Hazel e sem fotoperíodo, Lavander Grey com bordas Smoke Grey.

Material examinado: Brasil, estado de Minas Gerais, Viçosa, campus da Universidade Federal de Viçosa, em folhas de *Neomarica longifolia*, 18 de julho de 2017, (VIC44317 e COAD2291).

Cercospora sp.

Os sintomas de *Cercospora* em *N. longifolia* apresentam-se como lesões em folhas vivas, começando como pontos necróticos, tornando-se sub-circular, 4-6 mm de diâmetro, marrom, muitas vezes com centro marrom-claro e alo amarelo na periferia, coalescendo ao longo das margens das folhas, levando a queima foliar. Micélio interno indistinto. Micélio externo ausente. Conidióforos anfigênicos, fasciculados 3-20, cilíndricos, $107,5-212,5 \times 6-4 \mu\text{m}$, não ramificados, direto a curvo, geniculado superior, 3-7 septos, marrom escuro, liso. Células conidiogênicas integradas, holoblásticas, sub-cilíndricas, terminais, simpodiais, $17,5-40 \times 3-4 \mu\text{m}$, castanho claro. Loci conidiogênicos, 2-3 μm de diâmetro, fortemente espessados, escurecidos. Conídios obclavados à filiformes, $20-300 \times 2-4 \mu\text{m}$, direto a ligeiramente curvo, com ápice agudo e base obtusa, 7-20 septos, hialino, suave; hilo escurecido e engrossado.

Em cultura: Rápido crescimento da colônia (6,1 - 6,2 cm de diâmetro em BDA e 4 - 5,5 cm em BCA aos 24 dias). Em BDA com fotoperíodo: Côncavo

com margem elevada; ondulado; micélio escasso no centro da colônia; zanação diurna presente; rosy buff, com periferia branca (frente); No reverso, coloração buff, tendendo a rosy buff com margem branca, zanação central: greenish glaucons. Em BDA sem fotoperíodo: Côncavo com margem elevada; borda inteira, tendendo a ondulado; micélio escasso no centro da colônia; zanação diurna presente; rosy vinaceous bordas brancas (frente); zona central: grey olivaceous, rosy vinaceous e rosy buff, bordas brancas (reverso). Em BCA com fotoperíodo: Côncavo com margem levantada; borda inteira; zanação diurna presente; pale vinaceous (frente); No reverso, coloração pale luteous, centro tendendo a rosy buff com margem olivaceous. Em BCA sem fotoperíodo: Côncavo com margem levantada; borda inteira; zanação diurna presente; rosy vinaceous com margens brancas (frente); rosy buff com bordas brancas no reverso. Sem esporulação.

Material examinado: Brasil, estado de Minas Gerais, Antônio Carlos, Av. Carlinhos Candian, em folhas de *Neomarica longifolia*, 10 de junho de 2017, (VIC44318 e COAD2292).

4.2 Resultados do teste de patogenicidade

Plantas inoculadas com *B. cinerea* apresentaram os primeiros sintomas dois dias após a inoculação, enquanto as plantas inoculadas com *Cercospora* sp. apresentaram os primeiros sintomas 14 dias após a inoculação com discos de micélio.

4.3 Estudos moleculares

As regiões ITS, CAL e ACT do isolado COAD2292 foram comparadas com sequências disponíveis no GenBank resultando em 100% de identidade para a região ITS com o isolado A516-02 (*Cercospora asparagi*), 99% de identidade para a região de CAL com sequência de fungo *Cercospora samambaiiae* (isolado CPS:24673) e 99% de identidade para a região de ACT com o isolado CBS 76579 (*Cercospora cf. physalidis*).

Para isolado COAD2291, a comparação da sequência com as disponíveis do GenBank resultaram em 100% de identidade com o isolado St15 (*Botrytis cinerea*).

5. DISCUSSÃO

Os resultados morfológicos e moleculares permitem a identificação do isolado COAD2291 como sendo *Botrytis cinerea*.

Botrytis cinerea já foi relatado em diversas espécies da família Iridaceae em várias partes do mundo, como por exemplo, *Crocus sp.* (Austrália, Canadá e Nova Zelândia), *Freesia hybrida* (Bulgária), *Freesia refracta* (New Zealand), *Freesia sp.* (Califórnia, Grécia), *Gladiolus princeps* (China), *Gladiolus sp.* (Austrália, Bulgária, Califórnia, Grécia, Índia, Oregon, África do Sul, Washington, Zimbábue), também já houve relatos da ocorrência de *B. cinerea* em outras espécies de Iris, como, em *Iris confusa* (China), *Iris germanica* (Polônia), *Iris nertchinskia* (Coreia), *Iris sp.* (Canadá, Nova Zelândia, Polônia e Escócia) (FARR & ROSSMAN, 2017).

Botrytis cinerea é um patógeno polífago, atacando mais de 230 espécies diferentes de plantas (HORST, 1998). Sua ampla gama de hospedeiros, sua capacidade de sobrevivência como saprófita e produção de estruturas de resistência tornam o manejo deste patógeno difícil (JARVIS, 1977).

O isolado COAD2292, apresenta características típicas do gênero *Cercospora* (FUCKEL, 1863).

Fungos do gênero *Cercospora* são reconhecidamente patógenos importantes que atacam diversas espécies da família Iridaceae, dentre eles: *C. iridicola* atacando *Iris pabularia* (Mississipi), *C. beticola* em *Iris chinensis* (Hong Kong e Taiwan), *Cercospora iridis* causando doenças em *Iris sp.* (Brasil, Mexico, Nepal) e *Cercospora neomaricae* em *Neomarica caerulea* no Brasil (FARR & ROSSMAN, 2017).

O isolado COAD2292 apresenta conidióforos e conídios maiores que os de *C. iridis* e conídios mais estreitos que os de *Cercospora neomaricae*.

A incongruência dos resultados da comparação das sequências de três regiões gênicas do isolado COAD2292, com às disponíveis no GenBank, torna difícil inferir sua posição taxonômica à nível de espécie, já que nenhuma das espécies encontradas no BLAST haviam sido relatadas em membros da família Iridaceae e não haviam sequências disponíveis no GenBank, daquelas que já haviam sido relatadas e comparadas morfológicamente. Desta forma, torna-se necessária a realização de um estudo filogenético mais complexo, para elucidar a real identidade do fungo.

6. CONCLUSÃO

Este trabalho é uma contribuição exploratória para estudo da micobiota fitopatogênica de espécies do gênero *Neomarica*, representando apenas a segunda publicação mundial tratando de fungo fitopatogênico associado a *N. longifolia*. O único trabalho anterior é o de INACIO et al. (2017) que descreveu a associação de *Sclerotium rolfsii* em *N. longifolia* e avaliou diversas técnicas de inoculação para obter um protocolo apropriado para testes de patogenicidade. Este é o primeiro relato de *Cercospora* sp. causando mancha foliar e *B. cinerea* causando mofo cinzento neste hospedeiro no Brasil e a primeira vez que seus status como patógenos é demonstrado experimentalmente. A relevância prática dessas duas ocorrências como ameaça para o cultivo de *N. longifolia* será verificada com a expansão do uso dessa espécie em jardins no Brasil e no mundo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. Plant pathology, fifth edition Academic Press, New York. (2005)

ALMEIDA, F. R. F.; AKI, A. Y. Grande crescimento no mercado das flores. **Agroanalysis**. Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas, p. 8-11, 1995.

BIONDI, D. **Paisagismo**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 1990. 184p.

CAPELLARI JR., L. Espécies de *Neomarica* Sprague (Iridaceae): potencial ornamental e cultivo. **Revista brasileira de horticultura ornamental**, v.9, p. 1-5, 2003.

CAPELLARI JR., L. **Revisão taxonômica do gênero *Neomarica* Sprague (Tribo Mariceae, Subfamília Iridoideae, Iridaceae)**. Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2000. 300p. Tese de Doutorado

FARR, D.F., & ROSSMAN, A.Y. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved November 16, 2017, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>

FREIRE, O. C. F. Patógenos associados a doenças de plantas ornamentais no Estado do Ceará. **Revista brasileira de horticultura ornamental**, v.15, p. 83-89, 2009.

FUCKEL KWGL. Fungi Rhenani exsiccati, Fasc. I-IV. Hedwigia 2: 132-136. 1863.

HEPPERLE, D. DNA Dragon 1.4. 1-DNA Sequence Contig Assembler Software. Available at: www.dna-dragon.com. Acesso em novembro 2017, v. 25, p. 2010, 2011.

HORST, R. K. **Compendio de enfermidades de rosas**. Quito: GráficasUniversal, 1998. 50p.

INÁCIO, A.C., et al. **Techniques for Inoculation of *Sclerotium rolfsii* on *Neomarica longifolia* and *Evolvulus pusillus* in Brazil**. EC Microbiology 9.3 (2017): 104-110.

JARVIS, W. R. ***Botryotinia* and *Botrytis* species: taxonomy, physiology, and pathogenicity**. Ontario: Research Branch Canada Department of Agriculture. 1977, 206p.

LORENZI, H. **Plantas para jardim no Brasil: Herbáceas, arbustivas e trepadeiras**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2013.

RAYNER, R. W. **A mycological colour chart**. CMI and British Mycological Society, Kew. 1970.

SEBRAE – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas - O **mercado brasileiro de flores e plantas ornamentais**. 2015. Disponível em: <https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-mercado-brasileiro-de-flores-e-plantas-ornamentais,456649f6ced44510VgnVCM1000004c00210aRCRD>. Acesso em outubro de 2017.

SILVA, M. PEREIRA, O.L. **Postharvest Cercospora apii fruit rot disease on Cucurbita maxima (Cucurbitaceae)**. Australasian Plant Disease Notes 3: 21–23. 2008.

TO-ANUN, C. HIDAYAT, I. MEEBON, J. Genus Cercospora in Thailand: Taxonomy and phylogeny (with a dichotomous key to species). **Plant Pathology & Quarantine 1**: 11–87. 2011.

VOLPIN, H.; ELAD, Y. Influence of calcium nutrition on susceptibility of rose flowers to Botrytis cinerea. **Phytopathology**, v.81, p.1390-1394. 1991.

WHITE, T.J., BRUNS T., TAYLOR J.W. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications**, v. 18, n. 1, p. 315-322, 1990

8. ANEXOS

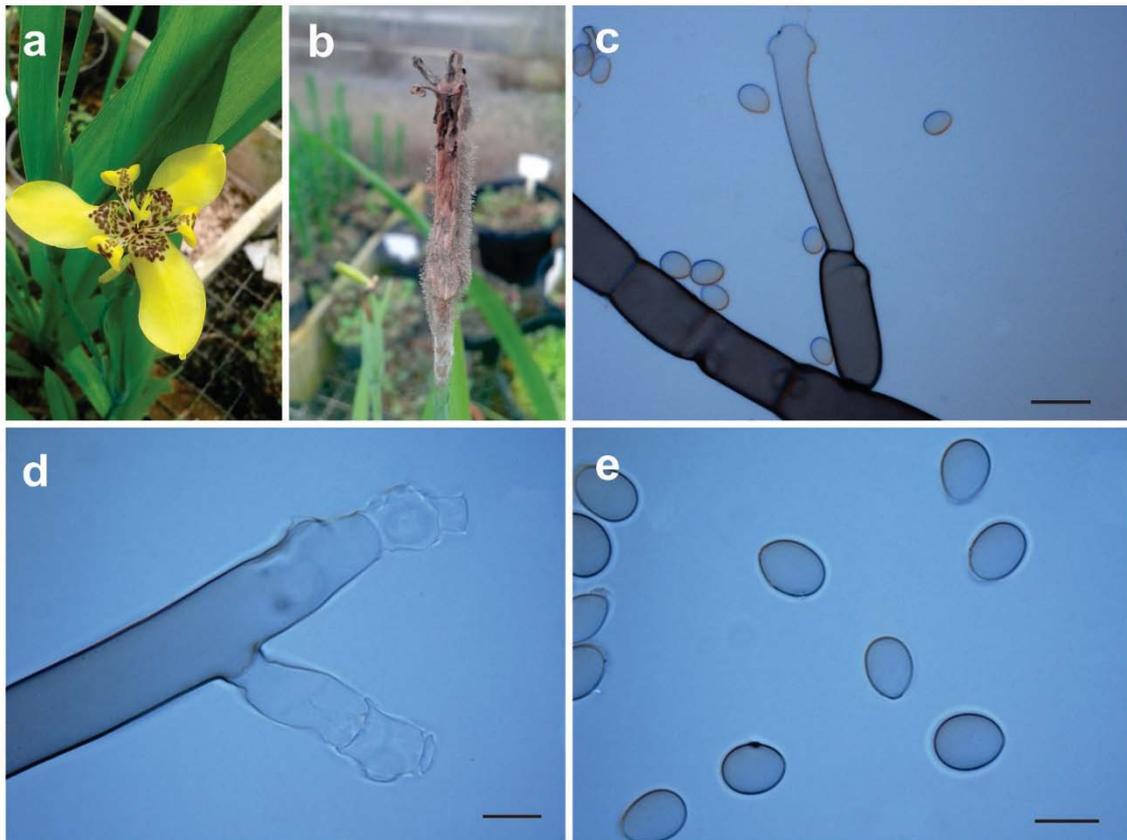


Figura 1. a) *Neomarica longifolia*. b) Sintomas e sinais de *Botrytis cinera*. c) conidióforo ramificado. d) conidióforo e célula conidiogênica. e) conídios. Figura C barra de 20 μm . Figuras D e E barra de 10 μm .

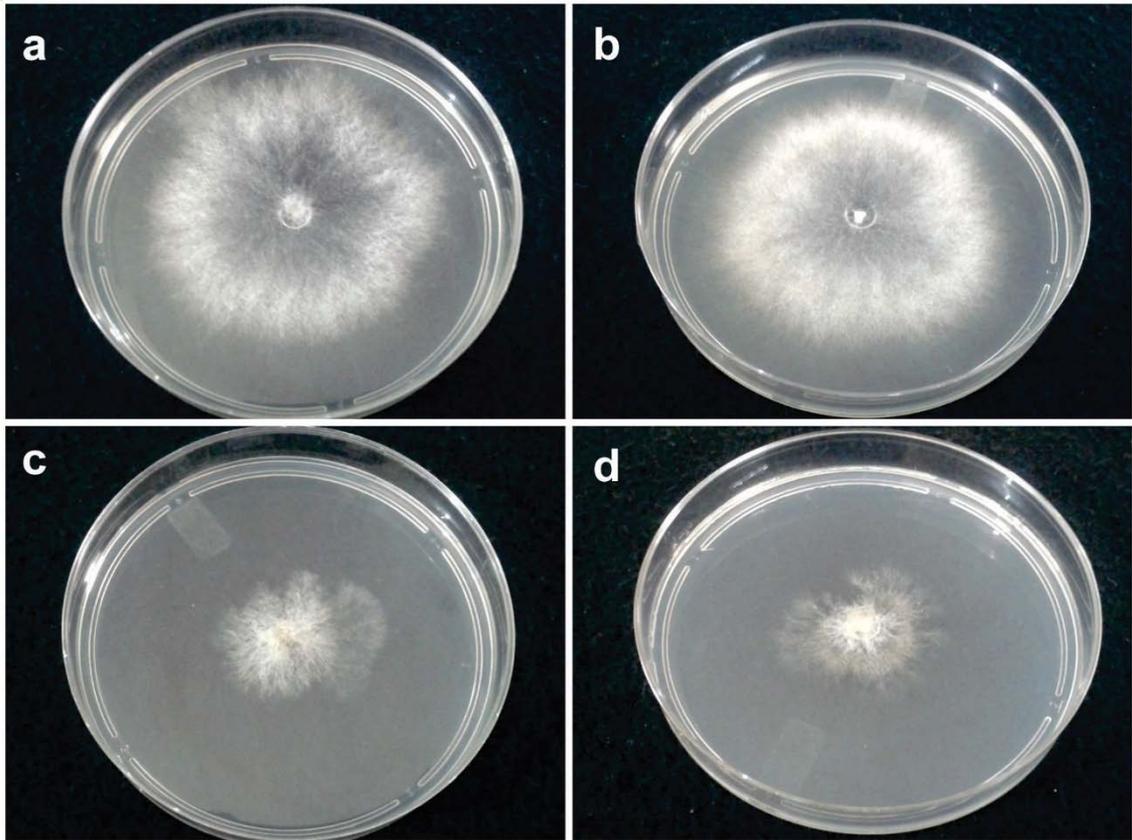


Figura 2. Colônias de *B. cinera*. a,b) em BDA com presença e ausência de luz, respectivamente. c,d) em BCA com presença e ausência de luz, respectivamente.

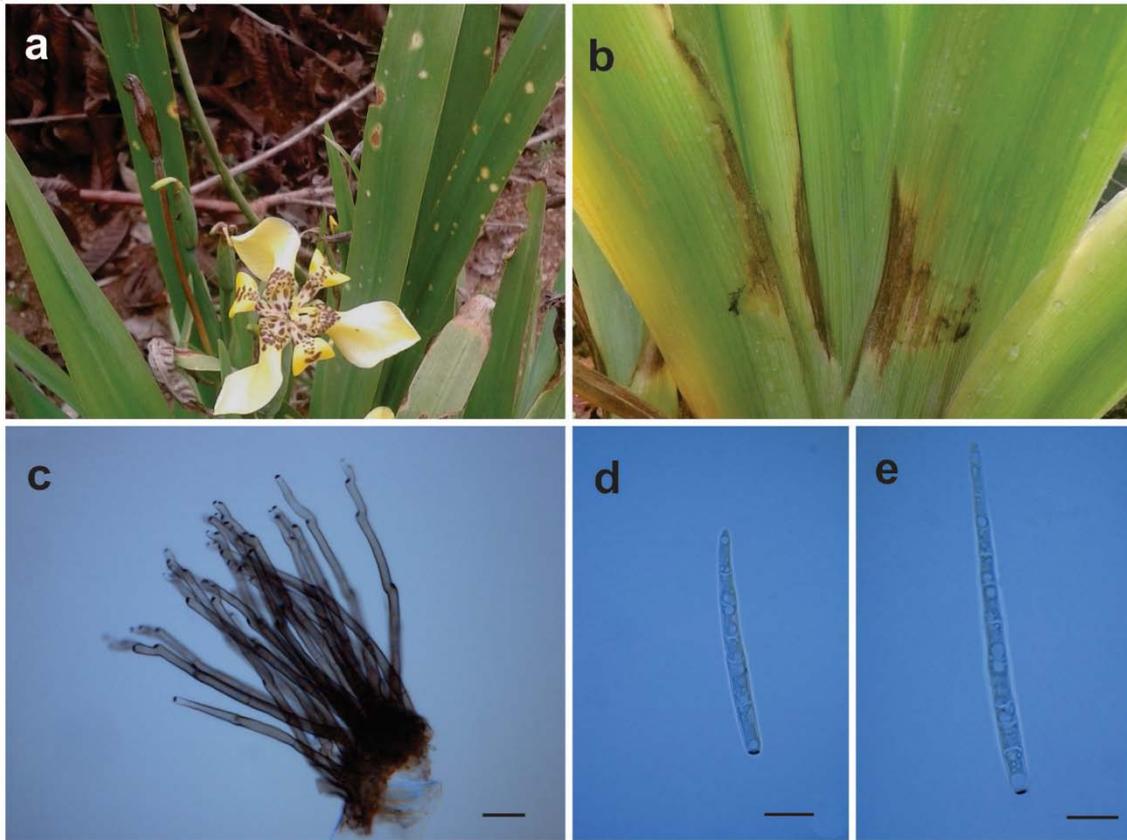


Figura 3. a) Sintomas de manchas foliares. b) sintomas após inoculação com *Cercospora sp.* para demonstração da patogenicidade. c) conidióforos. d,e) conídios. Figura C barra de 20 μm . Figura D e E barra de 10 μm .

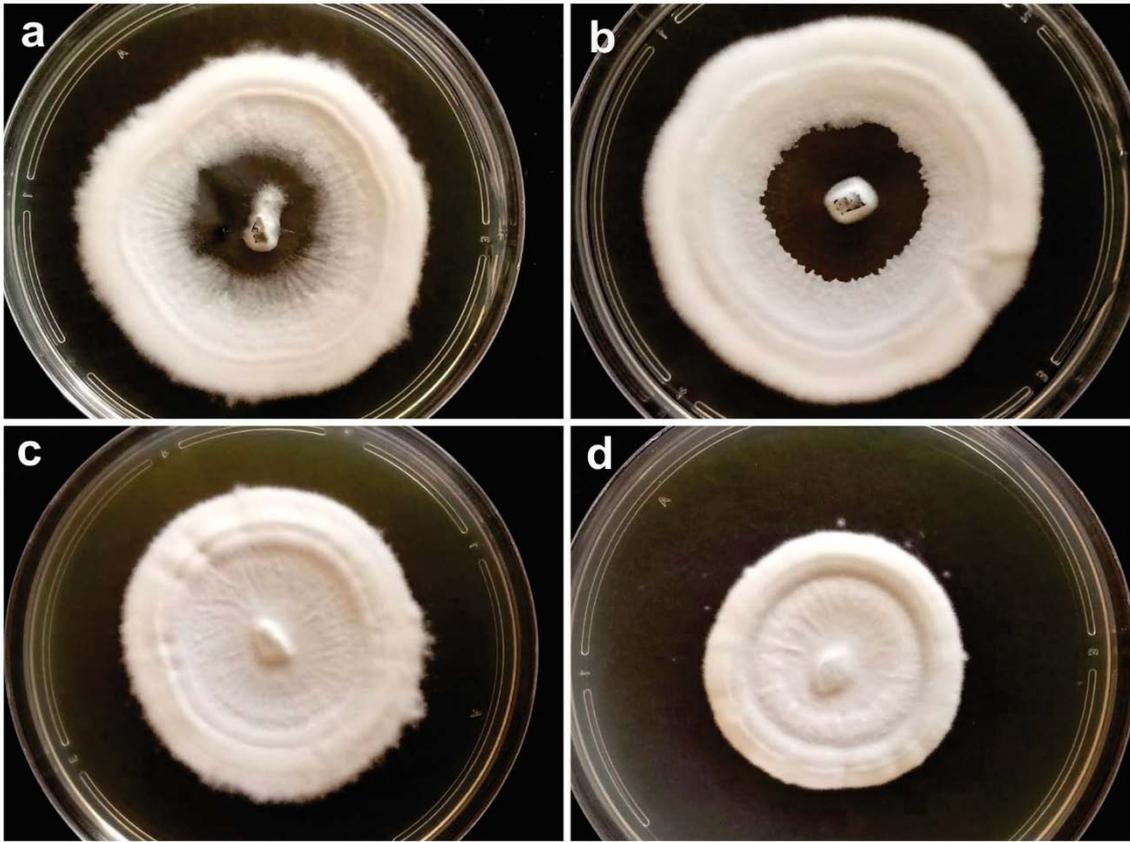


Figura 4. Colônias de *Cercospora sp.* a,b) em BDA com presença e ausência de luz, respectivamente. c,d) em BCA com presença e ausência de luz, respectivamente