



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FITOPATOLOGIA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Dissertação de Mestrado

Desvendando a Etiologia do Complexo de Doenças “Podridão de Phomopsis” da Berinjela no Brasil e Busca por Fontes de Resistência de Amplo Espectro em Germoplasma de *Solanum melongena* L.

Bruno Alves da Silva

**Recife – PE
2024**

BRUNO ALVES DA SILVA

Desvendando a etiologia do complexo de doenças “Podridão de Phomopsis” da berinjela no Brasil e busca por fontes de resistência de amplo espectro em germoplasma de Solanum melongena L.

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

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Ailton Reis (UFRPE)

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Silva Boiteux (UFRPE)

RECIFE-PE

Fevereiro – 2024

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

S586d Silva, Bruno
Desvendando a Etiologia do Complexo de Doenças “Podridão de Phomopsis” da Berinjela no Brasil e Busca por Fontes de Resistência de Ampla Espectro em Germoplasma de *Solanum melongena* L. / Bruno Silva. - 2024.
100 f.: il.

Orientador: Ailton Reis.
Coorientador: Leonardo Silva.
Inclui referências e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Recife, 2024.

1. Fitopatologia. 2. Berinjela. 3. Resistência Genética. 4. *Diaporthe vexans*. I. Reis, Ailton, orient. II., Leonardo Silva, coorient. III. Título

Desvendando a etiologia do complexo de doenças “Podridão de Phomopsis” da berinjela no Brasil e busca por fontes de resistência de amplo espectro em germoplasma de Solanum melongena L.

BRUNO ALVES DA SILVA

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 29 / 02 / 2024

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Ailton Reis (UFRPE/Embrapa)

EXAMINADORES:

Prof^a. Dr^a. Kamila Câmara Correia (UFCA)

Prof. Dr. Alexandre Reis Machado (UFPE)

RECIFE – PE
FEVEREIRO – 2024

*Aos meus pais, Celeste e Welhiton e minhas avós,
Bernadete e Carmelita. A minha irmã Brenda. Aos
meus amigos e familiares.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua graça, que me sustentou em mais uma jornada.

Aos meus pais Celeste e Welhiton, que sempre acreditaram em mim, me motivaram e apoiaram.

Aos meus irmãos de longas datas, Brenda, Francielle, Rute, Anderson e Jeferson, pela amizade, conselhos e por sempre estarem ao meu lado mesmo distantes, apoiando as minhas decisões.

Ao meu orientador e coorientador Prof. Dr. Ailton Reis e Leonardo Boiteux, pela orientação, paciência, ensinamentos que foram valiosos durante a condução deste trabalho e por terem demonstrado o exemplo de profissionalismo em todos os momentos.

A Embrapa Hortaliças, por permitir a condução dos experimentos e por me acolher durante o ano de 2023.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Hortaliças, Ruthe, Guilherme, Higor, Ellen, Valquíria, Gabriel, Fabiana, Luana e Wagner por tornarem os dias de trabalho mais leves e divertidos e pelos inúmeros momentos de aprendizado.

A Dr.^a Josiene S. Veloso, Dr.^a Esther e o Chico, por toda assistência, durante o processo de análise molecular.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos que de forma direta e indireta contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| AGRADECIMENTOS | iv |
| SUMÁRIO..... | v |
| RESUMO GERAL | 19 |
| GENERAL ABSTRACT..... | 20 |
| | 8 |
| INTRODUÇÃO GERAL | 8 |
| 1.2 Importância econômica | 22 |
| 2. Podridão de Phomopsis | 24 |
| 2.1. A espécie <i>Diaporthe vexans</i> | 26 |
| 2.2 Filogenia e taxonomia do complexo <i>Diaporthe/Phomopsis</i> | 27 |
| 3. Resistência genética envolvendo <i>Diaporthe vexans</i> | 29 |
| 3.1. O híbrido Ciça | 29 |
| 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 32 |
| CAPÍTULO II..... | 44 |
| RESUMO | 46 |
| ABSTRACT | 47 |
| INTRODUÇÃO..... | 48 |
| MATERIAIS E MÉTODOS..... | 51 |
| RESULTADOS | 55 |
| DISCUSSÃO | 57 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 59 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 60 |
| CAPÍTULO III | 75 |
| RESUMO | 77 |
| ABSTRACT | 78 |
| INTRODUÇÃO..... | 79 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 81 |
| RESULTADOS | 83 |
| DISCUSSÃO | 84 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 86 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 86 |

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DE UM COMPLEXO DE PATÓGENOS ASSOCIADOS À PODRIDÃO DE PHOMOPSIS EM BERINJELA NO BRASIL

Páginas

Tabela 1. Primers utilizados neste estudo, detalhes das sequências e referências.....66

Tabela 2. Isolados fúngicos coletados em áreas produtoras de berinjela (*Solanum melongena* L.) e utilizados no presente estudo, código do isolado, órgão isolado, cidade/estado e ano da coleta. ND = dado não disponível.....67

Tabela 3. Comparação da capacidade genética das regiões genômicas distinguirem espécies associadas a Podridão de Phomopsis da berinjela (*Solanum melongena* L.).69

Tabela 4. Quadro de análise de variância das variáveis isolados x métodos de inoculação de isolados em fruto de berinjela (cv. Ciça)70

Tabela 5. Diâmetro médio das lesões associadas a inoculação dos patógenos causadores da Podridão de Phomopsis pelos métodos com e sem fermento em frutos de berinjelas (cv. Ciça)70

Tabela S1. Relação dos isolados e número de acesso do GenBank das sequências utilizadas como referência nas análises filogenéticas.....100

CAPÍTULO III

BUSCA EM GERMOPLASMA DE BERINJELA POR FONTES DE RESISTÊNCIA DE AMPLO ESPECTRO CONTRA DOIS PATÓGENOS ASSOCIADOS COM A MANCHA FOLIAR DE PHOMOPSIS NO BRASIL

Páginas

Tabela 1. Genótipos de berinjela (*Solanum Melongena* L.) utilizados no presente estudo.....92

Tabela 2. Quadro de análise de variância das variáveis acessos de berinjela x isolado utilizados no presente estudo.....94

Tabela 3. Resultados médios da análise de interação acessos x isolados obtidos a partir de três avaliações da severidade dos patógenos *Boeremia* sp. (PIC 73) e *Stagnosporopsis* sp. (PIC 117), considerando 61 acessos de berinjela provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Hortaliças.....95

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

Páginas

Figura 1. Sintomas da Podridão de *Phomopsis* em área produtora de berinjela. Sintomas em folhas (A), inflorescência (B) fruto (C) e ramos (D).....31

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DE UM COMPLEXO DE PATÓGENOS ASSOCIADOS À PODRIDÃO DE PHOMOPSIS EM BERINJELA NO BRASIL

Páginas

Figura 1. Ensaios de patogenicidade de isolados dos patógenos associados à Podridão de *Phomopsis* em frutos da berinjela (*Solanum melongena*). Frutos higienizados, secando (A), inoculação de frutos, com fermento (B) e câmara úmida (C).....70

Figura 2. Maximum likelihood tree of the *Boeremia* species on eggplant was based on DNA sequences of ITS, TUB, ACT and TEF gene. Numbers at the branches indicate support values (SH-aLRT (≥ 80)/ UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95)) with thickened branches indicating full support (SH-aLRT/ UFboot = 100 %; BI-PP = 1). Ex-types are emphasized in bold. “*” indicates the isolate obtained in this study. Tree is rooted in the midpoint. The scale bar indicates the estimated number of substitutions per site.....71

Figura 3. Maximum likelihood tree of the *Cumuliphoma* species on eggplant was based on DNA sequences of ITS, TUB, ACT and TEF gene. Numbers at the branches indicate support values (SH-aLRT (≥ 80)/ UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95)) with thickened branches indicating full support (SH-aLRT/ UFboot = 100 %; BI-PP = 1). Ex-types are emphasized in bold. “*” indicates the isolate obtained in this study. The tree is rooted to *Nothophoma infossa* CBS 123394 and *Nothophoma infossa* CBS 123395. The scale bar indicates the estimated number of substitutions per site.....73

Figura 4. Maximum likelihood tree of the *Diaporthe* species on eggplant was based on DNA sequences of ITS, TUB and TEF gene. Numbers at the branches indicate support values (SH-aLRT (≥ 80)/ UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95)) with thickened branches indicating full support (SH-aLRT/ UFboot = 100 %; BI-PP = 1). Ex-types are emphasized in bold. “*” indicates the isolate obtained in this study. Tree is rooted in the midpoint. The scale bar indicates the estimated number of substitutions per site.....74

Figura 5. Maximum likelihood tree of the *Stagonosporopsis* species on eggplant was based on DNA sequences of ITS, TUB and TEF gene. Numbers at the branches indicate support values (SH-aLRT (≥ 80)/ UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95)) with thickened branches indicating full support (SH-aLRT/ UFboot = 100 %; BI-PP = 1). Ex-types are emphasized in bold. “*” indicates the isolate obtained in this study. Tree is rooted in the midpoint. The scale bar indicates the estimated number of substitutions per site.....75

CAPÍTULO III

BUSCA EM GERMOPLASMA DE BERINJELA POR FONTES DE RESISTÊNCIA DE AMPLO ESPECTRO CONTRA DOIS PATÓGENOS ASSOCIADOS COM A MANCHA FOLIAR DE PHOMOPSIS NO BRASIL

Páginas

Figura 1. Ensaios da produção de mudas e inoculação. Mudas com 10 dias após semeadura (**A**), plantas após 40 dias de nascimento (**B**), inoculação (**C**) e submissão a câmara úmida (**D**).....91

Figura 2. Conjunto de diagramas de área padrão para avaliação da severidade da queima foliar de *Phomopsis* em berinjela. Os números nos diagramas representam a porcentagem (%) de área foliar com sintomas necróticos da doença.....91

RESUMO GERAL

A berinjela (*Solanum melongena* L.) é a quarta hortaliça de importância econômica da família Solanaceae. Apesar de essa ser uma cultura bastante rústica, a qual é mais tolerante a doenças que outras espécies da família Solanaceae, como o tomate, a batata e o pimentão, muitos problemas ainda interferem em sua produtividade, principalmente os de caráter fitossanitário. A podridão de Phomopsis é uma das principais doenças da berinjela presente nos principais polos produtores do Brasil. A doença afeta toda a parte aérea da planta, entretanto os danos maiores ocorrem quando o patógeno incide sobre as folhas e os frutos. Os frutos infectados desenvolvem uma podridão inicialmente dura, que pode evoluir para uma podridão mole e deterioração dos tecidos. As lesões no caule podem levar a uma murcha e morte dos ramos acima das mesmas. Nas folhas se formam manchas marrom escuras circulares e concêntricas, que podem ser confundidas com aquelas causadas por *Alternaria* spp. Para controle da doença, são recomendados o uso de sementes e mudas sadias, defensivos agrícolas e o uso de cultivares resistentes. Neste último, o híbrido 'Ciça' (liberado como resistente ao fungo *D. vexans*) e outras cultivares têm se mostrado suscetíveis ao patógeno em condições de campo. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo esclarecer a etiologia da podridão de Phomopsis no Brasil, além de testar a patogenicidade de isolados em frutos (cultivar Ciça) e avaliar a coleção de acessos de berinjela pertencentes à Embrapa Hortaliças visando identificar fontes de resistência genética efetivas contra os possíveis agentes causais da doença. As análises filogenéticas feitas com base na informação das sequências das regiões genômicas (ITS- espaço interno transcrito, TEF- fator de alongação, Tub-2- beta tubulina e ACT- α actina) para 21 isolados, identificou um complexo de espécies fúngicas causando a doença. Reconhecidas como: (*Boeremia sp1* e *Boeremia sp2*), *Cumuliphoma pneumoniae*, (*Diaporthe endophytica*, *D. griceae* e *D. vexans*) e (*Stagonosporopsis sp.* e *S. pogostemon*). Este é o primeiro relato das espécies ocorrendo em berinjela no Brasil. O teste de patogenicidade em frutos (cv. Ciça) foi feito por meio da inserção de discos de micélio pelos métodos com (CF) e sem fermento (SF) em frutos, para 4 isolados. Na avaliação, mediu-se o diâmetro das lesões em cada fruto, e calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Não foi identificada variabilidade patogênica para os isolados, apesar disso, os ensaios com fermentos (CF) demonstraram maiores valores de AACPD. Na seleção de fontes de resistência, dos 61 acessos testados, para dois dos isolados dos patógenos, dados de severidade da doença foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Assim, 67,22% dos acessos demonstram resistentes a *Boeremia* sp. e 83,60% foram resistentes a *D. griceae*.

Palavras-Chaves: Complexo de espécies; Filogenia; Resistência; *Solanum melongena* L.

GENERAL ABSTRACT

Eggplant (*Solanum melongena* L.) is the fourth economically important vegetable in the Solanaceae family. Despite being a very rustic crop, which is more tolerant to diseases than other species in the Solanaceae family, such as tomatoes, potatoes and peppers, many problems still interfere with its productivity, mainly the phytosanitary nature. Phomopsis rot is one of the main diseases of eggplant present in the main producing centers in Brazil. The disease affects the entire aerial part of the plant, however the greatest damage occurs when the pathogen affects the leaves and fruits. Infected fruits develop initially long-lasting rot, which can progress to soft rot and tissue interference. Injuries to the stem can lead to wilting and death of the branches above them. Dark brown, circular and concentric spots form on the leaves, which can be confused with those caused by *Alternaria* spp. To control the disease, the use of healthy seeds and seedlings, agricultural pesticides and the use of resistant cultivars are recommended. In the latter, the hybrid 'Ciça' (released as resistant to the fungus *D. vexans*) and other cultivars have been shown to be susceptible to pathogens under field conditions. Therefore, the present work aimed to clarify the etiology of Phomopsis rot in Brazil, in addition to testing the pathogenicity of isolates in fruits (cv. Ciça) and evaluating the collection of eggplant accessions belonging to Embrapa Hortaliças, discovering sources of effective genetic resistance against the possible causal agents of the disease. The phylogenetic analyzes carried out based on sequence information from genomic regions (ITS- internal transcribed space, TEF- elongation factor, Tub-2- beta tubulin and ACT- α actin) for 21 isolates, identified a complex of fungal species causing illness. Recognized as: (*Boeremia* sp1 and *Boeremia* sp2), *Cumuliphoma pneumoniae*, (*Diaporthe endophytica*, *D. griceae* and *D. vexans*) and (*Stagonosporopsis* sp. and *S. pogostemon*). This is the first report of the species occurring in eggplant in Brazil. The pathogenicity test on fruits (cv. Ciça) was carried out by inserting mycelium discs using the methods with (CF) and without injury (SF) into fruits, for 4 isolates. During the evaluation, the diameter of the lesions on each fruit was measured, and the area under the disease progress curve (AACPD) was calculated. No pathogenic variability was identified for the isolates, despite this, wound assays (CF) demonstrated higher AACPD values. In the selection of resistance sources, of the 61 accessions tested, for two of the pathogen isolates, disease severity data were used to calculate the area under the disease progress curve (AACPD). Thus, 67.22% of accessions are resistant to *Boeremia* sp. and 83.60% were resistant to *D. griceae*.

Keywords: Species complex; Phylogeny; Resistance; *Solanum melongena* L.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

Desvendando a etiologia do complexo de doenças “Podridão de Phomopsis” da berinjela no Brasil e busca por fontes de resistência de amplo espectro em germoplasma de *Solanum melongena* L.

INTRODUÇÃO GERAL

1. A cultura da berinjela (origem, aspectos botânicos, morfológicos e genéticos)

A berinjela (*Solanum melongena* L.) é uma hortaliça perene pertencente à família Solanaceae, entretanto, é cultivada como cultura anual, sendo amplamente plantada nas áreas de clima tropical e subtropical (ROSA et al., 2022). A berinjela é uma das poucas espécies cultivadas de Solanaceae originárias do Velho Mundo (DOGANLAR et al. 2002, DAUNAY 2008). A Índia é o mais provável centro de origem primário devido às inúmeras referências disponíveis em sânscrito, bengali, hindi e outras línguas indianas. Por sua vez, a Indo-Birmânia, China e Japão são considerados centros de diversidade secundários (GLEDDIE et al. 1986). No Brasil, a berinjela foi introduzida no século XVI pelos portugueses, porém foram os árabes que incluíram os frutos na culinária nacional (VALADARES, 2018). Ainda, no país, a norma culta de grafia dessa hortaliça é **berinjela** (origem na palavra persa *badndjan*). Por sua vez, em Portugal a grafia correta é **beringela**.

A berinjela é uma planta arbustiva, com caule semilenhoso, rígido, podendo atingir de 1,0 a 1,80 m de altura e, em regiões com baixa intensidade de ventos, dispensa o tutoramento. As folhas da berinjela são simples, com limbo foliar de formato oval ou oblongo-ovalado e, dependendo da cultivar, podem apresentar espinhos. A espécie *S. melongena* tem flores perfeitas, auto-compatíveis e predominantemente autógamas, mas que pode ser classificada dentro de um grupo intermediário entre autógamas e alógamas (BOSCO, 2006; MARQUES, 2009). O tamanho das flores varia de 3 a 5 cm de diâmetro. O cálice com 5 a 7 sépalas, frequentemente apresenta espinho. A corola é do tipo gamopétala, com 5 a 6 pétalas de coloração lilás a violeta. Algumas cultivares apresentam flores e frutos brancos. Os 5 a 6 estames são livres, eretos, amarelos e com filamentos bem curtos (RIBEIRO et al., 1998). O fruto é do tipo baga carnosa, de formato variável (oval, oblongo, redondo, oblongo-alongado, alongado) geralmente com a textura externa lisa e brilhante, são de cores geralmente escuras partindo de vermelha a roxa (FRANÇA,

2008). Como mencionado, algumas cultivares apresentam frutos totalmente brancos, de formato oval, que deu origem ao nome popular em inglês desta espécie (“eggplant”).

Há uma diversidade de espécies de berinjelas catalogadas pelo mundo. Entre as mais difundidas, estão a *S. melongena* (berinjela comum) e as espécies *Solanum aethiopicum* L. (berinjela escarlate ou jiloeiro) e *Solanum macrocarpon* L., esta última sendo cultivada na África subsaariana (MORRIS; TAYLOR, 2017).

Encontram-se disponíveis no mercado brasileiro cerca de 20 cultivares de berinjela, entre híbridos e cultivares de polinização aberta. Estas cultivares diferem entre si em produtividade, formato, coloração, brilho de frutos e resistência a doenças. Os híbridos são mais plantados, devido principalmente ao alto vigor, maior produtividade, uniformidade das plantas e frutos e maior adaptação a diferentes condições edafoclimáticas (RIBEIRO et al., 1998; FILGUEIRA, 2008). Por exemplo, o híbrido ‘Ciça’ que foi liberado pela Embrapa Hortaliças, atende à preferência de consumidores por seu formato alongado, de coloração roxo-escuro e brilhante (SILVA et al., 2007).

Do ponto de vista do melhoramento genético vegetal, a berinjela é uma das hortaliças onde o vigor de híbrido (heterose) vem sendo explorado economicamente há mais tempo que nas demais culturas. A existência de acentuado grau de heterose em berinjela é amplamente documentada na literatura mundial (IKUTA, 1969; PAL & RAMANUJAM, 1944; ODLAND & NOLL, 1948; PAL & SINGH, 1946) e brasileira (IKUTA, 1969; IKUTA, 1961). A heterose foi definida por Jones (1968) como sendo a tendência de indivíduos obtidos por cruzamento em ultrapassar seus genitores endogâmicos e suas gerações endogâmicas em alguns aspectos. Assim, plantas mais vigorosas e produtivas são geralmente obtidas em gerações F1 de hortaliças, como a berinjela (PATERNIANI, 1974).

1.2 Importância econômica

O agronegócio de hortaliças é um ramo da economia agrícola que possibilita a geração de grande número de empregos, devido à elevada exigência de mão de obra desde a semeadura até a comercialização (VILELA & HENZ, 2000). A produção mundial de berinjela e área plantada têm crescido de forma acelerada. No ano de 2019 a produção mundial foi de 55,2 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2020), com significativa participação da China, com 804.381 ha, da Índia, com 749.000 ha e do Egito com 53.419 ha (FAO, 2021).

Apesar de ser uma cultura bastante consumida pelos brasileiros, o mapeamento da produção de berinjela é ainda pouco analisado em estatísticas institucionais, o que prejudica a análise do avanço dessa cultura no país. Os dados do último levantamento disponibilizado pelo IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA), através do Censo Agropecuário de 2017 para a cultura da berinjela, indica uma produção estimada de 72 mil toneladas ao ano, sendo a região Sudeste responsável por 73% da produção nacional. O principal estado produtor é São Paulo, responsável por \approx 39% da produção nacional, seguido pelo Rio de Janeiro (15,5%) e Minas Gerais (14,5%).

A recente intensificação no consumo da berinjela se deve ao seu valor nutricional, com alto teor de sais minerais (destacando o cálcio, o ferro e o fósforo), vitaminas e fibras, contribuindo de forma significativa para o aprimoramento de dietas. O fruto tem sido utilizado para a redução das taxas de gordura e colesterol no sangue. Ainda, nota-se que a berinjela cozida é rica em vitaminas, riboflavina, niacina e ácido ascórbico. Desse modo a população tem recorrido a manejos alternativos, saudáveis, naturais e de baixo custo (ANEFALOS et al., 2008; LIMA, 2009).

Uma peculiaridade do fruto da berinjela é apresentar quase 50% de seu volume preenchido por ar entre as células, com tamanho dos frutos que pode variar de 14 a 25 cm de comprimento (ROSA et al., 2018). Por esta razão, a berinjela é macia e pouco sensível a danos mecânicos. Apresenta pouquíssimas calorias e praticamente nenhuma gordura, além disso, contém elevados teores de vitaminas e minerais, como, por exemplo, vitamina C (3 mg / 100 g), potássio (205 mg / 100 g), cálcio (9 mg / 100 g), magnésio (13 mg / 100) (NEPA, 2011), além de componentes fenólicos e flavonoides (QUAMRUZZAMAN et al., 2022)

No Brasil, as berinjelas são principalmente comercializadas *in natura* e utilizadas domesticamente após algum tratamento térmico (cozidas em água, refogadas em óleo, fritas e assadas). De fato, no país, a industrialização de berinjelas se dá, basicamente, em pequenas empresas que processam berinjelas secas, picles fermentados, conservas com outras hortaliças e também na produção de pastas apreciadas na culinária de origem árabe (EMBRAPA, 2007).

Apesar de a berinjela ser uma das espécies mais rústicas entre as hortaliças pertencentes à família Solanaceae, a mesma é suscetível a algumas doenças que podem causar perdas consideráveis ou comprometer a qualidade do produto, dependendo da cultivar, da época de cultivo e das condições ambientais prevalentes no local do plantio

(EMBRAPA, 2007). As principais doenças observadas são as causadas por fungos: murcha de *Verticillium* (SUASTE-DZUL et al 2022; 2023), seca dos ramos, antracnose, podridão de Esclerotínia, tombamento e podridão do colo e raiz, podridão de Esclerócio, podridão algodão, murcha de *Ascochyta*, mancha de *Stemphylium*, podridão de *Phomopsis*, mancha de *Alternaria* e podridão de *Botritis* (REIS et al., 2011); as causadas por bactérias: Murcha bacteriana, mancha bacteriana e podridão mole (REIS et al., 2011); as causadas por nematoides das galhas (BOITEUX & CHARCHAR, 1996); as causadas pelos vírus: APMV (*Andean Potato Mottle Virus*), PVY (*Potato Virus Y*), GRSV – *Groundnut ringspot virus* (JORGE et al., 2023) e ToCV – *Tomato chlorosis virus* (FONSECA et al., 2016) e o superbrotamento causado por fitoplasma (BOITEUX et al., 1994).

2. Podridão de *Phomopsis*

A podridão dos frutos da berinjela, causada por *Diaporthe vexans* Sacc. & P. Syd. (*Phomopsis vexans*), foi relatada inicialmente em Gujarat, Índia em 1914 (RANGASWAMY & MAHADEVAN, 2002) e logo depois se espalhou para quase todos os estados onde quer que a berinjela fosse cultivada naquele país. O patógeno *D. vexans* sobrevive em sementes, infectando principalmente o tegumento (2%), cotilédones (4%), eixo embrionário (4%) e posteriormente ataca todas as partes da planta acima do solo (THIPPESWAMY et al., 2005). O fungo permanece no tegumento e cotilédones da semente de berinjela causando vários graus de descoloração e produzindo minúsculos picnídios pretos que são distintamente observados na superfície da semente seca (KARUNA et al., 1994).

A berinjela é a única hospedeira de importância econômica de *D. vexans*. A doença é conhecida como *damping-off*, cancro, queima ou mancha de folhas e ainda podridão dos frutos. As manchas foliares (até 3 cm de diâmetro) são de contornos irregulares e podem coalescer. As folhas inferiores são, geralmente, as primeiras a serem afetadas. Nas lesões do caule, o córtex seca e formam-se rachaduras, os ramos quebram, as plantas tornam-se atrofiadas e posteriormente podem morrer.

As manchas nos frutos são pálidas e deprimidas, conspícuas e podem afetar todo o fruto. Esses quando ainda atacados podem cair ou permanecer ligados à planta, tornando-se mumificados (ISLAM et al., 2010) (**Figura 1**). A infecção de sementes resulta em tombamento pré-emergência e pós-emergência das plântulas (KAUSHAL & SUGHA, 1995). As perdas causadas por *D. vexans* são principalmente atribuídas à diminuição do

número de frutos, peso e podridão desses, além da queda das flores, o que reduz o rendimento e a comercialização em torno de 20-70% (CRISTINA 2002; JAYARAMAIAH et al., 2013).

Quanto aos fatores epidemiológicos, *D. vexans* requer condições quentes e úmidas para infecção e desenvolvimento da doença. A germinação ótima de esporos ocorre a 27°C, e a formação de picnídios é maior entre 30 e 35°C (PAWAR & PATEL, 1957). A umidade relativa ótima para o desenvolvimento da doença é acima de 55% (CHAUDHARY & HASIJA, 1980), e a temperatura ótima para o crescimento do fungo é de 28°C (PAWAR & PATEL, 1957). Os conídios germinam após 6 horas e a penetração ocorre após 12 horas. Nos tecidos da planta, a propagação do fungo é tanto intercelular quanto intracelular. Mudanças e caules jovens são altamente suscetíveis. O tecido maduro apresenta hipertrofia e hiperplasia abaixo da região afetada, impedindo maior disseminação do fungo (DIVINAGRACIA, 1968).

A semente é a fonte de infecção de *D. vexans* e pode servir como substrato para a sobrevivência do patógeno (PAN et al., 1995). O patógeno permanece no tegumento e cotilédones das sementes de berinjela causando vários graus de descoloração e é possível observar minúsculos corpos picnídios pretos na superfície da semente seca (KARUNA et al., 1994). O tegumento das sementes é a parte preponderante para abrigar patógenos transmitidos por sementes, mas eles também podem existir nos cotilédones e no eixo embrionário, ou seja, plúmula e radícula (BASAK, 1998 & SHRESTHA, MATHUR, & MUNK, 2000; VISHUNAVAT & KUMAR, 1994;). O inóculo sobrevive também nos restos da cultura e em frutos secos e murchos por cerca de 14 meses (CHEEWAWIRIYAKUL et. al. 2006; JAYARAMAIAH et al., 2013; KALDA, SWARUP & CHOUDHURY, 1976; SINGH & CHAKRABARTI, 1982). Localmente os conídios são disseminados pelo vento e pela chuva (EDGERTON & MORELAND, 1921). Os mesmos são envoltos por matriz mucilaginosa, sendo necessária a ocorrência de chuva para a liberação, dispersão e deposição dos esporos nas plantas em desenvolvimento. Assim, precipitações mais frequentes no início do ciclo favorecem a dispersão do patógeno, uma vez que as gotas atingem o solo e transportam os esporos até as plantas (YORINORI, 1996).

Para controle desta doença são recomendados o uso de sementes e mudas saudáveis, cultivares resistentes e os defensivos químicos (REIS et al., 2011). Uma dificuldade no manejo químico da doença é que há apenas quatro produtos cúpricos registrados no MAPA para o seu controle (AGROFIT, 2023). Além disso, os fungicidas químicos são

caros, o que poderia elevar os custos de produção, dificultando o cultivo para os pequenos agricultores. Nesse contexto, o uso de cultivares resistentes é a melhor estratégia para o controle da doença, considerada segura, viável e prática (CAMARGO, 2011).

2.1. A espécie *Diaporthe vexans*

O complexo *Diaporthe/Phomopsis* é classificado dentro do filo Ascomycota, sub-filo Pezizomycotina, classe Sordariomycetes, ordem Diaporthales, caracterizados como fungos sexuais, dos quais a maioria possui sua forma assexual conhecida (KENDRICK, 2001). *P. vexans* é o estágio anamórfico de *D. vexans*, patógeno capaz de causar severas perdas na produção de frutos da berinjela em diferentes partes do mundo. O fungo é transmitido por sementes e produz um grande número de α conídios que causam infecção e subsequente desenvolvimento da doença em berinjela, seu único hospedeiro relevante (EDGERTON & MORELAND, 1921; SHERF & MACNAB, 1986). Esse fungo possui a capacidade de sobreviver em restos culturais, mas o inóculo transmitido pelas sementes é uma grande preocupação quando estas são exportadas para áreas onde o fungo ainda não está presente. Os conídios ainda são dispersos localmente pelo vento e pela chuva (EDGERTON & MORELAND, 1921). As sementes infectadas contêm micélio septado ramificado profuso agregado ao tegumento, entre esse e o endosperma e na região embrionária das sementes. Os picnídios são produzidos entre o tegumento e o endosperma e no tecido do endosperma da semente (VISHUNAVAT & KUMAR, 1994).

Diaporthe vexans apresenta conidiomas do tipo picnídio, subepidérmicos, escuros, de paredes espessas, achatados a globosos, variando em tamanho, frequentemente 100–300 μm de diâmetro. Fiálides hialinas, simples ou ramificadas, às vezes septadas, com 10–16 μm de comprimento, originadas da camada mais interna de células que revestem a cavidade do picnídio. Alfa conídios hialinos, asseptados, subcilíndricos, 5–8 \times 2–3 μm . Beta conídios filiformes, curvos, hialinos, septados, 18–32 \times 0,5–2,0 μm . As hifas são hialinas, septadas, 2,5–4,0 μm de diâmetro (EDGERTON & MORELAND, 1921; SHERF & MACNAB, 1986; SINGH, 1987).

A fase sexual do fungo não foi encontrada na natureza, embora GRATZ (1942) tenha relatado a ocorrência de peritécios em meio batata dextrose ágar – BDA (UDAYANGA et al. 2011). As conexões entre as fases teleomórfica e anamórfica foram descritas para \approx 20% das espécies do gênero *Diaporthe* (PHILLIPS, 2006). Essa ausência da fase sexuada em meio de cultura, principalmente quando isolado endofiticamente, torna a identificação

ao nível de espécie neste gênero muito difícil (REHNER & UECKER, 1994). Assim, uma abordagem molecular é essencial para identificar e caracterizar de forma abrangente o gênero *Diaporthe* (SANTOS & PHILLIPS 2009, DIOGO et al. 2010, LUONGO et al. 2011, UDAYANGA et al. 2012, b, THOMIDIS et al. 2013, GAO et al. 2017).

Atualmente a classificação de espécies desse gênero é baseada em dados morfológicos e principalmente em filogenias moleculares, especialmente as que utilizam sequências da região ITS do DNA ribossomal e sequência parcial do gene que codifica o Fator α 1 de Elongação da Tradução (TEF). O entendimento sobre o gênero *Diaporthe* expandiu-se por meio de estudos dessas sequências, nos quais alguns dos isolados agruparam-se por regiões geográficas (REHNER & UECKER, 1994). Apesar disso, mesmo utilizando a combinação de dados morfológicos e dados moleculares nem sempre a delimitação de espécies do gênero tem se demonstrado satisfatória (CASTLEBURY, 2006; MENGISTU, 2007; RENSBURG et al., 2006). Outros genes têm sido sequenciados na tentativa de explicar a classificação taxonômica desse gênero.

2.2 Filogenia e taxonomia do complexo *Diaporthe/Phomopsis*

A aplicação precisa de nomes aceitos de fungos fitopatogênicos é essencial para o desenvolvimento de políticas eficazes de biossegurança e comércio (CROUS & GROENEWALD 2005, WINGFIELD et al. 2012). O nome holomórfico para *Diaporthe/Phomopsis* era complexo (ROSSMAN, 2015) e colaboradores recomendaram a adoção do nome sexual tipificado *Diaporthe* (mais velho) em detrimento do nome assexuado tipificado *Phomopsis*. Atualmente, o Index Fungorum (recuperado em abril de 2023) relatou mais de 900 nomes sob o gênero *Phomopsis*, enquanto *Diaporthe* contém mais de 1000 nomes.

As espécies de *Diaporthe* foram tradicionalmente identificadas com base em seus caracteres fenotípicos, como morfologia das colônias, aparecimento de ascomata e conidiomata, variação em ascósporos e conídiosporos e associação ao hospedeiro (DÍAZ et al., 2015; GARCIA-REYNE, et al., 2011; MOSTERT, et al., 2001 e 2001; MURALLI et al., 2006; REHNER et al., 2006; SANTOS et al., 2011; UDAYANGA et al., 2011; UDAYANGA et al., 2012a; VAN RENSBURG et al., 2006). Com a comprovação de que espécies de *Diaporthe* podem ter mais de um hospedeiro (WEHMEYER, 1933; VAN

NIEKERK et al., 2005), mudanças na taxonomia de fungos desse gênero ocorreram e dados moleculares foram adotados para resolver a circunscrição de espécies de *Diaporthe*, baseando-se inicialmente no espaçador interno transcrito (ITS) da região do DNA ribossomal (SANTOS et al., 2009; THOMPSON et al., 2011) e, recentemente, em múltiplos loci incluindo ITS, gene do fator de alongamento da tradução 1- α (*TEF*), β -tubulina (*TUB*), histona (*HIS*) e calmodulina (*CAL*) (SANTOS et al., 2017). Atualmente, o conjunto de dados de cinco loci/regiões genômicas (ITS-TEF-CAL-HIS-TUB) tem sido adotado de forma otimizada para a delimitação de espécies por estudos recentes (GAO et al. 2017; 2018, 2020; CROUS et al., 2020; GUO et al., 2020; HYDE et al., 2020; DOM et al., 2021; NORPHANPHOUN et al., 2022).

Dessa forma, por meio de uma análise de sequências multilocus, na qual sequências de dois ou mais genes são analisados ao mesmo tempo, a concordância na genealogia fornece a resolução da identidade ao nível de espécie, o que é muito útil, sobretudo quando a identificação baseada em taxonomia clássica é praticamente inviabilizada em virtude da carência de caracteres morfológicos suficientemente distinguíveis (CAI et al., 2011; LUMBSCH et al., 2005; ROKAS et al., 2003; VAN DER MERWE et al., 2010; UDAYANGA et al., 2012).

O Reconhecimento Filogenético de Espécies de Concordância Genealógica (GCPSR) como uma abordagem para definir espécies fúngicas foi proposto por TAYLOR et al. (2000), com base no conceito de concordância genealógica de espécies de AVISE & BALL (1990) que requer a análise de vários genes não ligados. O GCPSR representa uma ferramenta aprimorada para a delimitação de espécies no gênero *Diaporthe* em comparação com a identificação morfológica e biológica (FAN et al., 2018; UDAYANGA et al., 2014b). Os princípios da GCPSR baseiam-se no pressuposto de que a recombinação dentro de uma linhagem é provavelmente a razão do conflito dentro das árvores gênicas, com a transição do conflito para a congruência representando os limites da espécie (TAYLOR et al. 2000). A seleção de múltiplos genes com fortes sinais filogenéticos, a ausência de incongruência significativa e a aplicação de critérios padronizados para determinar os limites das espécies são fatores importantes nas melhores práticas de resolução de complexos de espécies e aprimoraram ainda mais os critérios operacionais do GCPSR com a implementação de um processo de duas etapas para resolver filogenias complexas em nível de espécie em fungos (BISCHOFF et al., 2009; DAMM et al., 2013; O'DONNELL et al. 2000; QUAEDVLIEG et al., 2014;

SALICHOS e ROKAS 2013; WATANABE et al., 2011). (DETTMAN JR, et al, 2003 e 2006).

3. Resistência genética envolvendo *Diaporthe vexans*

Entre os objetivos do melhoramento de berinjela listados na literatura, estão a obtenção de resistência genética a pragas e doenças, melhoria da qualidade nutricional e nutracêutica dos frutos, resistência ou tolerância a estresses abióticos, obtenção de frutos partenocárpicos, alta produtividade e melhor qualidade dos frutos (BOITEUX et al. 2016; DAUNAY et al. 2001; DAUNAY 2008; KAUSHIK et al. 2015; SEKARA et al. 2007).

A resistência é a habilidade da planta em suprimir, retardar ou prevenir a entrada ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos (PARLEVLIET, 1997). A estratégia do uso de resistência genética no manejo de doenças de plantas, quando possível, é muito eficaz e a principal defesa da planta contra os patógenos (VALE et al., 2001). O emprego de variedades resistentes representa um pilar dentre as estratégias utilizadas para o controle de doenças, por ser aplicável em pequenas e grandes áreas e possuir baixo impacto ambiental comparado ao uso de agrotóxicos (CAMARGO, 2011).

O uso de variedades resistentes pode ser um dos métodos de controle mais eficazes (DE FIGUEIREDO & PEREIRA, 1944). Extensos trabalhos de melhoramento para resistência à podridão de Phomopsis em berinjela foram realizados com algum sucesso na Flórida, EUA (DECKER, 1946; 1947; 1948; 1949), Índia (DATAR & ASHTAPUTRE, 1988; KALDA et al., 1976; PANDEY et al., 2002), China (REN & ZHANG, 1993; LIU, 1998) e Brasil (REIFSCHNEIDER et al., 1993). Na Índia, outras espécies de *Solanum* filogeneticamente relacionadas com a berinjela foram identificadas como fontes de genes de resistência à doença (DATAR & ASHTAPUTRE, 1988; SHERF & MACNAB, 1986).

A cultivar mais plantada no nordeste brasileiro é o híbrida "Ciça ", desenvolvido pelo Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPQ), lançada em 1991. A mesma é resistente à antracnose (*Colletotrichum gloesporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.) e podridão de Phomopsis (*P. vexans*) (REIFSCHNEIDER et al., 1993) e ainda continua sendo cultivada e estudada (MALDANER et al., 2009).

3.1. O híbrido Ciça

O mercado brasileiro de berinjela é dominado pelos híbridos, devido às suas

características de produtividade, tolerância às doenças e pragas, uniformidade e qualidade dos frutos. A introdução dos híbridos de berinjela no mercado foi iniciada na década de 60, sendo possível devido à ocorrência de heterose, comum nesta e em algumas outras espécies. A heterose é definida como a tendência de indivíduos obtidos por cruzamento em ultrapassar seus genitores endogâmicos e suas gerações endogâmicas em algumas características. Assim, plantas mais vigorosas e produtivas são geralmente obtidas em gerações F₁ de hortaliças, como a berinjela (ANTONINI et al., 2002).

O híbrido ‘Ciça’ é originário do cruzamento entre o acesso ‘CNPH 006’, derivado da cultivar ‘Campinas’ e ‘CNPH 110’, linhagem obtida da cultivar ‘Florida Market’. Esse híbrido possui resistência à antracnose e à podridão de *Phomopsis* (VENTURA, 2006). Como fonte de resistência à antracnose foi utilizada uma linhagem derivada de material proveniente da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). A resistência tanto à antracnose quanto à podridão de *Phomopsis* é considerada monogênica dominante (MADEIRA, 1989).

Desta forma, a geração F₁ obtida do cruzamento entre as linhagens comporta-se como resistente às duas doenças (MADEIRA, 1989; REIFSCHNEIDER et al., 1993; Embrapa Hortaliças, 2003). O desenvolvimento deste híbrido iniciou-se no ano de 1986, sendo lançado no ano 1991 pela Embrapa Hortaliças (Brasília – DF), vinculado ao Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA). Em condições de horticultura convencional, o híbrido ‘Ciça’ tem se mostrado mais rústico, necessitando normalmente de um número menor de pulverizações, aumentando a sustentabilidade ambiental e diminuindo os custos de produção (EMBRAPA, 2011; FRANÇA, 2008).

O híbrido ‘Ciça’ apresenta plantas vigorosas, com hábito de crescimento intermediário, com 1,1–1,5 m de altura. As folhas, de coloração verde-escura, possuem poucos espinhos. O florescimento inicia-se 30–35 dias após o transplante e a colheita aos 60- 65 DTA (dias após o transplante) para as condições do Distrito Federal. No plantio durante o inverno há um retardamento do desenvolvimento da planta e, conseqüentemente, no início da colheita (FRANÇA, 2008).

Os frutos da berinjela ‘Ciça’ têm coloração roxo-escuro brilhante e formato oblongo-alongado, com 22 cm de comprimento por 8 cm de diâmetro e cerca de 350 g de peso. Em condições favoráveis, a cultivar tem produzido até 120 toneladas de frutos por hectare. Além da resistência a doenças, a ‘Ciça’ apresenta características de boa adaptação às variações climáticas, uniformidade do fruto e planta, e boa conservação pós-colheita. O híbrido ‘Ciça’ tem sido recomendado para os cultivos nas regiões Norte,

Nordeste, Centro Oeste, Sudeste e Sul do Brasil (REIFSCHNEIDER et al., 1993; Embrapa Hortaliças, 2003).

Atualmente, observações de campo têm mostrado que o híbrido ‘Ciça’ apresenta, sob condições muito favoráveis, níveis elevados de suscetibilidade à doença Podridão de Phomopsis. Isto leva a suspeitar que o agente causal da podridão não seja aquele para a qual a cultivar foi inicialmente selecionada (*Diaporthe vexans*). Neste contexto, há uma necessidade de esclarecimento da etiologia da doença nas principais regiões produtoras do país, para dar suporte aos programas de melhoramento genético de berinjela, visando resistência à doença.

Assim, esse estudo teve como objetivo caracterizar a diversidade do(s) patógeno(s) associado(s) com a podridão de Phomopsis da berinjela no Brasil e selecionar fontes de resistência de amplo espectro contra o (s) patógeno (s) causador (es) da doença no banco de germoplasma de berinjela da Embrapa Hortaliças, localizada em Brasília-DF.



Figura 1. Sintomas da Podridão de Phomopsis em área produtora de berinjela. Sintomas em folhas (A), inflorescência (B) fruto (C) e ramos (D).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT (2023). Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 10 de setembro de 2023.

ANEFALOS LC, MOREIRA SR, VIEIRA KM, CIPOLLI AB, TURCO PHN, TAVARES PER. (2008). Sazonalidade da oferta de produtos hortícolas: o mercado de berinjela. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas – SP. 17 p.

ANTONINI ACC, ROBLES WGR, NETO JT, KLUGE RA (2002). Capacidade produtiva de cultivares de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Brasília- DF, v.20, n.4, p.646-648.

BASAK AB (1998). Studies on the location of *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler & Bisby. in the infected chilli seeds. **Seed Research**, 26, 101–104.

BISCHOFF JF, REHNER SA, HUMBER RA (2009). A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia** 101:512–530

BOITEUX LS, CHARCHAR JM (1996). Genetic resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) in eggplant (*Solanum melongena*). **Plant Breeding**, 115(3): 198–200.

BOITEUX LS, LIMA MI, KITAJIMA EW (1994). Giant calyx: A disease of eggplant (*Solanum melongena*) associated with a mycoplasma-like organism in Brazil. **Plant Pathology**, 43(4): 751–754.

BOITEUX LS, MENDONÇA LJ, FONSECA MEN, REIS A, VILELA NJ, GONZÁLEZ-ARCOS M, NASCIMENTO WM (2016). Melhoramento de berinjela. **In**: NICK C.; BORÉM A. (eds). **Melhoramento de Hortaliças**. Editora UFV, Viçosa-MG, p.15-192.

BOSCO MCO (2006) Efeitos do cloreto de sódio sobre o desenvolvimento e absorção de nutrientes na cultura da berinjela. **IN: Dissertação**, Universidade Federal do Ceará (Agronomia, Área de concentração: Solos e Nutrição de Plantas). Fortaleza-CE, 74 p.

CAI L, GIRAUD T, ZHANG N, BEGEROW D, CAI G, SHIVAS RG (2011). The evolution of species concepts and species recognition criteria in plant pathogenic fungi. **Fungal Diversity** 50 (1): 121–133.

- CAMARGO LEA (2011). Controle genético. In: AMORIM L, REZENDE JAM, BERGAMIN FILHO A (ed.). **Manual de Fitopatologia**. Princípios e conceitos. 4^a ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p. 325–340.
- CASTLEBURY LA, MENGISTU A (2006). Phylogenetic distinction of *Diaporthe/Phomopsis* isolates from soybeans. **Systematic Mycology and Microbiology** 57: 1–13.
- CHAM, CHAUDHARY SR, HASIJA SK (1980). Phytopathological studies on *Phomopsis vexans* causing soft rot of brinjal fruits. **Indian Phytopathology**, 32: 495–496.
- CHEEWAWIRIYAKUL S, RAI C, CONN K, GABOR B, KAO J, SALATI R, BAUTISTA SJ (2006). Pepper and eggplant disease guide: A Practical Guide for Seedsmen, Growers and Agricultural Advisors (Conn, K eds). Seminis® Vegetable Seeds, Inc.'s Plant Health Department. 2700 Camino del Sol, Oxnard, CA 93030 (pp. 1–72).
- CRISTINA MB (2002). Pesticide management of major pests and diseases of eggplant. **Veggies Today** 1–3.
- CROUS PW, GROENEWALD JZ. (2005). Hosts, species and genotypes: opinions versus data. **Australasian Plant Pathology** 34: 463–470 .
- CROUS PW, WINGFIELD MJ, SCHUMACHER RK, AKULOV A, BULGAKOV TS, CARNEGIE AJ, JURJEVIĆ Ž, DECOCK C, DENMAN S, LOMBARD L, (2020). **New and interesting fungi. 3. Fungal Systematics and Evolution** 6: 157–231. <https://doi.org/10.3114/fuse.2020.06.09>.
- DAMM U, CANNON PF, LIU F, BARRETO RW, GUATIMOSIM E, CROUS PW (2013). The *Colletotrichum orbiculare* species complex: important pathogens of field crops and weeds. **Fungal Diversity** 61:29–59.
- DATAR VV, ASHTAPUTRE JU, (1988). Studies on resistance to *Phomopsis* fruit rot in eggplant. **Indian Phytopathology**, 41(4): 637–638
- DAUNAY MC (2008). Eggplant. In Prohens J, Nuez F (eds) **Handbook of Crop Breeding, Vegetables II**. Springer, New York, p. 163-220.
- DAUNAY MC, LESTER RN, GEBHARDT C, HENNART. JW, JAHN M, FRARY A, DOGANLAR S (2001). Genetic resources of eggplant (*Solanum melongena* L.) and allied species: A new challenge for molecular geneticists and eggplant. **In**: VAN DEN BERG RG, BARENDSE GWM, VAN DER WEERDEN GM, MARIANI C (eds)

Solanaceae V: Advances in Taxonomy and Utilization. Nijmegen University, Nijmegen, p. 251–274.

DECKER P (1946). Annual Report of the Agriculture Experiment Station, Florida, for the year ending June 30, 1945.

DETTMAN JR, JACOBSON DJ, TAYLOR JW (2003). A multilocus genealogical approach to phylogenetic species recognition in the model eukaryote *Neurospora*. **Evolution** 57: 2703–272.

DETTMAN JR, JACOBSON DJ, TAYLOR JW (2006). Multilocus sequence data reveal extensive phylogenetic species diversity within the *Neurospora discreta* complex. **Mycologia** 98: 436–446.

DÍAZ GA, LATORRE BA, LOLAS M, FERRADA E, NARANJO P, ZOFOOLI JP (2017) Identification and characterization of *Diaporthe ambigua*, *D. australafricana*, *D. novem*, and *D. rudis* causing a postharvest fruit rot in kiwifruit. **Plant Disease** 101: 1402–1410.

DIOGO ELF, SANTOS JM, PHILLIPS AJL. 2010 – Phylogeny, morphology and pathogenicity of *Diaporthe* and *Phomopsis* species on almond in Portugal. **Fungal Diversity** 44, 107–115.

DIVINAGRACIA GC (1968). Pycnidial production by *Diaporthe vexans* (Sacc & Syd.) Gratz. and the pathological history of infected stem and leaves of eggplant. **Plant Disease Abstract**, 29: 836–837.

DOGANLAR S, FRARY A, DAUNAY MC, LESTER RN, TANKSLEY SD (2002). Conservation of gene function in the Solanaceae as revealed by comparative mapping of domestication traits in eggplant. **Genetics** 161: 1713–1726.

EDGERTON CW, MORELAND CC (1921). Eggplant blight. **Louisiana Agricultural Experiment Station Bulletin**, 78: 1–44.

EMBRAPA (2011). **Notícias**: “Embrapa disponibiliza sementes da berinjela Ciça”. Brasília, DF. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/18144830/embrapa-disponibiliza-sementes-da-berinjela-cica>. Acesso em: 22/09/2023.

EMBRAPA HORTALIÇAS (2003). **Notícias**: “Ciça: rende o ano inteiro”. Brasília, DF. Equipe técnica: Francisco J. B. Reifschneider; Maria Cristina B. Madeira; Cláudia Silva da Costa Silva. Folder.

EMBRAPA. Berinjela (*Solanum melongena* L.). Brasília: Embrapa-CNPq. Sistemas de Produção, 3, ISSN 1678-880x Versão Eletrônica, 2007. Disponível em: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Berinjela/Berinjela_Solanum_melongena_L/processamento.html. Acesso em: 27 de setembro de 2023.

FAN XL, YANG Q, BEZERRA JDP, ALVAREZ LV, TIAN CM (2018). *Diaporthe* from walnut tree (*Juglans regia*) in China, with insight of the *Diaporthe eres* complex. **Mycological Progress**, 17: 841–853.

FAO - **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Uso da terra: 2021. [Base de Dados FAOSTAT]. Rome: FAO. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data>. Acesso em: maio 12, 05, 2023.

FAOSTAT. **Crops and livestock products**. Rome: FAO, 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 13, 05, 2023.

FONSECA, MEN, BOITEUX LS, LIMA MF, MENDONÇA JL, COSTA AF, FONTES MG, GONZÁLEZ-ARCOS M (2016). First report of tomato chlorosis virus infecting eggplant and scarlet eggplant in Brazil. **Plant Disease**, 100(4): 867.

FRANÇA LV (2008). Secagem e conservação de grão de pólen de berinjela. *In*: **Dissertação**, Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (Ciências Agrárias, Área de concentração: Produção Vegetal). Brasília- DF, 109 p.

GAO YH, LIU F, DUAN W, CROUS PW, CAI L (2017) *Diaporthe* is paraphyletic. **IMI Fungus** 8: 153–187. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2017.08.01.11>

GARCIA-REYNE A, LÓPEZ-MEDRANO F, MORALES JM, GARCIA-ESTEBAN C, MARTIN I, ERAÑA I, MEIJE Y, LALUEZA A, ALASTRUEY-IZQUIERDO A, RODRÍGUEZ-TUDELA JL, et al. (2011). Cutaneous infection by *Phomopsis longicolla* in a renal transplant recipient from Guinea: First report of human infection by this fungus. **Transpl. Infect. Dis.** 13, 204–207.

GAO Y, LIU F, DUAN W, CROUS PW, CAI L. 2017 – *Diaporthe* is paraphyletic. **IMA Fungus** 8, 153– 187.

GLEDDIE S, Keller W and Setterfield G (1986). Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension derived protoplasts of *Solanum melongena* (eggplant). **Canadian Journal of Botany** 64: 355–361.

GRATZ LO (1942). The perfect stage of *Phomopsis vexans*. **Phytopathology**, 32: 540–542.

GUO YS, CROUS PW, BAI Q, FU M, YANG MM, WANG XH, DU YM, HONG N, XU WX, WANG GP, (2020). High diversity of *Diaporthe* species associated with pear shoot canker in China. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, 45(1): 132–162.

HILDEBRAND, A.A. (1956). Observations on stem canker and pod and stem blight of soybeans in Ontario. **Canadian Journal of Botany**, 34: 577–599.

HYDE KD, DONG Y, PHOOKAMSAK R, JEEWON R, BHAT DJ, GARETH JONES EB, LIU NG, ABEYWICKRAMA PD, MAPOOK A, Wei D, (2020). Fungal diversity notes 1151–1276: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungal taxa. **Fungal Diversity** 100: 1–273.

HYDE KD, MCKENZIE EHC, KOKO TW (2011). Towards incorporating anamorphic fungi in a natural classification – checklist and notes for 2010. **Mycosphere** 2: 1–8.

IKUTA H (1969) Melhoramento e genética da berinjela. **In: KERR, WE Melhoramento e genética**. São Paulo: Melhoramentos, cap. 9, p. 161–168.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE (2017). Censo Agropecuário 2006/2017. Brasília: **IBGE**. Recuperado em 15 março, 2022, de <http://www.ibge.gov.br>.

ISLAM MM, ASADUZZAMAN M, MEAH MB (2010). Molecular characterization of *Phomopsis vexans* isolates of eggplant of Bangladesh. **J Sci Foundation**, 8: 131–140.

JAYARAMAIAH KM, MAHADEVAKUMAR S, RAJ APC, JANARDHANA GR (2013). PCR-based detection of *Phomopsis vexans* – the causative agent of leaf blight and fruit rot disease of brinjal. **International Journal of Life Sciences**, 7: 17–20.

JONES DF (1968). Heterosis and homeostasis in evolution and in applied genetics. **The American Naturalist**, 92(867): 321–328.

JORGE TS, REIS LDN, FONTES MG, MELO FFS, NERY FMB, PEREIRA CARVALHO RC, FONSECA MEN, BOITEUX LS, LIMA MF (2023). Confirmation of groundnut ringspot orthotospovirus (GRSV) infection in eggplant cultivars in Brazil. **Plant Disease**, 107: 2567.

KALDA TS, SWARUP V, CHOUDHURY B (1976). Studies on resistance to *Phomopsis* blight in eggplant (*Solanum melongena* L.). **Vegetable Science**, 3(1): 65–70.

KARUNA V, KUMAR S, VISHUNABAT K, KUMAR S (1994). Location of infection of *Phomopsis vexans* in brinjal seed. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, 24(3): 226.

KARUNA, V., KUMAR, S., VISHUNABAT, K. and KUMAR, S. 1994. Location of infection of *Phomopsis vexans* in brinjal seed. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, 24(3): 226.

KAUSHAL N, SUGHA SK (1995). Role of *Phomopsis vexans* in damping off of seedlings in eggplant and its control. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology** 25:189-191.

KAUSHIK P, ANDÚJAR I, VILANOVA S, PLAZAS M, GRAMAZIO P, HERRAIZ FJ, BRAR NS, PROHENS J (2015). Breeding vegetables with increased content in bioactive phenolic acids. **Molecules**, 20: 18464–18481.

LIMA ME (2009). Cultivo da berinjela (*Solanum melongena* L.) em diferentes sistemas de cultivo e lâminas de irrigação no município de Seropédica – RJ. **In: Tese**, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, (Ciências:Fitotecnia). Seropédica-RJ, 133 pp.

LUMBSCH HT, SCHMITT I, LINDEMUTH R, MILLER A, MANGOLD A, FERNANDEZ F, HUHDORF S (2005). Performance of four ribosomal DNA regions to infer higher-level phylogenetic relationships of inoperculate euascomycetes (Leotiomyceta). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 34(3): 512–24.

LUONGO L, SANTORI A, RICCIONI L, BELISARIO A. 2011 – *Phomopsis* sp. Associated with post-harvest fruit rots of kiwifruit in Italy. **Journal of Plant Pathology** 93, 205–209.

MADEIRA, MCB (1989) Caracterização de germoplasma de berinjela (*Solanum melongena* L.) e avaliação da resistência a *Colletotrichum gloesporioides* (Penzig) Penzig et Saccardo. 267 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasil, DF.

MALDANER CI, GUSE FI, STRECK NA, HELDWEIN AB, LUCAS DDP, LOOSE L H (2009). Phyllochron, leaf area, and fruit yield in eggplants grown with one and two stems per plant in plastic greenhouse. **Ciência Rural** 39(3): 671–677.

MARQUES DJ (2009). Estresse mineral induzido por fertilizantes potássios em plantas de berinjela (*Solanum melogena* L.) e seu efeito sobre parâmetros agrônômicos e metabólicos. **In: Dissertação**, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrônômicas (Agronomia – Área de concentração em Horticultura.). Botucatu – SP, 169 p.

MENGISTU A, CASTLEBURY LA, SMITH JR, ROSSMAN AY, REDDY KN. (2007). Isolates of *Diaporthe-Phomopsis* from weeds and their effect on soybean. **Canadian Journal of Plant Pathology** 29: 283–289.

MORRIS WL, TAYLOR MA (2017). The Solanaceous Vegetable Crops: Potato, Tomato, Pepper, and Eggplant. 2nd edition [s.l.] **Elsevier**, v. 3.

MOSTERT L, CROUS PW, KANG JC, PHILLIPS AJ (2001). Species of *Phomopsis* and a *Libertella* sp. occurring on grapevines with specific reference to South Africa: Morphological, cultural, molecular and pathological characterization. **Mycologia**, 93: 146–167.

MOSTERT L, KANG JC, CROUS PW, DENMAN S (2001). *Phomopsis saccharata* sp. nov., causing a canker and die-back disease of *Protea repens* in South Africa. **Sydowia** 53: 227–235.

MURALLI TS, SURYANARAYANAN TS, GEETA R (2006). Endophytic *Phomopsis* species: Host range and implications for diversity estimates. **Can. J. Microbiol.** 52, 673–680.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO – NEPA (2011). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). Campinas: **NEPA – UNICAMP**.

O'DONNELL K, KISTLER HC, TACKE BK, CASPER HC (2000). Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. **Proc Natl Acad Sci USA** 97: 7905–7910.

ODLAND ML, NOLL CJ (1948). Hybrid vigor and combining ability in eggplants. **Proceedings American Society Horticulture Science**, 51: 417–422,

PAL BP, RAMANUJAM S. (1944). Plant breeding and genetics at the Imperial Agricultural Research Institute. **Indian Journal Genetic Plant Breeding**, 4: 43–53.

PAL BP, SINGH H (1946). Studies in hybrid vigour. **Indian Journal Genetic Plant Breeding**, 16: 19–26.

PAN, S. and ACHARYA, S. 1995. Studies on the seed borne nature of *Phomopsis vexans* (Sacc. and Syd) Harter. **Indian Agriculturist**, 39(3): 193-198.

PANDEY KK, PANDEY PK, KALLOO G, CHAURASIA SNS (2002). *Phomopsis* blight in brinjal and sources of resistance. **Indian Phytopathology**, 55(4): 507–509.

PARLEVLIEET JE (1997). Present concepts in breeding for disease resistance. **Fitopatologia Brasileira** 22: 7–15 (Suplemento).

PATERNIANI E (1974). **Estudos recentes sobre heterose**. São Paulo: Fundação Cargil, 36p. (Boletim, 1).

PAWAR VH, PATEL MK (1957). *Phomopsis* blight and fruit rot of brinjal. **Indian Phytopathology** 10 (1): 15–120.

QUAEDVLIIEG W, BINDER M, GROENEWALD JZ, SUMMERELL BA, CARNEGIE AJ, BURGESS TI, CROUS PW (2014). Introducing the consolidated species concept to resolve species in the *Teratosphaeriaceae*. **Persoonia**, 33: 1–40

QUAMRUZZAMAN AKM, KHATUN A, ISLAM F (2022). Nutritional content and health venefits of Bangladeshi eggplant cultivars. **European Journal of Agriculture and Food Sciences** 2(4): 1–7.

RANGASWAMY G, MAHADEVAN A (2002). Diseases of Crop Plants in India, 4th ed pp. 286–334. New Delhi: Prentice Hall of India Private Ltd.

REHNER SA, UECKER FA (1994). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer phylogeny and host diversity in the coelomycete *Phomopsis*. **Canadian Journal of Botany** 72: 1666–1674.

REIFSCHNEIDER FJB, MADEIRA MCB, SILVA C (1993). “Ciça”: Novo híbrido de berinjela resistente à antracnose e à podridão-de-fomopsis. **Horticultura Brasileira**, 11 (1): 57.

REIS A, BOITEUX LS, LOPES CA (2011). Doenças da berinjela no Brasil. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças. **Circular Técnica**, 97.

- REN X, ZHANG H (1993). Test on brinjal (*Solanum melongena* L.) resisting to *Phomopsis* rot. **Journal of Jilin Agricultural University**, 15(2): 34–39
- RENSBURG JCJ VAN, LAMPRECHT SC, GROENEWALD JZ, CASTLEBURY LA, CROUS PW (2006). Characterization of *Phomopsis* spp. associated with die-back of rooibos (*Aspalathus linearis*) in South Africa. **Studies in Mycology** 55: 65–74.
- RIBEIRO CSC, BRUNE S, REIFSCHNEIDER FJB (1998). **Cultivo da berinjela (*Solanum melongena* L.)**. Embrapa Hortaliças, Brasília, 23p. (Instruções Técnicas, 15).
- ROKAS A, WILLIAMS BL, KING N, CARROLL SB (2003). Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies. **Nature**, 425 (6960): 798– 804.
- ROSA CILF, MORIBE AM, YAMAMOTO LY, SPERANDIO D (2018). **Pós-colheita e comercialização**. In: BRANDÃO FILHO JUT, FREITAS PSL, BERIAN LOS, GOTO R, comps. Hortaliças-fruto [online]. Maringá: EDUEM pp. 489-526. Scielo Books. ISBN: 978-65- 86383-01-0.
- ROSA IN, PRZYBITOWICZ P, LUCCHESI OA, SCHIAVO J, BIANCHI C (2022). Desempenho de cultivares de berinjela (*Solanum melongena*) submetidas a diferentes manejos de condução. **Cadernos de Agroecologia. Anais da Reunião Técnica sobre Agroecologia, Resiliência e Bem Viver** – Pelotas, RS. 17(3). ISSN 2236-7934.
- ROSSMAN AY, ADAMS GC, CANNON PF, CASTLEBURY LA, CROUS PW, GRYZENHOUT M, JAKLITSCH WM, MEJIA LC, STOYKOV D, UDAYANGA D, et al. (2015). Recommendations of generic names in Diaporthales competing for protection or use. **IMA Fungus** 6, 145–154.
- SALICHOS L, ROKAS A (2013). Inferring ancient divergences requires genes with strong phylogenetic signals. **Nature**, 497: 327–331.
- SANTOS JM, PHILLIPS AJL (2009). Resolvendo o complexo de espécies de *Diaporthe* (*Phomopsis*) que ocorrem em *Foeniculum vulgare* em Portugal. **Diversidade Fúngica** 34: 109–123.
- SANTOS JM, VRANDEČIĆ K, ČOSIĆ J, DUVNJAK T, PHILLIPS AJL (2011). Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia. **Persoonia**, 27: 9–19.
- SANTOS L, ALVES A, ALVES R (2017). Evaluating multi-locus phylogenies for species boundaries determination in the genus *Diaporthe*. **Peer J**, 5: e3120.

SEKARA A, CEBUL S, KUNICKI E (2007). Cultivated eggplants – origin, breeding objectives and genetic resources, a review. **Horticulturae**, 19: 97–114.

SHERF AF, MCNAB AA (1986). *Vegetable Diseases and their Control*, (2nd ed). John Wiley and Sons, New York, USA.

SHRESTHA SK, MATHUR SB, MUNK R (2000). *Alternaria brassicae* in seeds of rape seeds and mustard, its location in seeds, transmission from seeds to seedlings and control. **Seed Science and Technology**, 28: 75–84.

SILVA DJH et al. (2007). Berinjela (*Solanum melongena* L.). **In**: JÚNIOR JPT, VEZON M. (Coord.). 101 **Culturas: Manual de tecnologias agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG, p. 149-154.

SINGH D, CHAKRABARTI AK (1982). Chemical control of *Phomopsis* fruit rot of brinjal. **Indian Phytopathology**, 35: 314–315.

SINGH RS (1987). **Plant Pathogens**. Second Edition. New Delhi, India: Oxford and IBH Publishing Company.

SUASTE-DZUL AP, COSTA H, FONSECA MEN, BOITEUX LS, REIS A (2023). Mating types and physiological races of *Verticillium dahliae* in Solanaceae crops in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, 165(1): 139–152.

SUASTE-DZUL AP, VELOSO JS, COSTA H, BOITEUX LS, LOURENÇO JR V, LOPES CA, REIS A (2022). *Verticillium* diseases of vegetable crops in Brazil: Host range, microsclerotia production, molecular haplotype network, and pathogen species determination. **Plant Pathology**, 71(6): 1417–1430.

SUTTON BC (1980). **The coelomycetes**. Fungi imperfect with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

TAYLOR JW, JACOBSON DJ, KROKEN S, KASUGA T, GEISER DM, HIBBETT DS, FISHER MC (2000). Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. **Fungal Genetics and Biology**, 31(1): 21–32.

THIPPESWAMY B, KRISHNAPPA M, CHAKRAVARTHY CN (2005). Location and transmission of *Phomopsis vexans* and *Alternaria solani* in Brinjal. **Indian Phytopathology**, 58: 410–413.

- THOMIDIS T, EXADAKTYLOU E, CHEN S. 2013 – *Diaporthe neotheicola*, a new threat for kiwi fruit in Greece. **Crop Protection** 47, 35–40.
- THOMPSON SM, TAN YP, YOUNG AJ, NEATE SM, AITKEN EA, SHIVAS RG (2011). Stem cankers on sunflower (*Helianthus annuus*) in Australia reveal a complex of pathogenic *Diaporthe* (*Phomopsis*) species. **Persoonia**, 27: 80–89.
- UDAYANGA D, LIU X, CROUS PW, MCKENZIE EH, CHUKEATIROTE E, HYDE KD (2012). A multi-locus phylogenetic evaluation of *Diaporthe* (*Phomopsis*). **Fungal Diversity**, 56: 157–171.
- UDAYANGA D, CASTLEBURY LA, ROSSMAN AY, CHUKEATIROTE E, HYDE KD (2014). Insights into the genus *Diaporthe*: Phylogenetic species delimitation in the *D. eres* species complex. **Fungal Diversity**, 67: 203–229.
- UDAYANGA D, LIU X, MCKENZIE EHC, CHUKEATIROTE E, BAHKALI AHA, HYDE KD (2011). The genus *Phomopsis*: Biology, applications, species concepts, and names of common phytopathogens. **Fungal Diversity**, 50: 189–225.
- VALADARES RN (2018). Seleção de linhagem de berinjela tolerantes a alta temperatura e heterose em seus híbridos. 93 f. **In: Tese**, (Doutorado em Melhoramento genético em plantas). Universidade Federal Rural de Pernambuco – Recife-PE.
- VALE FXR, PARLEVLIET JE, ZAMBOLIM L (2001). Concepts in plant disease resistance. **Fitopatologia Brasileira**, 26(3): 577–589.
- VAN DER MERWE NA, GRYZENHOUT M, STEENKAMP ET, WINGFIELD BD, WINGFIELD MJ (2010). Multigene phylogenetic and population differentiation data confirm the existence of a cryptic species within *Chrysosporthe cubensis*. **Fungal Biology**, 114(11-12): 966–979.
- VAN NIEKERK J, GROENEWALD J, FARR DF, FOURIE PH, HALLEEN F, CROUS PW (2005). Reassessment of *Phomopsis* species on grapevines. **Australasian Plant Pathology**, 34: 27–39.
- VAN RENSBURG JCJ, LAMPRECHT SC, GROENEWALD JZ, CASTLEBURY LA, CROUS PW (2006). Characterisation of *Phomopsis* spp. associated with die-back of rooibos (*Aspalathus linearis*) in South Africa. **Studies in Mycology**, 55: 65–74.

VENTURA SRS (2006). Efeito da adubação, coberturas vivas do solo e do controle na população de *Corythaica cyathicollis* (COSTA, 1864) (HEMIPTERA, TINGIDAE) em plantas de *Solanum melongena* (LINNEAUS, 1767) (SOLANACEAE) cultivadas em sistema convencional e orgânico. **In: Tese**, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia. (Ciências, Fitotecnia – Área de concentração, Fitossanidade). Seropédica–RJ, 87 p.

VILELA NJ, HENZ GP (2000). Situação atual da participação das hortaliças no agronegócio brasileiro e perspectivas futuras. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, 17 (1): 71–89.

VISHUNAVAT K, KUMAR S (1994). Location of infection of *Phomopsis vexans* in brinjal seeds. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, 24: 22.

WATANABE M, YONEZAWA T, LEE K, KUMAGAI S, SUGITA-KONISHI Y. et al., (2011). Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes. **BMC Evol Biol** 11: 322

WEHMEYER LE (1933). The genus *Diaporthe* Nitsche and its segregates. Ann Arbor: **Univ. Michigan Press**. 349 p.

WINGFIELD MJ, CERVEJA ZW DE, CHINELOS B, WINGFIELD BD, GROENEWALD JZ, et al., (2012). One fungus, one name promotes progressive plant pathology. **Molecular Plant Pathology** 13: 604–613.

YORINORI JT (1996). Cancro da haste da soja: epidemiologia e controle. Londrina: Embrapa, CNPSo. 75p. (Circular Técnica, 14).

CAPÍTULO II

**Caracterização de um complexo de patógenos associados à podridão de
Phomopsis em berinjela no Brasil**

Caracterização de um complexo de patógenos associados à podridão de *Phomopsis* em berinjela no Brasil

B. A. Silva¹; J. S. Veloso¹; M. E. N. Fonseca^{1,2}; L.S. Boiteux^{1,2}; A. Reis^{1,2}

B. A. Silva¹; J. S. Veloso¹; M. E. N. Fonseca^{1,2}; L.S. Boiteux^{1,2}; C.S. Costa Ribeiro^{1,2}; S. I. C. Carvalho^{1,2}; A. Reis^{1,2}

¹ Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 52171-900, PE, Brazil.

² Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Hortaliças, 70275-970, Brasília, DF, Brazil. 10
Corresponding author: ailton.reis@embrapa.br

RESUMO

A berinjela (*Solanum melongena* L.) é uma importante espécie olerícola cultivada em todos os estados do Brasil. Embora apresentando extrema rusticidade, muitos problemas fitossanitários ainda interferem na sua produtividade. Entre as doenças mais destrutivas estão as manchas foliares e a podridão dos frutos coletivamente denominada de podridão de *Phomopsis*. Historicamente essa doença tem sido atribuída a um único agente causal (*Diaporthe vexans*). No entanto, essa etiologia não foi inteiramente caracterizada utilizando modernas ferramentas moleculares. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivos determinar a etiologia da doença podridão de *Phomopsis* da berinjela no Brasil via caracterização molecular de 47 isolados do patógeno, com base na informação de sequências de quatro regiões genômicas. A análise preliminar da variação nucleotídica entre os isolados usando sequências parciais do gene codificador do fator de alongação da tradução 1- α (TEF-1) revelou um total de 14 haplótipos (H1–H14). Isolados (um a três) de cada haplótipo foram selecionados com base na região geográfica de ocorrência para condução das análises filogenéticas multilocus. Essa análise resultou na identificação de um complexo de espécies associadas à doença. Quatro árvores de máxima verossimilhança empregando informações de quatro regiões genômicas (TEF-1, espaço interno transcrito – ITS, a beta-tubulina – Tub-2 e γ -actina – ACT) foram geradas para os gêneros *Boeremia* (espécie nova #1 e espécie nova #2), *Cumuliphoma* (*C. pneumoniae*), *Diaporthe* (*D. endophytica*, *D. griceae* e *D. vexans*) e *Stagnosporopsis* (*S. pogostemon* e uma nova espécie #1). Ensaios de avaliação de patogenicidade foram conduzidos (com e sem ferimentos) com quatro isolados indutores de lesões em frutos (cv. Ciça). Foi avaliado o diâmetro das lesões em cada fruto, e calculou-se o diâmetro médio da área necrosada da epiderme. As medidas das lesões foram obtidas em dois sentidos perpendiculares com a ajuda de um paquímetro. As médias dentre os métodos de inoculação (com e sem ferimento) indicaram a ocorrência de variabilidade. Independente dos isolados, ensaios com ferimentos resultaram em maiores (mas não significativamente diferentes) valores de AACPD para a variável diâmetros médios das lesões. A presença um complexo patogênico (incluindo potenciais novas espécies) na etiologia da podridão de *Phomopsis* pode representar um enorme obstáculo no desenvolvimento de cultivares melhoradas de berinjela, demandando a incorporação de múltiplos fatores de resistência ou a identificação de fontes de resistência genética de amplo espectro.

Palavras Chaves: *Phomopsis vexans*; Filogenia; Solanáceas; Hortaliças Fruto, Patogenicidade

ABSTRACT

Eggplant (*Solanum melongena* L.) is an important vegetable species cultivated in all states of Brazil. Although it is extremely rustic, many phytosanitary problems still interfere with its productivity. Among the most destructive diseases are leaf spot and fruit rot collectively called as “Phomopsis rot”. Historically, this disease has been attributed to a single causal agent (*Phomopsis vexans*). However, this etiology has not been fully characterized using modern molecular tools. In this context, the present study aimed to determine the etiology of Phomopsis rot disease of eggplant in Brazil via molecular characterization of 47 isolates of the pathogen, based on sequence information from four genomic regions. Preliminary analysis of nucleotide variation among isolates using partial sequences of the gene encoding translation elongation factor 1- α (TEF-1) revealed a total of 14 haplotypes (H1–H14). Isolates (one to three) of each haplotype were selected based on the geographic region of occurrence to conduct multilocus phylogenetic analyses. This analysis resulted in the identification of a complex of species associated with the disease. Four maximum likelihood trees employing information from four genomic regions (TEF-1, internal transcribed spacer – ITS, beta-tubulin – Tub-2, and γ -actin – ACT) were generated for the genera: *Boeremia* (new species #1 and new species #2), *Cumuliphoma* (*C. pneumoniae*), *Diaporthe* (*D. endophytica*, *D. griceae*, and *D. vexans*), and *Stagnosporopsis* (*S. pogostemon* and a new species #1). Pathogenicity assays were conducted with four isolates that induce lesions in fruits of the hybrid ‘Çiça’ with and without wounds. The diameter of the lesions in each fruit was evaluated, and the average diameter of the necrotic area of the epidermis was calculated. Lesion measurements were obtained in two perpendicular directions with the help of a caliper. The averages between the inoculation methods (with and without wounding) indicated the occurrence of variability. Regardless of the isolates, trials with wounds resulted in higher (but not significantly different) AUDPC values for the variable mean lesion diameter. The presence of a pathogenic complex associated with Phomopsis rot may represent a huge obstacle in the development of improved eggplant cultivars, requiring the incorporation of either multiple resistance factors or the identification of sources of broad-spectrum genetic resistance.

Keywords: *Phomopsis vexans*; Phylogeny; Solanaceae; Vegetables Fruit, Pathogenicity.

INTRODUÇÃO

A berinjela, botanicamente classificada como *Solanum melongena* L., pertence à família Solanaceae (RIBEIRO et al. 1998). No Brasil, a berinjela foi introduzida pelos portugueses no século XVI e teve um incremento do seu uso na culinária brasileira através dos imigrantes árabes, grandes apreciadores desta hortaliça (RIBEIRO et al. 1998; NASCIMENTO, 2004). O incremento de consumo nas dietas se deve ao fato da berinjela se destacar por seu valor nutricional, com alto teor de minerais (ressaltando o cálcio, ferro e fósforo), riboflavina, niacina e ácido ascórbico e fibras, contribuindo de forma significativa para o aprimoramento de dietas (ANEFALOS et al. 2008; LIMA, 2009).

Várias doenças incidem sobre a cultura da berinjela e são as principais responsáveis pela redução na produção e produtividade desta hortaliça (REIS et al. 2011). As doenças mais destrutivas e importantes são as manchas foliares e a podridão dos frutos que tem sido atribuída exclusivamente ao fungo *Diaporthe vexans* (Sacc. & Syd.) Harter (REIS et al. 2011; EDGERTON & MORELAND, 1921). A cultura é considerada hospedeira única e de importância econômica do fungo *D. vexans*, que causa enormes perdas de produtividade e qualidade do produto. A doença também é chamada de podridão do caule/ hastes, cancro, tombamento e mancha foliar (ISLAM et al. 2010). O relato mais antigo desta doença foi feito na Índia em 1914 (HARTER, 1914; RANGASWAMI, 1979).

O fungo induz o desenvolvimento de um sintoma típico nos frutos, que são manchas deprimidas ou não, com anéis concêntricos, que podem levar ao apodrecimento de frutos inteiros, seguido da sua queda. A podridão dos frutos é a fase mais destrutiva nos campos ou em pós-colheita. A doença em caules e folhas resulta em redução do tamanho e peso dos frutos. Redução de rendimento em torno de 50% têm sido reportadas nos EUA e em Porto Rico (EDGERTON & MORELAND, 1921; NOLLA 1929; MARTIN 1930). No Brasil, perdas devastadoras têm sido reportadas desde o final da década de 1930 e todas as medidas de controle se mostraram ineficazes (De FIGUEIREDO & PEREIRA, 1944). Em um estágio avançado da doença, há redução da qualidade das sementes com baixa germinação e pré-emergência e pós-emergência das plântulas (TOOLE et al. 1941; PORTER 1943; VISHUNAVAT & KUMAR, 1993; KAUSHAL & SUGHA, 1995; JAYARAMAIAH et al. 2013; ANWAR et al. 2017; PRASAD 2018).

O gênero *Diaporthe* está distribuído mundialmente e possui grande número de hospedeiras. As espécies deste gênero podem ser fitopatógenos, saprófitas ou simbiontes endofíticos (UECKER 1988; ROSSMAN et al. 2007; UDAYANGA et al. 2011; GOMES et al. 2013). A ordem está dividida em 20 famílias que se distribuem em diferentes nichos ecológicos. A maioria das espécies conhecidas na literatura inicialmente foi descrita associada aos seus hospedeiros (UECKER 1988), com exceção de cerca de 150 espécies que foram descritas a partir de dados moleculares (GOMES et al. 2013, LOMBARD et al. 2014, UDAYANGA et al. 2014; 2015).

A existência de vários fungos produtores de picnídios e causadores de manchas foliares em berinjela tem gerado dificuldades na identificação de cada um deles. SPEGAZZINI (1881) descreveu um fungo que ocorre nas folhas de *S. melongena* na Itália como *Phyllosticta hortorum*. HALSTED (1892) descreveu o mesmo fungo em folhas e frutos de berinjela em Nova Jersey, EUA, como *Phoma solani*. No entanto, o nome *P. solani* já havia sido aplicado a outro fungo, em outra hospedeira e, portanto, SACCARDO & SYDOW (1899) o renomearam como *Phoma vexans*. SMITH (1905) observando conídios septados nos EUA, propôs o nome *Ascochyta hortorum* em vez de *P. hortorum*. Na Itália, VOGLINO (1907) estudou um fungo presente na berinjela e concordou com Smith, concluindo que o fungo descrito por SPEGAZZINI (1881) como *P. hortorum* pertencia ao gênero *Ascochyta*. Testes de inoculação cruzada e estudos morfológicos indicaram para HARTER (1914) que *P. solani* e *P. hortorum* eram a mesma espécie. Ele também concluiu que o gênero ao qual o fungo pertencia não era *Phoma* ou *Phyllosticta*, mas *Phomopsis*.

Ao contrário dos trabalhos anteriores, HARTER (1914) observou e descreveu os conídios “beta” característicos do gênero, propondo o nome *Phomopsis vexans* para o fungo. Assim, considerando que o anamorfo que produz alfa e beta conídios é realmente um *Phomopsis* (UECKER, 1988), as espécies *P. hortorum* e *A.hortorum*. foram sinonimizadas com *Phoma exigua* Desm., patógeno que pode ser encontrado em lesões mais antigas causadas por outros fungos (BOEREMA et al., 2004).

A identificação do gênero *Diaporthe* sempre foi considerado um dos mais difíceis de se identificar (AVESKAMP et al. 2008; ZHANG et al. 2009). Nos últimos anos, sua taxonomia tem sido profundamente revisada. Os nomes genéricos *Diaporthe* e *Phomopsis* não são mais usados para distinguir diferentes formas deste gênero. ROSSMAN et al. (2015) propuseram que o nome do gênero *Diaporthe* deveria ser mantido ao invés de *Phomopsis* por duas razões principais: (i) foi introduzido antes de *Phomopsis* e (ii)

Diaporthe representa a maioria das espécies descritas, e, portanto, tem prioridade sobre *Phomopsis*.

O gênero *Diaporthe* foi historicamente considerado um grupo monofilético com base em sua forma sexuada típica e na forma assexuada de *Phomopsis*, GAO et al. (2017) revelaram sua natureza parafilética (GOMES et al., 2013). Estudos recentes têm demonstrado que caracteres morfológicos são inadequados para definir espécies deste gênero (DISSANAYAKE et al. 2017), devido à sua variabilidade sob condições ambientais variáveis (GOMES et al., 2013). Métodos de concordância genealógica baseados em dados de sequência de DNA multigênico fornecem uma melhor abordagem para resolver a taxonomia do gênero *Diaporthe* (SANTOS et al., 2017). Portanto, muitas espécies descritas em *Phoma* hoje foram reclassificadas em outros gêneros. Vários desses gêneros recentemente introduzidos estão intimamente relacionados com *Phoma*, incluindo *Boeremia*, *Peyronellaea* e *Stagonosporopsis* (AVESKAMP et al. 2009a, 2009b, 2010).

Espécies pouco relacionadas e com caracteres morfológicos claramente distintos, apontam resultados claros em análises filogenéticas mesmo quando realizados com base em apenas um locus (BRAUN et al., 2003). No entanto, em um complexo que abriga organismos morfológicamente semelhantes, apenas um locus não é considerado suficiente para discriminação de espécies (SCHUBERT et al. 2007; BENSCH et al. 2012). Regiões do espaçador interno transcrito ribossomal nuclear (ITS), gene da beta-tubulina (TUB), gene do fator de alongamento da tradução 1- α (TEF), gene da histona-3 (HIS) e gene da calmodulina (CAL) são marcadores comumente empregados para identificação das espécies do gênero *Diaporthe* (GUARNACCIA et al. 2018; YANG et al. 2018; GOMES et al. 2013; SANTOS et al. 2017).

Como mencionado, a podridão dos frutos tem sido historicamente atribuída a um único agente causal (*D. vexans*). No entanto, a diversidade de sintomas e órgãos afetados sugere o potencial envolvimento de um complexo de patógenos associados com a podridão de *Phomopsis* da berinjela no Brasil. Além disso, essa etiologia não foi inteiramente caracterizada utilizando modernas ferramentas moleculares nas condições brasileiras.

O presente estudo teve como objetivo esclarecer a etiologia da podridão de *Phomopsis* da berinjela no Brasil via dados de sequência de DNA multi-locus de uma amostra representativa de isolados dos patógenos coletados em áreas produtoras dos estados de Pernambuco, São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina e do Distrito Federal.

Além disso, quatro isolados caracterizados neste estudo foram testados quanto à patogenicidade em frutos da cultivar Ciça.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção e conservação dos isolados – Os isolados fúngicos foram obtidos a partir de frutos, pedúnculos, sépalas, ramos e folhas de berinjela apresentando sintomas de manchas conspícuas, necróticas, deprimidas, com halo acastanhado. As amostras vegetais foram levadas ao laboratório e mantidas em câmaras úmidas por 48 h. Os isolados foram obtidos removendo massas de esporos das lesões com uma agulha estéril. As estruturas fúngicas foram transferidas para uma das extremidades de uma placa de Petri contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA= batata= 200 g, dextrose= 20 g, ágar= 20 g) adicionado de tetraciclina (30 mg L⁻¹). Em seguida, com ajuda de uma alça de platina, os esporos foram espalhados sobre a superfície do meio, de modo semelhante como se faz em isolamento de bactérias, visando obter culturas puras monospóricas. As placas foram mantidas em BOD por três dias a 25°C, no escuro. Após o crescimento inicial, uma colônia foi transferida para outra placa de Petri, contendo BDA (COSTA et al. 2022). A conservação dos isolados foi realizada através do método de Castellani (CASTELLANI 1939) e em ultrafreezer a -80°C contendo glicerol.

Caracterização molecular – As regiões alvos do genoma dos isolados caracterizadas no presente estudo foram: o espaço interno transcrito (**ITS**), o fator de alongamento da tradução 1- α (**TEF**), a Beta tubulina (**Tub-2**) e posteriormente a γ -actina parcial (**ACT**), (O'DONNELL et al., 2015; GAI YP. et al., 2016) (**Tabela 1**).

Extração de DNA – Para a obtenção do micélio fúngico usado na extração de DNA realizou-se inicialmente a recuperação dos isolados mediante repicagem de discos de micélio para placas de Petri contendo meio de cultura BDA, as quais foram mantidas em câmara de crescimento (BOD) sob temperatura de 25°C, no escuro, por 7 dias. Após este período, o micélio foi retirado da placa com o auxílio de um bisturi estéril, em câmara de fluxo laminar, sendo acondicionado em tubos de 2 mL. No momento da extração de DNA os tubos contendo micélio fúngico receberam 3 esferas (esferas de cerâmica) em cada um deles. Em capela de exaustão adicionou-se 750 μ L de CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) a cada tubo, seguido de trituração no aparelho Precellys (Bertin Technologies). Posteriormente os tubos foram colocados em banho-maria a 65°C por 10

minutos. Após esfriar por 3 minutos acrescentou-se 750 µL de Clorofil (clorofórmio + álcool isoamílico, na proporção 24:1) aos mesmos em capela de exaustão, procedendo-se de forma vigorosa em vórtex e posterior centrifugação a 9.000 rpm por 5 minutos. Depois da centrifugação retirou-se 600 mL da fase superior, a qual foi distribuído para tubos de 1,5 mL, adicionando-se em seguida 300 µL de isopropanol gelado. O material foi agitado manualmente e submetido à nova centrifugação por 13 minutos a 12.000 rpm, eliminou-se o sobrenadante e fez-se rapidamente e cuidadosamente a lavagem do pellet com álcool 70%. Os tubos abertos foram submetidos à secagem em câmara de fluxo por 30 minutos. Após este procedimento acrescentou-se 100 µL de TE (Tris 0,01M; EDTA0,001M; pH 7,0) e os mesmos foram armazenados no freezer (BOITEUX et al., 1999). Para avaliar a qualidade do DNA extraído, antes de usá-los na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), as amostras de DNA foram analisadas em gel de agarose 1,5%, em tampão TBE 0,5 X (Tris-borato-EDTA), coradas com GelRed® Nucleic Acid Gel Stain (Biotium, EUA) e visualizados em foto documentador L-Pix ST (Loccus Biotecnologia).

Amplificação de regiões genômicas e sequenciamento dos amplicons – O gene **TEF** foi inicialmente amplificado para todos os isolados para estimar a diversidade de haplótipos através do DnaSP (ROZAS et al. 2003). Os isolados representativos de cada haplótipo foram selecionados para a análise multilocus com base na região geográfica. As reações de PCR foram realizadas utilizando termociclador (AUT. CAP. 96X0,2ML 159 2720 da Applied Biosystems®), em volumes finais de **25 µL**, contendo: 17,05 µL de água Milli-Q; 2,5 µL de Buffer 10 X; 0,75 µL de MgCl₂; 0,50 µL de dNTPs (10 mM); 1,0 µL de cada primer (10 mM); 0,2µL de *Taq* DNA polimerase e 2 µL de DNA. Além disso, uma outra reação com volume de **12 µL** foi utilizada, isso quando a reação para 25 µL não demonstrava resultados quanto a amplificação, nesta continha: 2,5 µL de água Milli-Q; 2,0 µL de Buffer 10 X; 1,0 µL de MgCl₂; 1,0 µL de dNTPs (10 mM); 1,5 µL de cada primer (10 mM); 0,5µL de *Taq* DNA polimerase e 2 µL de DNA.

As condições de amplificação da região **ITS**, incluíram uma desnaturação inicial a 95 °C por 2 minutos; seguida por 36 ciclos de 95 °C por 1 minuto, anelamento a 51° C por 1 minuto, extensão a 72° C por 1 minuto, e extensão final a 72°C por 7 minutos. Para amplificação da região **TEF**, as condições térmicas incluíram, uma desnaturação inicial a 95 °C por 2 minutos, seguido por 36 ciclos de 95 °C por 1 minuto, anelamento a 55 °C por 1 minuto e 72 °C por 1 minuto, finalizando com uma extensão final a 72 °C por 7 minutos. Para a região **Tub-2**, as condições de amplificação incluíram uma desnaturação

inicial a 95 °C por 2 minutos; seguida por 36 ciclos de 95 °C por 1 minuto, anelamento a 65° C por 1 minuto, extensão a 72 °C por 1 minuto, e extensão final a 72 °C por 7 minutos. Para a região **ACT**, foi feita uma desnaturação inicial de 94 °C por 10 minutos, seguida por 40 ciclos de 94 °C por 30 segundos, anelamento a 55° C por 30 segundos, extensão a 72 °C por 80 segundos e uma etapa de extensão final a 72 °C por 6 minutos. Após a amplificação, os produtos da PCR foram visualizados novamente em gel de agarose a 1,5%, e tampão TBE 0,5X (Tris-borato-EDTA) para verificação da qualidade. As amostras de boa qualidade foram purificadas com o kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System, (Promega, Estados Unidos) seguindo as instruções do fabricante. Os produtos de PCR purificados foram enviados à ACTGene–Análises moleculares LTDA (Alvorada–RS) para sequenciamento.

Alinhamento de sequências e análise filogenética – As leituras de sequência direta e reversa foram montadas e revisadas usando o pacote Staden (STADEN et al. 1998). Todas as sequências de consenso obtidas foram comparadas com outras do GenBank usando o BLAST para consultar o banco de dados de sequências do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) visando confirmar as atribuições taxonômicas dos isolados. Sequências representando Ex-types e sequências publicadas relacionadas foram recuperadas do GenBank (**Tabela S1**). As sequências de cada gene foram alinhadas usando a estratégia G-INS-i no programa online MAFFT v.7 (KATOHI & TOHI 2013, KATOHI et al. 2019), com parâmetros padrão para abertura e extensão de gap e pontuação de 200PAM / κ = 2 nucleotídeos matriz e ajustada manualmente quando necessário no MEGA7 (KUMAR et al., 2016). Os genes foram concatenados usando SequenceMatrix v.1.8 (VAIDYA et al. 2011). As relações filogenéticas foram estimadas usando os métodos de Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB) para regiões genômicas concatenadas. As análises de MV foram realizadas usando IQ-TREE v. 2.1.2 (NGUYEN et al. 2015). Os modelos de substituição mais adequados foram selecionados pelo ModelFinder (KALYAANAMOORTHY et al. 2017; MINH et al. 2020) de acordo com o Bayesian Information Criterion (BIC). A confiabilidade dos suportes dos nós das árvores foi inferida usando o teste de razão de verossimilhança aproximada do tipo Shimodaira-Hasegawa (SH-aLRT-GUINDON et al. 2010) e o suporte de bootstrap ultrarrápido (UFboot) (MINH et al. 2013; HOANG et al. 2017) com 1000 réplicas. As análises de BI foram realizadas em MrBayes v. 3.2.6 v 3.2.1 (RONQUIST et al. 2012), implementado no CIPRES (<https://www.phylo.org/portal2/home.action>). Os modelos de

evolução foram estimados no MrModeltest 2.3 (NYLANDER 2004) usando o critério de informação de Akaike (CIA) para cada região genômica. O conjunto de dados combinados foi subdividido para refletir o modelo de substituição de nucleotídeos mais apropriado para cada um dos conjuntos de dados de genes únicos para a análise Bayesiana do conjunto de dados combinados. Quatro cadeias de Markov Chain Monte Carlo (MCMC) foram conduzidas por 5×10^7 gerações, com amostragens a cada 1000 gerações. A convergência de todos os parâmetros foi verificada usando Tracer v 1.5 (RAMBAUT & DRUMMOND, 2010) e os primeiros 25% das gerações foram descartados como burn-in. Os cladogramas foram considerados bem suportados quanto o suporte ao bootstrap da MV (UFboot ≥ 95 e SH-aLRT ≥ 80) e BI-PP $\geq 0,95$. As árvores filogenéticas foram visualizadas no FigTree v1.4.3 (RAMBAUT, 2012) e editadas no software Adobe Illustrator CS6 (Adobe Systems, EUA).

Avaliação da patogenicidade em frutos de berinjela (cv. Ciça) – Os isolados associados com a doença Podridão de Phomopsis utilizados para inoculação em frutos de berinjela foram selecionados com base no órgão da planta atacada e na região geográfica de onde foram obtidos. Os frutos da berinjela da cv. Ciça utilizados no presente ensaio foram obtidos de uma área produtora localizada no Núcleo Rural Boa Esperança, Ceilândia–DF. Antes das inoculações, todos os frutos foram desinfetados imergindo-os em uma solução de hipoclorito de sódio (0,2 %), por 10 minutos, lavados em água corrente e em seguida secos em papel toalha. Posteriormente, os frutos foram acondicionados em bandejas de plástico (44 x 30 cm). No fundo das bandejas foram depositados papéis toalha interfolha umedecidos com 10 mL de água destilada estéril, onde permaneceram por 48 horas. Para as inoculações, foram utilizadas culturas puras dos quatro isolados dos patógenos associados com a doença, cultivados por dez dias em placas de Petri contendo meio ágar-água suplementado com ramos de alfalfa (*Medicago sativa*) esterilizados, estes utilizados para induzir a esporulação dos isolados (UDAYANGA et al. 2014) e mantidos em câmara BOD, a uma temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas de luz ultravioleta por 10 dias. Os ensaios foram conduzidos de duas maneiras, com e sem fermentos nos frutos. Nos ensaios com fermento, os frutos foram perfurados em dois locais equidistantes, com auxílio de agulha hipodérmica e a inoculação realizada através de discos de 0,75cm do meio ágar-água, contendo crescimento micelial do fungo. Nos ensaios sem fermentos, discos do meio contendo o crescimento micelial foram fixados na superfície intacta dos frutos em dois

locais equidistantes. Na testemunha, utilizou-se apenas disco de meio ágar-água. Os frutos da berinjela foram mantidos em câmara úmida após a inoculação e retirados da câmara úmida 72 horas depois (**Figura 1**). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (4 isolados \times uma cultivar/ Ciça). A parcela experimental foi composta por cinco repetições (cinco frutos).

Avaliação da patogenicidade – Na avaliação, mediu-se o diâmetro das duas lesões em cada fruto e calculou-se o diâmetro médio da área necrosada na epiderme dos frutos. Para isso utilizou-se um paquímetro, onde foram feitas as medições das lesões em dois sentidos perpendiculares. Três avaliações foram efetuadas em intervalos de sete dias, a partir de 12 dias após a inoculação. A confirmação de que as necroses eram decorrentes da doença foi feita reisolando-se os fitopatógenos das lesões formadas. Os dados obtidos para avaliação da patogenicidade (diâmetro da lesão) foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL & MADDEN, 1990) e submetidos ao teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico easyanova[®]. Inicialmente, foram realizados os testes de aditividade dos dados, normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias. Os dados de AACPD foram transformados em $\log(x)$ para atender os pressupostos da análise. Não havendo nenhuma restrição, essas foram realizadas de acordo com o respectivo modelo estatístico.

RESULTADOS

Obtenção dos isolados – Neste estudo, foram obtidos 47 isolados fúngicos de plantas sintomáticas de berinjela, sendo 35 oriundos de áreas produtoras do Distrito Federal, quatro do estado de Pernambuco, dois do estado de São Paulo, cinco do estado de Santa-Catarina e um do estado de Minas Gerais (**Tabela 2**).

Haplotipagem dos isolados usando informação do gene TEF – A análise preliminar da variação nucleotídica entre os 47 isolados usando sequências parciais do gene TEF revelou um total de **14 haplótipos** (H1-H14). O BLAST indicou que os isolados apresentaram alta similaridade com espécies de quatro diferentes gêneros: **seis** haplótipos (H3/H4/H5/H6/H11/H14) foram similares às sequências do gênero *Boeremia*; **um** haplótipo (H7) foi similar às sequências do gênero *Cumuliphoma*; **quatro** haplótipos (H1/H2/H12/H13) foram semelhantes às sequências do gênero *Diaporthe* e **três** haplótipos (H8/H9/H10) foram similares às sequências do gênero *Stagnosporopsis*.

Desses, 21 isolados foram selecionados com base no haplótipo e na região geográfica de onde foram encontrados para condução das análises filogenéticas.

Análise filogenética e diversidade de espécies – O reconhecimento de espécies para os 12 isolados de *Boeremia* selecionados resultou na identificação de duas potenciais novas espécies (*Boeremia* sp1 e *Boeremia* sp2) feita por meio de dados multilocus (**ITS, TUB, ACT & TEF**). Da árvore filogenética formada, nove isolados identificados pelo símbolo “*” (PIC: 35, 47, 51, 177, 40, 185, 180, 73 e 71) pertencem a *Boeremia* sp1 e se agruparam em um clado maior e três isolados (PIC: 157, 208 e 162) pertencem a *Boeremia*. sp2 e se agruparam em um outro clado próximo. Valores de suporte de bootstrap ML (≥ 95) e probabilidade posterior bayesiana (≥ 95) são mostrados como primeira e segunda posição acima dos nós, respectivamente (**Figura 2**). As espécies recuperadas com os genes (ITS, TUB, ACT & TEF) apresentaram suporte significativo para distinguir as espécies de *Boeremia*. No entanto, o gene TEF, isoladamente, não distingue a espécie *Boeremia* sp.2 (**Tabela 3**). A filogenia de dados multilocus das sequências dos genes (**ITS, TUB, ACT & TEF**) também foi útil para distinguir claramente os limites das espécies na árvore que originou as espécies de *Cumuliphoma*. O isolado (PIC 137) foi identificado como *Cumuliphoma pneumoniae*. Este se agrupou no mesmo clado que os isolados representantes da mesma espécie (bootstrap ML ≥ 95 e probabilidade posterior bayesiana ≥ 95). A árvore foi enraizada em *Nothophoma infossa* (CBS 123394) e *Nothophoma infossa* (CBS 123395) (**Figura 3**). A filogenia do gene ACT, individualmente, ofereceu uma resolução limitada para as espécies de *Cumuliphoma*. Três espécies distintas de *Diaporthe* foram distribuídas para cinco isolados a partir das inferências filogenéticas multilocus (**ITS, TUB & TEF**). A análise filogenética permitiu identificar o isolado PIC 44 como sendo da espécie *Diaporthe endophytica*, os isolados PIC 117, PIC 48 e PIC 120 da espécie *D. griceae* e o isolado PIC 78 da espécie *D. vexans* (bootstrap ML ≥ 95 e probabilidade posterior bayesiana ≥ 95) (**Figura 4**). De acordo com os caracteres informativos que distinguem as espécies de *Diaporthe*, o gene TUB apresentou as sequências mais informativas dentre os genes utilizados. Já o ITS, apresentou uma resolução limitada dentro do complexo de espécies, indicando que este locus não é confiável para a delimitação das espécies de *Diaporthe*. A Árvore filogenética inferida a partir das sequências de DNA dos genes **ITS, TUB e TEF** identificou os isolados PIC 72 e PIC 77 como uma nova espécie de *Stagonosporopsis* (*Stagonosporopsis* sp.) e um outro clado com isolados de referência de *S. Pogostemon* onde o isolado PIC 138 se agrupou

(bootstrap ML ≥ 95 e probabilidade posterior bayesiana ≥ 95) (**Figura 5**). Quanto à capacidade de cada região genômica distinguir as espécies, *Stagonosporopsis* foi recuperado com suporte significativo em TUB e não foi contradito em nenhum outro gene. A filogenia do ITS, individualmente, não distinguiu as espécies de *Stagonosporopsis*. A ordem de ramificação ficou inconclusiva e apresentou uma falta de suporte de bootstrap nos entrenós, resultando em dois grandes agrupamentos.

Avaliação da patogenicidade de isolados em frutos – Os resultados da análise de variância individual para os dados da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) a partir do diâmetro médio das lesões, para cada isolado dos patógenos associados com a doença, não demonstraram, pelo teste F, diferenças significativas para a interação entre métodos de inoculação x isolados ($P < 0,05$) (**Tabela 4**). Dos isolados testados, os resultados das médias dentre os métodos de inoculação com e sem ferimento indicaram a ocorrência de variabilidade. Independente dos isolados, os ensaios com ferimentos (CF) demonstraram maiores valores de AACPD, ao tratar dos diâmetros médios das lesões, porém, não diferiram estatisticamente entre si. Para o método sem ferimento (SF), apenas o isolado **PIC 78**, obteve um diâmetro médio semelhante aos isolados inoculados com ferimento (20,92), não diferindo estatisticamente desses. A precisão experimental avaliada pelo coeficiente de variação (CV) foi de 14,51% (**Tabela 5**).

DISCUSSÃO

Nas últimas duas décadas, houve um aumento significativo nas pesquisas que envolvem a definição de espécies fúngicas através do uso de dados moleculares (HIBBETT & TAYLOR 2013; HYDE et al., 2013). A filogenia dos patógenos identificados neste estudo é muito complexa. Os resultados da análise filogenética demonstram que os **22 isolados** testados estão associados supostamente a um complexo de espécies causando a Podridão de Phomopsis da berinjela, fato ainda não relatado na literatura.

Marcadores têm sido propostos como um código de barras de DNA universal para fungos (SCHOCH et al. 2012). Em Didymellaceae, no entanto, as sequências nucleares do RNA ribossomal (ITS, LSU e SSU) são insuficientes para distinguir espécies estreitamente relacionadas (AVESKAMP et al., 2008, CHEN et al., 2015). A prova disto

é a árvore que abriga as espécies de *Diaporthe* desse estudo. A utilização exclusiva da região ITS do rDNA não foi suficiente para a delimitação de espécies de *Diaporthe*, quando comparado com a análise filogenética multilocus, que demonstrou uma identificação mais robusta ao nível de espécie dos isolados em estudo com os isolados de linhagens-tipo do GenBank.

No presente trabalho, as árvores concatenadas empregando as regiões genômicas empregadas (**TEF, ITS, TUB & ACT**) foram capazes de distinguir novas espécies de *Boeremia* (sp.1 e sp.2). Este é o primeiro relato de *Boeremia* ocorrendo em plantas de berinjela no Brasil. Outras espécies hospedeiras da família Solanaceae são relatadas na literatura. KOKAEVA et al. (2019) identificaram, pela primeira vez, *Boeremia exigua* atacando (*Solanum dulcamara*) na Rússia. Ainda, *B. exigua* e *B. foveata* foram relatadas causando o apodrecimento de tubérculos de batata (*Solanum tuberosum* L.) (GIEBEL & DOPIERAŁA 2004; CIMMINO et al. 2008).

Na árvore filogenética das espécies de *Stagonosporopsis*, a informação oriunda do gene (TUB) forneceu suporte significativo para discriminar os isolados de interesse. No entanto, para algumas outras espécies como: *Stagonosporopsis* (*S. papillata* / *S. bomiensis*) e (*S. stuijvenbergii* / *S. ailanthicola*) este gene não foi capaz de recuperá-las. Em estudos realizados por HOU et al. (2020) confirmou-se que *rpb2* distingue de forma confiável 35 gêneros em Didymellaceae inclusive *Stagonosporopsis*, fornecendo uma boa resolução tanto em nível de espécie quanto de gênero. Desta forma, análises adicionais incorporando a informação genética de *rpb2* podem ser extremamente úteis no refinamento da filogenia dos isolados do gênero *Stagonosporopsis*. Situações semelhantes a essas têm ocorrido em outros gêneros fitopatogênicos importantes, como *Bipolaris*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Phyllosticta* e *Pestalotiopsis* (MANAMGODA et al., 2011; SUMMERELLET al. 2010, 2011; WIKKEE et al. 2011a, b; MAHARACHCHIKUMBURA et al. 2011). A identificação de um locus de DNA diferente (ou marcador secundário de DNA) (HEBERT et al., 2002, SUMMERBELL et al., 2005, STIELOW et al., 2015) tem sido uma iniciativa promissora para a rápida detecção de fitopatógenos potencialmente graves (ARMSTRONG & BALL, 2005).

A descoberta de um novo complexo de espécies causando os sintomas da doença, trata-se de uma informação valiosa para os produtores de berinjela que até então, quando se fala do controle químico, utilizam produtos cúpricos registrados apenas para o agente causal *Diaporthe vexans*. Assim, fica claro a inviabilidade deste método de controle a partir desses resultados.

Na avaliação da severidade da doença em frutos (cv. Ciça), das diferentes espécies dos patógenos testadas (*Diaporthe vexans*, *Boeremia* sp.1 e *Stagonosporopsis* sp) e por meio dos quatro isolados inoculados, tivemos que a severidade foi influenciada apenas pelos métodos de inoculação. As lesões foram significativamente ($P < 0,05$) maiores nos frutos submetidos a ferimentos, quando comparadas com os tratamentos sem ferimentos. No método com ferimento (CF), o mais eficiente, todos os isolados foram capazes de causar necrose, possivelmente devido ao fornecimento de micélio ativo sobre ferimento, onde não há a proteção da cutícula e o tecido exposto permite o contato direto do fitopatógeno com as células. Além disso, os tecidos injuriados aumentam a atividade metabólica das células feridas, provocando elevação da taxa de respiração e aumento da perda de água, o que resulta na acelerada deterioração do fruto. O método sem ferimento (SF), que utiliza epiderme intacta, foi o menos eficiente, com apenas um isolado variando em termos de agressividade. Com base nos resultados obtidos, o método com ferimento mostrou-se mais indicado para inoculação dos patógenos associados com a podridão de Phomopsis em frutos de berinjela.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de informações de quatro regiões genômicas (fator de alongação da tradução 1- α – TEF-1, espaço interno transcrito – ITS, a beta-tubulina – Tub-2 e γ -actina – ACT) para gerar uma análise filogenética multilocus permitiu uma identificação robusta de um complexo patogênico associado com a “Podridão de Phomopsis” da berinjela no Brasil. Isolados dos gêneros *Boeremia* (espécie nova #1 e espécie nova #2), *Cumuliphoma* (*C. pneumoniae*), *Diaporthe* (*D. endophytica*, *D. griceae* e *D. vexans*) e *Stagonosporopsis* (*S. pogostemon* e uma nova espécie #1) foram associados com os diferentes quadro sintomatológicos que têm sido reportados em condições de campo.

Ensaio de avaliação de patogenicidade foram conduzidos (com e sem ferimentos) com quatro isolados deste complexo (dois isolados de *Boeremia* nova espécie #1, um isolado de *Stagonosporopsis* nova espécie #1 e um isolado de *Diaporthe vexans*) foram capazes de induzir sintomas, complementando os postulados de Koch.

A presença um complexo patogênico (incluindo potenciais novas espécies) na etiologia da podridão de Phomopsis pode representar um enorme obstáculo no desenvolvimento de cultivares melhoradas de berinjela, demandando a incorporação de

múltiplos fatores de resistência ou a identificação de fontes de resistência genética de amplo espectro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTSCHUL SF, GISH W, MILLER W, MYERS EW; LIPMAN DJ (1990). Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, 215: 403–410.

ANEFALOS, L. C.; MOREIRA, S. R.; VIEIRA, K. M.; CIPOLLI, A. B.; TURCO, P. H. N.; TAVARES, P. E. R. Sazonalidade da oferta de produtos hortícolas: o mercado de berinjela. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas – SP. 2008, 17 p.

ANWAR, A., BHAT, M., GANAIE, N., AMBARDAR, V.K., HASSAN, M.G. (2017). Prevalence and management through relative performance of organic mulches and fungi toxicants of noxious *Phomopsis* fruit rot (*Phomopsis vexans*, Sacc. & Syd.) Harter, in brinjal ecology of Kashmir. **The Pharma Innovation Journal**, 6, 318–323.

AVESKAMP MM, DE GRUYTER J, CROUS PW (2008). Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance. **Fungal Divers** 31:1–18.

AVESKAMP MM, VERKLEY GJM, GRUYTER J DE, MURACE MA, PERELLÓ A, WOUDEBERG JHC, GROENEWALD JZ, CROUS PW (2009 a). DNA phylogeny reveals polyphyly of *Phoma* section Peyronellaea and multiple taxonomic novelties. **Mycologia** 101: 363–382.

AVESKAMP MM, WOUDEBERG JHC, GRUYTER J DE, TURCO E, GROENEWALD JZ, CROUS PW (2009 b). Development of taxon-specific sequence characterized amplified region (SCAR) markers based on actin sequences and DNA amplification fingerprinting (DAF): a case study in the *Phoma exigua* species complex. **Molecular Plant Pathology** 10: 403–414

BOEREMA G.H, GRUYTER J.D.E, NOORDELOOS M.E, HAMERS M.E.C, (2004). **Phoma identification manual**. Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9780851997438.0000>.

BOITEUX LS; FONSECA, MEN; SIMON PW. (1999). Effects of Plant Tissue and DNA Purification Method on Randomly Amplified Polymorphic DNA-based Genetic Fingerprinting Analysis in Carrot. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 124: 32–38.

BONFIELD, J.K.; STADEN R. (1996). Experiment files and their application during large-scale sequencing projects. **DNA Sequence** 6: 109-117.

BOTELLA, L. and DIEZ, J. (2011). Phylogenetic diversity of fungal endophytes in Spanish stands of *Pinus halepensis*. **Fungal Divers** 47, 9–18.

BRUNS, T.D.; WHITE, T.J.; TAYLOR J.W. Fungal molecular systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 1991, v. 22, p. 525–564.

BURGESS, T.; MALAJCZUK, N.; DELL, B. Variation in *Pisolithus* and basidiospore morphology, culture characteristics and analysis of polypeptides using 1D SDS-PAGE. **Mycological Research**, v. 99, p. 1-13, 1995.

- CABRAL, D., STONE, J.K. AND CARROLL, G.C. (1993). The internal mycobiota of *Juncus* spp.: microscopic and cultural observations of infection patterns. **Mycol Res** 97, 367–376.
- CAMPBELL, C. D.; MADDEN, L. V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. New York: J. Willey, 1990. 532 p.
- CARBONE I. and L. KOHN, 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **Mycologia** 91, 553–556.
- CASTELLANI, A. (1939). Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.24, p. 270-276.
- CHEN, Q., JIANG, J., ZHANG, G., CAI, L. and CROUS, P.W. (2015). Resolving the *Phoma* enigma. **Studies in Mycology**, 82, 137–217.
- CIMMINO A, ANDOLFI A, BERESTETSKIY A, EVIDENTE A. (2008). Production of phytotoxins by *Phoma exigua* var. *exigua*, a potential mycoherbicide against perennial thistles. **J Agr Food Chem**. 56:6304–6309.
- COSTA, C.A.; LOURENÇO, V.; SANTIAGO, M.F.; VELOSO, J. S.; Reis, A. Molecular phylogenetic, morphological, and pathogenic analyses reveal a single clonal population of *Septoria lycopersici* with a narrower host range in Brazil. **Plant Pathology**, v.71, p. 621-633, 2022.
- DISSANAYAKE, A.J.; PHILLIPS, A.J.L.; HYDE, K.D.; YAN, J.Y.; LI, X.H. The current status of species in *Diaporthe*. **Mycosphere** 2017, 8, 1106–1156.
- DONG ZY, HUANG YH, MANAWASINGHE IS, WANASINGHE DN, LIU JW, SHU YX, ZHAO MP, XIANG MM, LUO M. (2021). *Stagonosporopsis pogostemonis*: A Novel Ascomycete Fungus Causing Leaf Spot and Stem Blight on *Pogostemon cablin* (Lamiaceae) in South China. **Pathogens**. Aug 27;10 (9):1093.
- EDGERTON, C.W., & MORELAND, C.C. (1921). Eggplant blight. **Louisiana Agricultural Experiment Station Bulletin**, 78, 1–44.
- FIGUEIREDO, E.R.D.E., & PEREIRA, H.F. (1944). A serious eggplant disease caused by *Phomopsis vexans*. **Biologico**, 10, 349–352.
- GAI Y.P, MA H.J, CHEN X.L, CHEN H.H & HONG-YE LI (2016). *Boeremia* tuber rot of sweet potato caused by *B.exigua*, a new post-harveststorage disease in China. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 38:2, 243-249, DOI:10.1080/07060661.2016.1158742To
- GAO, Y.; LUI, F.; DUAN, W.; CROUS, P.W.; CAI, L. *Diaporthe* is paraphyletic. **IMA Fungus** 2017, 8, 153–187.
- GIEBEL J, DOPIERAŁA U. (2004). Pathogenesis of potato gangrene caused by *Phoma exigua* var. *foveata*: II. Activities of some hydrolases and dehydrogenases. **J Phytopathol**. 152:399–403.
- GLASS, N.L.; DONALDSON, G.C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous Ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 1323–1330.

GOMES, R.R., GLIENKE, C., VIDEIRA, S.I.R., LOMBARD, L., GROENEWALD, J.Z. AND CROUS, P.W. (2013). *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. **Persoonia** 31, 1–41.

GONZÁLEZ, V. and TELLO, M.L. (2011). The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain. **Fungal Divers** 47, 29–42.

GUARNACCIA, V.; GROENEWALD, J.Z.; WOODHALL, J.; ARMENGOL, J.; CINELLI, T.; EICHMEIER, A.; EZRA, D.; FONTAINE, F.; GRAMAJE, D.; GUTIERREZ-AGUIRREGABIRIA, A.; et al. *Diaporthe* diversity and pathogenicity revealed from a broad survey of grapevine diseases in Europe. **Persoonia** 2018, 40, 135–153.

HALSTED B.D, (1892). Some fungous diseases of the eggplant. **New Jersey Agricultural Experiment Station Twelfth Annual Report**, 1891:277-283.

HARTER, L.L. (1914). Fruit-rot, leaf-spot and stem blight of the eggplant caused by *Phomopsis vexans*. **Journal of Agricultural Research**, 2, 331–338.

HEBERT, A. CYWINSKA, S.L. BALL, et al. (2022). Biological identifications through DNA barcodes **Proceedings of the Royal Society of London B**, 270, pp. 313-321

HYDE KD, UDAYANGA D, MANAMGODA DS, TEDERSOO L, LARSSON E, ABARENKOV K, BERTRAND YJK, OXELMAN B, HARTMANN M, KAUSERUD H, RYBERG M, KRISTIANSSON E, NILSSON RH (2013). Incorporating molecular data in fungal systematics: a guide for aspiring researchers. **Curr Res Environ Appl Mycol** 3:1–32

HIBBETT DS, TAYLOR JW (2013). Fungal systematics: is a new age of enlightenment at hand? **Nat Rev Microbiol** 11:129–133.

HOU L.W., GROENEWALD J.Z., PFENNING L.H., YARDEN O., CROUS P.W. E L. CAI. The phoma-like dilemma. **Studies in Mycology**. Volume 96, June 2020, Pages 309-396.

ISLAM, M.M., ASADUZZAMAN, M., & MEAH, M.B. (2010). Molecular Characterization of *Phomopsis vexans* Isolates of Eggplant of Bangladesh. **Journal of Science Foundation**, 8, 131–140. doi: <https://doi.org/10.3329/jsf.v8i1-2.14636>

JAYARAMAIAH, K.M., MAHADEVAKUMAR, S., RAJ, C., & JANARDHANA, A.P.G.R. (2013). PCR based detection of (*Sacc. & Syd.*) - The causative agent of leaf blight and fruit rot disease of Brinjal (*L.*). **International Journal of Life Science**, 7, 17–20. doi:<https://doi.org/10.3126/ijls.v7i1.8173>.

KALYAANAMOORTHY, S., MINH, B. Q., WONG, T. K., VON HAESLER, A. & JERMIIN, L. S. 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. **Nat. Methods** 14:587–9.

KATO H, TOH H, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution** 30:772-780.

KAUSHAL, N., & SUGHA, S.K. (1995). Role of *Phomopsis vexans* in damping-off of seedlings in eggplant and its control. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, 25, 189–191.

KOKAEVA L. Studies on the mycobiota of blighted *Solanum dulcamara* leaves. Janeiro de 2019 **Mycology and Phytotherapy** 53(2):108-114
DOI:10.1134/S0026364819020053

KUMAR, S., STECHER, G., AND TAMURA, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biol. and Evol.** 33:1870-1874.

LIMA, M. E. Cultivo da Berinjela (*Solanum melongena* L.) em diferentes sistemas de cultivo e lâminas de irrigação no município de Seropédica – RJ. **IN: Tese**, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Agronomia, (Ciências: Fitotecnia). Seropédica - RJ, 2009, 133 p.

LIU, Y.J., WHELEN, S. and HALL, B.D. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. **Mol. Biol. Evol.** 16(12): 1799-1808.

LOMBARD L, VAN LEEUWEN GCM, GUARNACCIA V, POLIZZI G, VAN RIJSWICK PC, et al. (2014). *Diaporthe* species associated with *Vaccinium*, with specific reference to Europe. **Phytopathologia Mediterranea** 53: 287–299.

MAHARACHCHIKUMBURA S.S.N., GUO L.D., CHUKEATIROTE E., BAHKALI A.H. & HYDE K.D., 2011 — Pestalotiopsis: morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. **Fungal Diversity** 50: 167-187

MANAMGODA D.S., HYDE K.D., BAHKALI A.H. & CAI L., (2011). Cochliobolus: an overview and the current status of species. **Fungal Diversity** 51: 3-42.

MARTIN, W.H. (1930). Anual Report new jersey agricultural experiment station for the year ending June 30. **Plant Pathology**, 44, 235–254.

NASCIMENTO, W.M. Produção de sementes de berinjela. In: IV CURSO SOBRE TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE SEMENTES DE HORTALIÇAS, 4., 2004, Brasília. Palestras. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2004. CD-ROM

NGUYEN, L. T., SCHMIDT, H. A., VON HAESLER, A. & MINH, B. Q. (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. **Mol. Biol. Evol.** 32:268–74.

NOLLA, J.A.B. (1929). The eggplant blight and fruit rot in Puerto Rico. **The journal of the Department of Agriculture of Porto Rico**. 13, 35–37.

NYLANDER JAA, (2004). MrModeltest v2. Program distributed by the author. **Evolutionary Biology Centre**, Uppsala University.

O'DONNELL, K; WARD, TJ; ROBERT, VA; CROUS, PW; GEISER, DM; KANG, S (2015). DNA sequence-based identification of *Fusarium*: Current status and future directions. **Phytoparasitica** 43: 583-595

PETRINI, O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. In Microbial Ecology of Leaves ed. Andrews, J.H. and Hirano, S.S. pp. 179–197. New York: Springer-Verlag.

PORTER, R.P. (1943). Seed borne inoculum of *Phomopsis vexans* - its extent and effects. **The Plant Disease, Reporter**, 27, 167–169.

RAMBAUT A, DRUMMOND A, 2010. Tracer v. 1.4 Available at: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.

- RAMBAUT, A. (2012). FigTree v1.4.0: Tree Figure Drawing Tool. Available: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- RANGASWAMI, G. (1979). Diseases of crop plants in India (2nd ed., pp. 298–302). New Delhi: Prentice-Hall of India Pvt. Ltd.
- REIS, A.; BOITEUX, L.S.; LOPES, C.A. Doenças da berinjela no Brasil. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2011 (Circular Técnica (EMBRAPA)).
- RIBEIRO, C.S.; BRUNE, S.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. **Cultivo da berinjela (*Solanum melongena* L.)**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1998. 23p. (Instrução Técnica nº15).
- ROSSMAN, A.Y., FARR, D.F. AND CASTLEBURY, L.A. (2007) A review of the phylogeny and biology of the Diaporthales. **Mycoscience** 48, 135–144.
- ROSSMAN, A.Y.; ADAMS, G.C.; CANNON, P.F.; CASTLEBURY, L.A.; CROUS, P.W.; GRYZENHOUT, M.; JAKLITSCH, W.M.; MEJÍA, L.C.; STOYKOV, D.; UDAYANGA, D.; et al. Recommendations of generic names in Diaporthales competing for protection or use. *IMA Fungus* **2015**, 6, 145–154.
- ROZAS, J., SÁNCHEZ-DELBARRIO, J.C., MESSEGUER, X. and ROZAS, R. (2003). DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- SACCARDO, SYDOW (1899). *Phoma vexans*. Saccardo Syll. Fungi, 14:889.
- SANTOS, L.; ALVES, A.; ALVES, R. Evaluating multi-locus phylogenies for species boundaries determination in the genus *Diaporthe*. *PeerJ* **2017**, 5, 1–26.
- SCHNEIDER, H. Métodos de análise filogenética: um guia prático., ed. 2, **Sociedade Brasileira de Genética**, 2007, 200 p.
- SCHOCH CL, SEIFERT KA, HUHNDORF S, ROBERT V, SPOUGE JL et al. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. **Proc Natl Acad Sci U S A** 109:6241–6246.
- SMITH C. O., (1905). Study of the diseases of some truck crops of Delaware. **Delaware Agricultural Experiment Station Bulletin**, 70:16.
- SMITH H, WINGFIELD MJ, COUTINHO TA, CROUS PW (1996). *Sphaeropsis sapinea* and *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Pinus* spp. and *Eucalyptus* spp. in South Africa. **South African journal of botany**, 62(2), 86-88
- SPEGAZZINI C. (1881). Nova addend a ad mycologiam. Venetam. Atti, Soc. Crittog. Ital., Ann 24:42-71.
- STADEN, R.; BEAL, K.F.; BONFIELD, J.K. (1998). The Staden package. In: MISENER, S.; KRAWETZ, S.A. (eds) *Bioinformatics methods and protocols*. Humana, New York, p. 115-130.
- Summerbell, R.C., Levesque, K.A., Seifert, et al. Microcoding: the second step in DNA barcoding **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B**, 360 (2005), pp. 1897-1903.
- SUNG G-H, SUNG J-M, HYWEL-JONES NL, et al. (2007). A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): identification of localized incongruence using a

- combinational bootstrap approach. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **44**: 1204–1223.
- TOOLE, E.H., WESTER, R.E., & TOOLE, V.K. (1941). The effect of fruit rot of eggplant on seed germination. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, **38**, 496–498.
- UDAYANGA D, CASTLEBURY LA, ROSSMAN AY, CHUKEATIROTE E, HYDE KD (2014). Insights into the genus *Diaporthe*: phylogenetic species delimitation in the *D. eres* species complex. **Fungal Diversity** **67**: 203–229.
- UDAYANGA D, CASTLEBURY LA, ROSSMAN AY, HYDE KD (2014). Species limits in *Diaporthe*: molecular re-assessment of *D. citri*, *D. cytospora*, *D. foeniculina* and *D. rudis*. **Persoonia** **32**: 83–101.
- UDAYANGA, D., LIU, X., MCKENZIE, E.H.C., CHUKEATIROTE, E., BAHKALI, A.H.A. AND HYDE, K.D. (2011). The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. **Fungal Divers** **50**, 189–225.
- UECKER, F.A. (1988). A world list of *Phomopsis* names with notes on nomenclature, morphology and biology. **Mycol Mem**, **13**, 1–231.
- VAIDYA, G., LOHMAN, D. J., AND MEIER, R. (2011). **SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information**. **Cladistics**. **27**:171-180.
- VISHUNAVAT, K. & KUMAR, S. (1993). Detection and transmission of seedborne inoculum of *Phomopsis vexans* (Sacc. & Syd.) Harter. and the effect of infection on seed quality in egg plant (*Solanum melongena* L.). **Seed Research**, **21**, 66–71.
- VOGLINO P, (1907). Intorno ad. un parassita dannoco al *Solanum melongena*. **Malpighia**, **21**:353-363
- WHITE, T. et al. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. Innis, **Academic Press**, Inc., New York, p. 315-322.
- WIKKE S., CAI L., PAIRIN N., MCKENZIE E.H.C., SU Y.Y., CHUKEATIROTE E., THI H.N., BAHKALI A.H., MOSLEM M.A., ABDELSALAM K. & HYDE K.D., (2011 a). *Colletotrichum* species from Jasmine (*Jasminum sambac*). **Fungal Diversity** **46**, 171-182.
- WIKKE S., UDAYANGA D., CROUS P.W., CHUKEATIROTE E., MCKENZIE E.H.C., BAHKALI A.H., DAI D.Q. & HYDE K.D., (2011b) — *Phyllosticta* – an overview of current status of species recognition. **Fungal Diversity** **51**: 43-61.
- YANG, Q.; FAN, X.L.; GUARNACCIA, V.; TIAN, C.M. High diversity of *Diaporthe* species associated with dieback diseases in China, with twelve new species described. **MycoKeys** **2018**, **39**, 97–149.
- ZHANG Y, SCHOCH CL, FOURNIER J, CROUS PW, DE GRUYTER J, WOUDEBERG JH, HIRAYAMA K, TANAKA K, POINTING SB, SPATAFORA JW, HYDE KD (2009). Multi-locus phylogeny of the Pleosporales: a taxonomic, ecological and evolutionary reevaluation. **Stud Mycol** **64**:85–102.

Tabela 1. Primers utilizados neste estudo, detalhes das sequências e referências.

| Gene | Primers | Sequências | Referências |
|--------------|------------------|--------------------------------|--------------------------|
| <i>ITS</i> | ITS 5 | 5'-GGA AGTAAA AGTCGTAACAAGG-3' | WHITE et al. (1990) |
| | ITS 4 | 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' | |
| <i>TEF</i> | EF1- 728F | 5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3' | CARBONE & KOHN (1999) |
| | EF2- 986R | 5'-TACTTGAAGGAACCCTTACC-3' | |
| <i>Tub-2</i> | Bt2a | 5'-GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC-3' | GLASS & DONALDSON (1995) |
| | Bt2b | 5'-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3' | |
| <i>ACT</i> | ACT-512F | 3'-ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC-5' | CARBONE & KOHN (1999) |
| | ACT-783R | 3'-TACGAGTCCTTCTGGCCCAT-5' | |

ITS, região espaçadora transcrita interna do rDNA; **TEF**, Sequência parcial do gene que codifica o fator de alongamento da tradução 1- α , **Tub-2**, sequência parcial do gene que codifica a β - tubulina e **ACT**, γ -actina parcial.

Tabela 2. Isolados fúngicos coletados em áreas produtoras de berinjela (*Solanum melongena* L.) e utilizados no presente estudo, código do isolado, órgão isolado, cidade/ estado e ano da coleta. ND = dado não disponível.

| Isolado | Órgão Isolado | Cidade/ Estado | Ano da Coleta |
|---------|---------------|--------------------|---------------|
| PIC 34 | Caule | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 35 | Caule | Ceilândia- DF | 2021 |
| PIC 36 | Caule | Ceilândia- DF | 2021 |
| PIC 37 | Folha | Ceilândia- DF | 2021 |
| PIC 38 | Folha | Ceilândia- DF | 2021 |
| PIC 39 | Fruto | Ceilândia- DF | 2021 |
| PIC 40 | Fruto | Ceilândia- DF | 2021 |
| PIC 41 | Fruto | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 42 | Fruto | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 44 | Fruto | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 45 | Folha | Ceilândia- DF | 2021 |
| PIC 46 | Folha | Ceilândia- DF | 2021 |
| PIC 47 | Fruto | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 48 | Caule | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 49 | Folha | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 50 | Caule | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 51 | Folha | Brazlândia- DF | 2021 |
| PIC 54 | ND | Brasília-DF | 2021 |
| PIC 70 | Caule | Chã-Grande- PE | 2021 |
| PIC 71 | Folha | Chã-Grande- PE | 2021 |
| PIC 72 | Ramo | Chã-Grande- PE | 2021 |
| PIC 73 | Folha | Chã-Grande- PE | 2021 |
| PIC 76 | ND | Samambaia-DF | 2021 |
| PIC 77 | Fruto | Bauru- SP | 2021 |
| PIC 78 | Fruto | Barueri- SP | 2021 |
| PIC 114 | Folha | Antônio Carlos- SC | 2022 |
| PIC 117 | Folha | Biguaçu- SC | 2022 |
| PIC 119 | Folha | Biguaçu- SC | 2022 |
| PIC 120 | Folha | Biguaçu- SC | 2022 |

| | | | |
|----------------|-----------|---------------|------|
| PIC 123 | Folha | Biguaçu- SC | 2022 |
| PIC 137 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 138 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 139 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 157 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 162 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 164 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 166 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 174 | Fruto | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 177 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 178 | Caule | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 180 | Pedúnculo | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 181 | Fruto | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 182 | Ramo | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 183 | Sépala | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 184 | Ramo | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 185 | Folha | Brazlândia-DF | 2023 |
| PIC 208 | Folha | Carandá-MG | 2023 |

(-) = não especificado.

Tabela 3. Comparação da capacidade genética das regiões genômicas distinguirem espécies associadas a Podridão de Phomopsis da berinjela (*Solanum melongena* L).

| Espécies | ITS | TEF | TUB | ACT |
|--------------------------------------|---------|----------|----------|-------------|
| <i>Boeremia</i> sp. 1 | Amarelo | Verde | Verde | Verde |
| <i>Boeremia</i> sp. 2 | Amarelo | * | Verde | Verde |
| <i>Cumuliphoma pneumoniae</i> | Púrpura | Púrpura | Púrpura | Verde claro |
| <i>Diaporthe endophytica</i> | Ciano | Vermelho | Vermelho | Cinza |
| <i>Diaporthe griceae</i> | Ciano | Ciano | Vermelho | Cinza |
| <i>Diaporthe vexans</i> | Ciano | Ciano | Vermelho | Cinza |
| <i>Stagonosporopsis</i> sp. | Laranja | Amarelo | Amarelo | Cinza |
| <i>Stagonosporopsis pogostemonis</i> | Laranja | Amarelo | Amarelo | Cinza |

| | |
|---|---|
|  | Distinguiu outras espécies de <i>Boeremia</i> |
|  | Não distinguiu outras espécies de <i>Boeremia</i> |
|  | Distinguiu outras espécies de <i>Cumuliphoma</i> |
|  | Não distinguiu outras espécies de <i>Cumuliphoma</i> |
|  | Distinguiu outras espécies de <i>Diaporthe</i> |
|  | Não distinguiu outras espécies de <i>Diaporthe</i> |
|  | Distinguiu outras espécies de <i>Stagonosporopsis</i> |
|  | Não distinguiu outras espécies de <i>Stagonosporopsis</i> |
|  | Nenhum produto PCR |

* Isolados não são agrupados

Tabela 4. Quadro de análise de variância das variáveis isolados x métodos de inoculação de isolados em fruto de berinjela (cv. Ciça).

| FV | GL | QM |
|-------------------------|----|----------------------|
| Métodos | 1 | 0.2994 * |
| Isolado | 3 | 0.0864 ^{ns} |
| Método x isolado | 3 | 0.0396 ^{ns} |
| Resíduo | 32 | 0.0364 |
| Total | 39 | |

* Significância a 0.05, GL: grau de liberdade e QM: quadrado médio.

Tabela 5. Diâmetro médio das lesões associadas a inoculação dos patógenos causadores da Podridão de Phomopsis pelos métodos com e sem fermento em frutos de berinjelas (cv. Ciça).

| ISOLADOS | Métodos | |
|---------------|---------|---------|
| | CF | SF |
| PIC 78 | 20,19 a | 20,92 a |
| PIC 77 | 19,71 a | 9,97 b |
| PIC 47 | 16,86 a | 2,85 b |
| PIC 40 | 12,25 a | 4,00 b |
| C.V. (%) | 14,51% | |

CF: Com fermento e SF: Sem fermento. Médias seguidas da mesma letra, no sentido vertical, não diferem significativamente entre si (P=0,05) pelo teste de Scott-Knott.



Fonte: Bruno Alves, 2023

Figura 1. Ensaios de patogenicidade de isolados dos patógenos associados à Podridão de Phomopsis em frutos da berinjela (*Solanum melongena*). Frutos higienizados, secando (A), inoculação de frutos, com fermento (B) e câmara úmida (C).

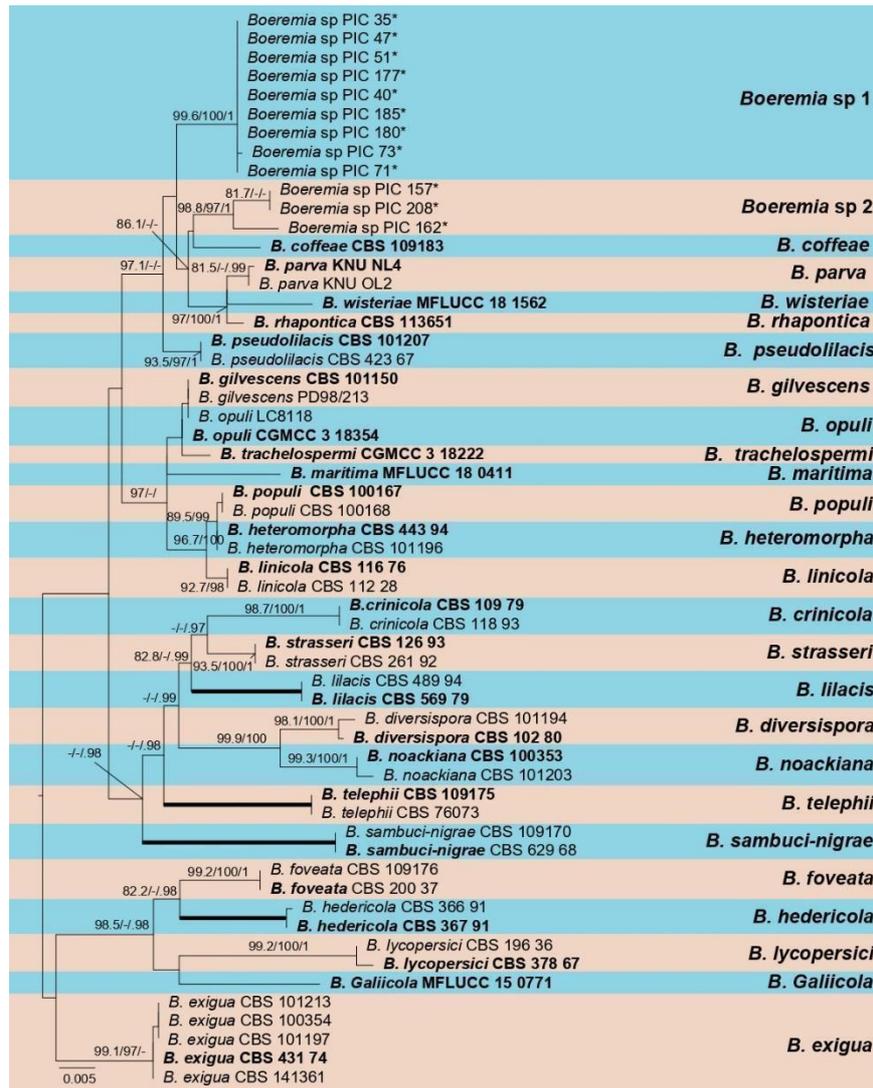


Figura 2. Maximum likelihood tree of the *Boeremia* species on eggplant was based on DNA sequences of ITS, TUB, ACT and TEF gene. Numbers at the branches indicate support values (SH-aLRT (≥ 80)/ UFboot (≥ 95) / BI-PP ($\geq .95$) with thickened branches indicating full support (SH-aLRT/ UFboot = 100 %; BI-PP = 1). Ex-types are emphasized in bold. "*" indicates the isolate obtained in this study. Tree is rooted in the midpoint. The scale bar indicates the estimated number of substitutions per site.

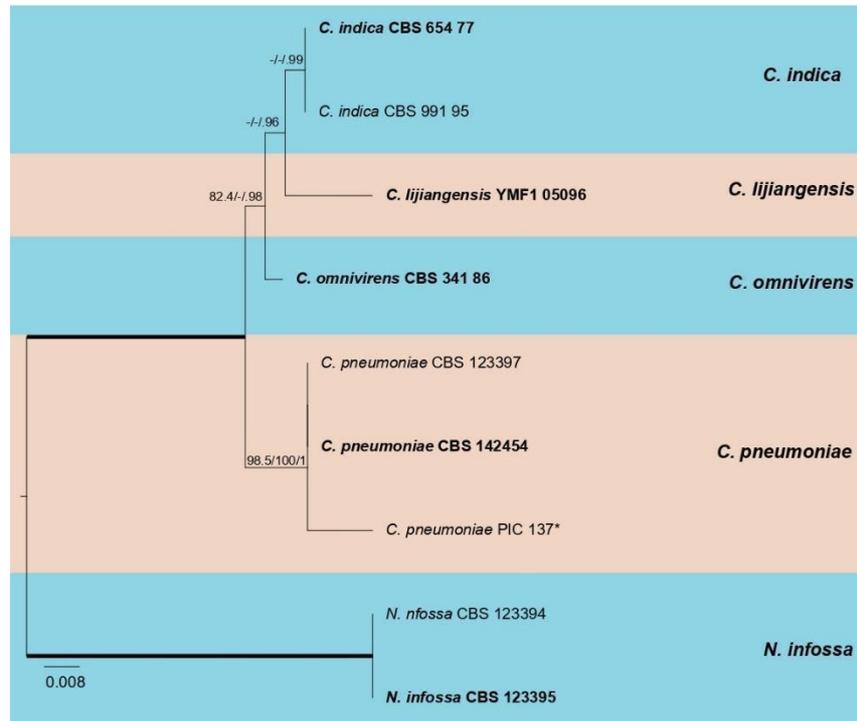


Figura 3. Maximum likelihood tree of the *Cumuliphoma* species on eggplant was based on DNA sequences of ITS, TUB, ACT and TEF gene. Numbers at the branches indicate support values (SH-aLRT (≥ 80)/UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95)) with thickened branches indicating full support (SH-aLRT/UFboot = 100 %; BI-PP = 1). Ex-types are emphasized in bold. "*" indicates the isolate obtained in this study. The tree is rooted to *Nothophoma infossa* CBS 123394 and *Nothophoma infossa* CBS 123395. The scale bar indicates the estimated number of substitutions per site.

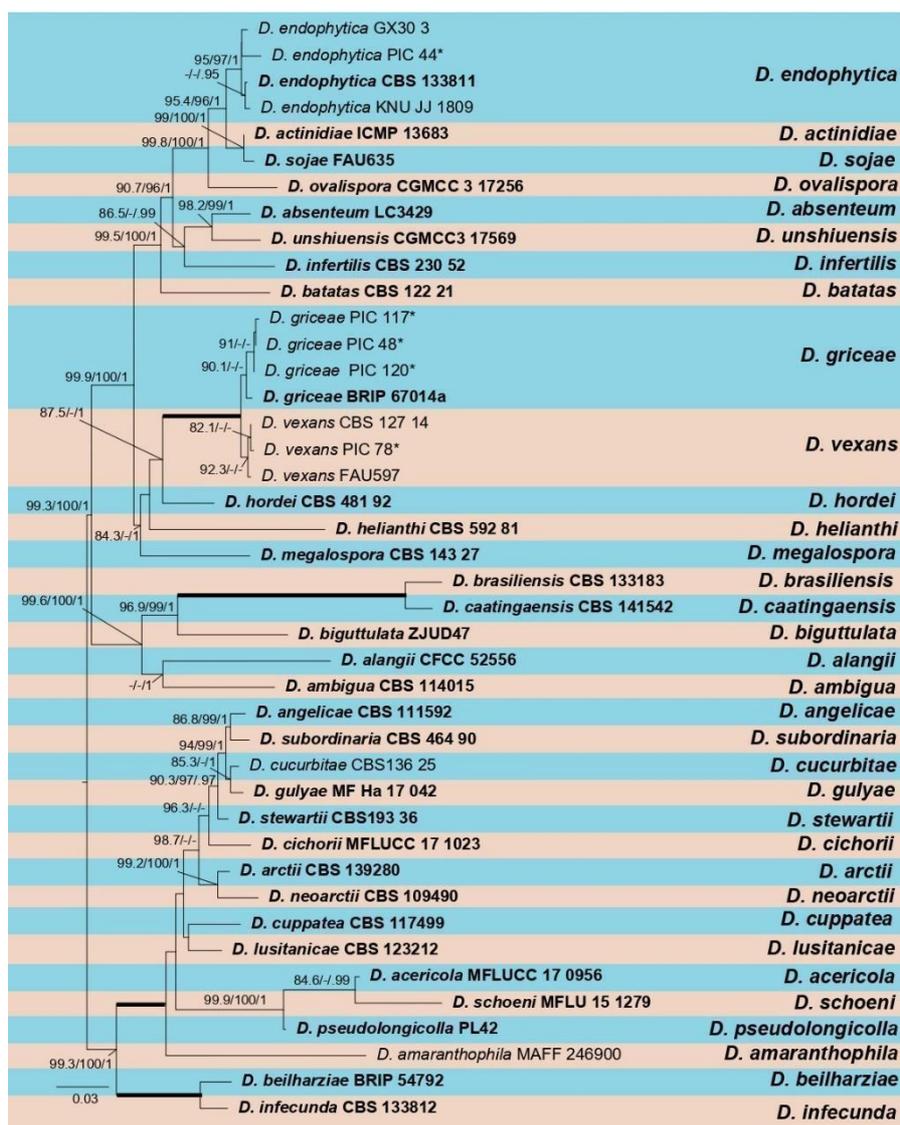


Figura 4. Maximum likelihood tree of the *Diaporthe* species on eggplant was based on DNA sequences of ITS, TUB and TEF gene. Numbers at the branches indicate support values (SH-aLRT (≥ 80)/ UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95)) with thickened branches indicating full support (SH-aLRT/ UFboot = 100 %; BI-PP = 1). Ex-types are emphasized in bold. "*" indicates the isolate obtained in this study. Tree is rooted in the midpoint. The scale bar indicates the estimated number of substitutions per site.

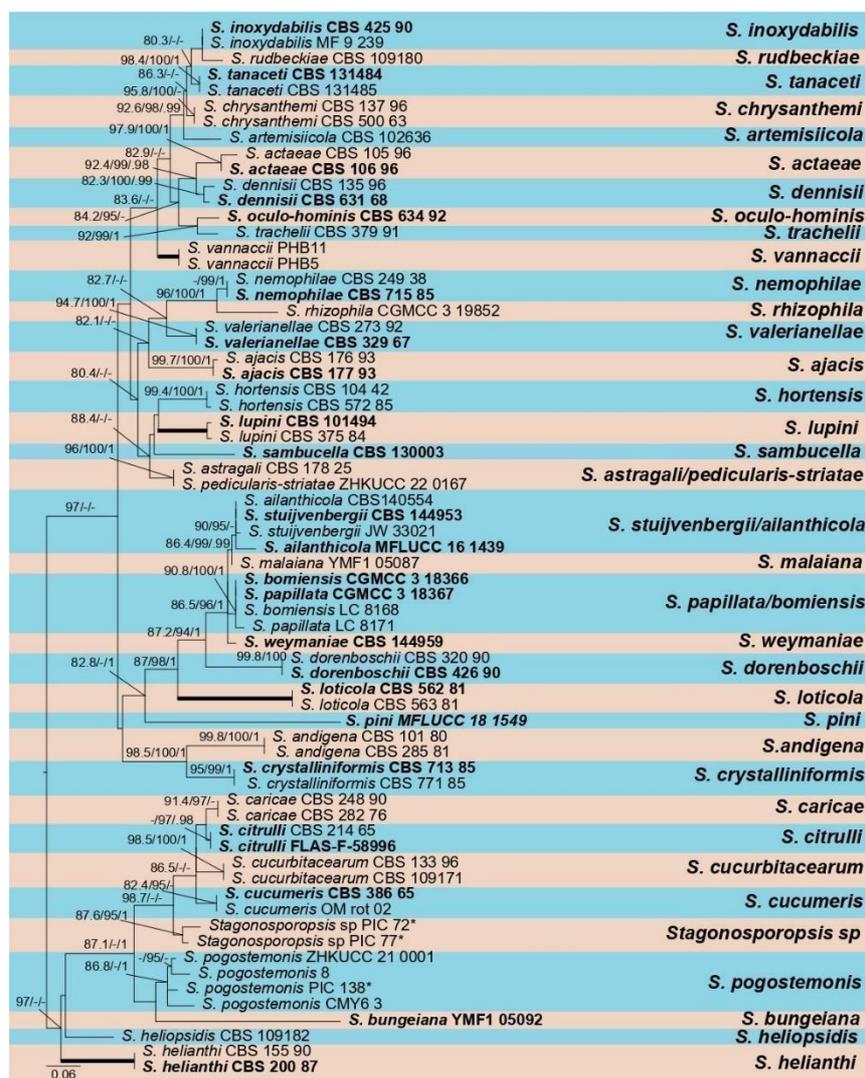


Figura 5. Maximum likelihood tree of the *Stagonosporopsis* species on eggplant was based on DNA sequences of ITS, TUB and TEF gene. Numbers at the branches indicate support values (SH-aLRT (≥ 80)/UFboot (≥ 95) / BI-PP (≥ 95) with thickened branches indicating full support (SH-aLRT/UFboot = 100%; BI-PP = 1). Ex-types are emphasized in bold. "*" indicates the isolate obtained in this study. Tree is rooted in the midpoint. The scale bar indicates the estimated number of substitutions per site.

CAPÍTULO III

Busca em germoplasma de berinjela por fontes de resistência de amplo espectro contra dois patógenos associados com a mancha foliar de *Phomopsis* no Brasil

Busca em germoplasma de berinjela por fontes de resistência de amplo espectro contra dois patógenos associados com a mancha foliar de Phomopsis no Brasil

B. A. Silva¹; J. S. Veloso¹; M. E. N. Fonseca^{1,2}, L.S. Boiteux^{1,2}, C.S. Costa Ribeiro^{1,2}; S. I. C. Carvalho^{1,2}; A. Reis^{1,2}

¹ Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 52171-900, PE, Brazil.

² Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Hortaliças, 70275-970, Brasília, DF, Brazil. 10
Corresponding author: ailton.reis@embrapa.br

RESUMO

Fungos produtores de picnídios induzem um complexo de doenças (coletivamente denominadas de podridão de Phomopsis) que envolvem manchas foliares, podridões de frutos e podridão de caule e ramos em berinjela (*Solanum melongena* L.). O fungo *Diaporthe vexans* tem sido historicamente reportado como sendo o agente causal dessas doenças. No entanto, a etiologia destas enfermidades foi recentemente esclarecida nas condições brasileiras, sendo induzidas por um complexo de espécies fúngicas. O híbrido 'Ciça' (liberado como resistente ao fungo *D. vexans*) e outras cultivares têm se mostrado suscetíveis para diferentes membros desse complexo em condições de campo. Neste contexto, o presente estudo buscou identificar fontes de resistência genética efetivas contra dois dos principais agentes causais da doença (identificados como *Boeremia* sp.1 e *Diaporthe griceae*) em uma coleção de germoplasma de berinjela. A resposta foliar aos dois patógenos foi avaliada através da estimativa da severidade da doença a partir de um conjunto de diagramas de área padrão (SADs) com oito valores variando de 0,5 a 32% de área foliar lesionada. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial duplo (61 cultivares \times 2 isolados). Os dados de severidade foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Não houve diferença nos níveis de severidade de sintomas induzidos pelos dois patógenos testados. Os acessos CNPH 119, CNPH 116, CNPH 125, CNPH 121, CNPH 407, CNPH 006, CNPH 410, CNPH 218, CNPH 737 e 'Ciça' apresentaram os maiores níveis de resistência aos dois patógenos. Por sua vez, os acessos CNPH 071, CNPH 057, CNPH 050 e CNPH 052 se mostraram mais suscetíveis. Respostas do tipo patógeno-específicas foram também observadas no acesso CNPH 095 em resposta à inoculação por *Boeremia* sp. 1 (isolado PIC 73) com AACPD = 112,87 e no acesso CNPH 062 em resposta à inoculação com *D. griceae* (isolado PIC 117), com AACPD = 42,58. Os acessos CNPH 058, CNPH 098, CNPH 067, CNPH 066, CNPH 099, CNPH 056 e CNPH 112 apresentaram níveis intermediários de resistência, independente do isolado do patógeno. A identificação de materiais genéticos contrastantes em resposta aos dois fungos vai permitir o desenvolvimento de populações segregantes visando identificar o controle genético dos níveis elevados de resistência detectados em alguns acessos. A informação gerada neste estudo pode, portanto, facilitar o desenvolvimento de cultivares com resistência múltipla contra os dois patógenos.

Palavras-Chaves: *Boeremia* sp. 1; *Diaporthe griceae*; Agentes Causais; Melhoramento

ABSTRACT

Pycnidia-producing fungi induce a complex of diseases (collectively called Phomopsis rot) that involve leaf spots, fruit rots and stem and branch rots in eggplant (*Solanum melongena* L.). The fungus *Diaporthe vexans* has historically been reported to be the causal agent of these diseases. However, the etiology of these diseases was recently clarified under Brazilian conditions, being induced by a complex of fungal species. The hybrid 'Ciça' (released as resistant to the fungus *D. vexans*) and other cultivars were found susceptible to different members of this complex under field conditions. In this context, the present study sought to identify sources of effective genetic resistance against the two main causal agents of the disease (identified as *Boeremia* sp.1 and *Diaporthe griseae*) in a collection of eggplant germplasm. Leaf response to the two pathogens was evaluated by estimating disease severity from a set of standard area diagrams (SADs) with eight values ranging from 0.5 to 32% of injured leaf area. The experiment was conducted in a completely randomized design, in a double factorial scheme (61 cultivars x 2 isolates). Severity data were used to calculate the area under the disease progress curve (AACPD). The levels of symptom severity induced by the two pathogens were similar. The eggplant accessions CNPH 119, CNPH 116, CNPH 125, CNPH 121, CNPH 407, CNPH 006, CNPH 410, CNPH 218, CNPH 737, and Ciça displayed higher levels of resistance to both pathogens. In turn, the accessions CNPH 071, CNPH 057, CNPH 050 and CNPH 052 were more susceptible. Pathogen-specific reactions were also observed in the accession CNPH 095 that displayed a susceptible response to *Boeremia* sp. 1 (isolate PIC 73) with AACPD = 112.87 and accession CNPH 062 in response to inoculation with *D. griseae* (isolate PIC 117), with AAACPD = 42.58. Accessions CNPH 058, CNPH 098, CNPH 067, CNPH 066, CNPH 099, CNPH 056 and CNPH 112 displayed intermediate levels of resistance, regardless of the pathogen isolate. The identification of contrasting genetic materials in response to the two fungi will allow the development of segregating populations aiming to identify the genetic control of the high levels of resistance detected in some accessions. Our information will facilitate the development of cultivars with multiple resistance against the two pathogens.

Keywords: *Boeremia* sp. 1; *Diaporthe griseae*; Causal Agents; Breeding

INTRODUÇÃO

Os trabalhos de melhoramento genético de berinjela (*Solanum melongena* L.) tiveram início no Brasil na década de 1940 no Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) sob a liderança do Professor Marcílio de Souza Dias. Esses possibilitaram a consolidação comercial do híbrido F-100 na década de 1970 (BOITEUX et al. 2016). Os primeiros produtores de berinjela na década de 1960 utilizavam predominantemente cultivares de polinização aberta (IKUTA 1969). A introdução do híbrido F-100 na década de 1970 abriu espaço para o desenvolvimento posterior de outros híbridos, como Super F-100, F-1000, Nápoli e Ciça, iniciando o domínio dos híbridos no mercado brasileiro e diminuindo nitidamente a amplitude de variação sazonal de preço desta olerícola no mercado brasileiro (IKUTA 1969, ANTONINI et al., 2002).

Ainda na década de 1970, foi estabelecido o programa de melhoramento genético de berinjela do Instituto Agrônomo-IAC de Campinas (BOITEUX et al. 2016). Posteriormente, em 1984 com a transferência das linhagens de berinjela resistentes à antracnose da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro à Embrapa-Hortaliças, uma coleção de germoplasma de berinjela foi estabelecida e hoje conta com cerca de 280 acessos. Esses acessos vieram de 30 fontes diferentes (empresas privadas, universidades estrangeiras e nacionais, coleções de germoplasma, etc.) em mais de 15 países. Espécies de solanáceas representadas na coleção incluem *S. melongena*, *S. torvum*, *S. integrifolium*, *S. aethiopicum*, *S. toxicarium*, *S. abutiloides* e *S. muricatum*. A coleção contém vários acessos, que apresentam resistência a um ou mais variantes de alguns dos principais patógenos. Fontes de resistência (parcial ou completa) foram registradas para os seguintes patógenos: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium* spp., *Phomopsis* sp., *Ralstonia solanacearum* (*Pseudomonas solanacearum*) e *Verticillium dahliae* (RIBEIRO & REIFSCHNEIDER 1997, 1999).

A berinjela é uma cultura bastante rústica, sendo mais tolerante a doenças que outras olerícolas da família Solanaceae, como o tomate, a batata e o pimentão. Entretanto, algumas doenças podem ser limitantes ao seu cultivo, caso medidas adequadas de controle não sejam utilizadas (BOITEUX et al., 2010). A podridão-de-Phomopsis é uma das doenças foliares mais comuns, afetando também caules e frutos da berinjela (HARTER 1914; HOWARD & DESROSIERS 1941; ISLAM et al. 2010; PANDEY et al. 2002). A doença é transmitida por sementes e afeta toda a parte aérea da planta

(BOITEUX et al., 2010). No início do desenvolvimento da doença, os sintomas nas folhas se mostram como pequenas lesões (mais ou menos circulares) de cor amarelo-oliva, tornando-se posteriormente acastanhadas, com margem irregular e enegrecida (PAWAR & PATEL, 1957). Nos caules e ramos formam-se lesões alongadas, marrom-escuras, normalmente contendo picnídios. Quando ocorre o anelamento do caule, observa-se murcha e seca e a planta ou ramo pode tombar facilmente (EDGERTON & MORELAND, 1921; PAWAR & PATEL, 1957; SHERF & MACNAB, 1986). Os picnídios se desenvolvem prontamente nas lesões de caules jovens, mas raramente em caules mais velhos (HARTER, 1914). Nos frutos, os sintomas aparecem inicialmente como minúsculas lesões acinzentadas e profundas com um halo acastanhado, que posteriormente aumentam e coalescem, produzindo anéis concêntricos de zonas amarelas e marrons. Estas lesões aumentam de tamanho e formam grandes áreas podres nas quais os conidiomas muitas vezes se desenvolvem concentricamente, cobrindo a maior parte da superfície podre do fruto. A incidência e o desenvolvimento da doença são mais prevalentes em condições quentes e úmidas. A máxima germinação de esporos ocorre a 27°C com maior formação de picnídios entre 30°C e 35°C (PAWAR & PATEL, 1957).

Um extenso trabalho de melhoramento genético para resistência à Mancha de *Phomopsis* em berinjelas foi realizado com sucesso na Flórida, EUA (DECKER, 1946; 1947; 1948; 1949), Índia (KALDA et al., 1976; DATAR & ASHTAPUTRE, 1988; PANDEY et al., 2002), China (REN & ZHANG, 1993; LIU, 1998) e Brasil (REIFSCHNEIDER et al., 1993). Duas cultivares parcialmente resistentes a doença ('Florida Market' e 'Florida Beauty') foram lançadas no final da década de 1940 pelo programa de melhoramento genético da "Florida Agricultural Experiment Station" (DECKER, 1951). No início da década de 1990, no Brasil foi lançado o híbrido Ciça que confere resistência a *Diaporthe vexans* e *Colletotrichum* spp. (RIBEIRO & REIFSCHNEIDER, 1999). O desenvolvimento desse híbrido iniciou-se em 1986, na Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. Ele é um híbrido simples originário do cruzamento entre o acesso 'CNPH 006', resistente à antracnose, e 'CNPH 110', linhagem resistente a *Phomopsis*. A fonte de resistência à antracnose foi fornecida pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). A resistência tanto à antracnose quanto à Mancha de *Phomopsis* é monogênica dominante. Desta forma, a geração F1 obtida do cruzamento entre as linhagens comporta-se como resistente às duas doenças (REIFSCHNEIDER et al., 1993; EMBRAPA HORTALIÇAS, 2003).

A etiologia da doença tem sido atribuída ao fungo *Diaporthe vexans* (REIS et al., 2011). Entretanto, recentemente, observou-se que a doença é de etiologia complexa, envolvendo várias espécies de fungos (Coelomycetes), produtores de picnídios (capítulo 2 desta dissertação). Foram identificados fungos dos gêneros *Boeremia*, *Stagonosporopsis*, *Cumuliphoma* e outras espécies de *Diaporthe* associados aos sintomas da Podridão de Phomopsis.

Apesar de o híbrido Ciça e outros híbridos comerciais de berinjela plantados no Brasil serem considerados resistentes a *Diaporthe vexans*, em condições favoráveis à doença, tem-se observados severos ataques em plantios comerciais da cultura nas diversas regiões produtoras do Brasil. Isto pode ser explicado pelo fato, agora conhecido, de que a doença é de etiologia complexa. Por isso há a necessidade da busca de novas fontes de resistência aos novos patógenos causadores da doença.

A partir do esclarecimento da etiologia da doença (Capítulo 2), o presente trabalho buscou selecionar fontes de resistência de amplo espectro contra dois dos patógenos causadores da Mancha de Phomopsis (*Boeremia* sp. 1 e *Stagonosporopsis* sp) a partir do banco de germoplasma de berinjela da Embrapa Hortaliças, localizada em Brasília-DF.

MATERIAL E MÉTODOS

Acessos de berinjela avaliados e condições experimentais – Para avaliação de possíveis fontes de resistência a dois dos patógenos associados com a Mancha de Phomopsis, foram utilizados 61 genótipos/acessos de berinjela, esses mantidos no Banco de Germoplasma da Embrapa Hortaliças (**Tabela 1**). Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e em laboratório.

Preparo do inóculo – Neste ensaio, dois isolados foram selecionados para condução dos testes de seleção de fontes de resistência. O (PIC 73) identificado como *Boeremia* sp. 1 e (PIC 117) identificado como *Stagonosporopsis* sp. A seleção destes isolados foi feita baseada no agente causal e na região geográfica dos mesmos. Discos de micélio com 0,5 cm de diâmetro foram transferidos para o centro de placas de Petri, contendo meio ágar-água suplementadas com pequenos ramos de caule da alfalfa (*Medicago sativa*) esterilizados (UDAYANGA D. et al., 2014). Estas foram acondicionadas em câmara de crescimento – BOD sob temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12h de luz ultravioleta para promover a esporulação durante 10 dias. Após este período, foi

adicionado a cada placa, 10 mL de água destilada esterilizada e, com o auxílio de uma escova de cerdas macias, a superfície do meio foi raspada. A suspensão obtida foi filtrada através de uma dupla camada de gaze (MENEZES; SILVA-HANLIN, 1997). A concentração de conídios na suspensão foi estimada com auxílio de uma câmara de Neubauer. O inóculo foi preparado na concentração de 2×10^4 conídios/ml de água destilada esterilizada

Produção de mudas e inoculação – Mudas de 61 cultivares de berinjela foram produzidas em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, preenchidas com substrato (Bioplant Plus®). Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em casa de vegetação e submetidas a irrigações diárias, duas vezes ao dia. Com 30 dias, as mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 1 L, contendo solo esterilizado. Após o transplante, quando as mudas tinham quarenta dias de idade, a inoculação foi feita pulverizando-se a parte aérea das plantas até o início do escorrimento da suspensão. As plantas foram mantidas em câmara úmida por 48 horas e depois em casa de vegetação (**Figura 1**). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial duplo (61 cultivares x 2 isolados), com 3 repetições constituídas por um vaso com duas plantas. As avaliações foram realizadas 15 dias após a inoculação e se estenderam por 3 semanas. Através dos critérios estabelecidos por CORREIA, K.C. et al. (2017), onde um conjunto de diagramas de área padrão (SADs) com oito valores de severidade variando de 0,5 a 32% de LAD (área foliar doente) representadas em diagramas em preto e branco, estimou-se a área lesionada da mancha de Phomopsis nos acessos de berinjela (**Figura 2**). Ao final do experimento (35 dias após a inoculação), foram coletadas folhas das parcelas que continham os dois patógenos (Isol. PIC 73 e PIC 117) e essas foram levadas ao laboratório de Fitopatologia, para isolamento direto e confirmação de que os sintomas nas plantas estavam sendo causados pelos patógenos inoculados. Dessa forma, confirmou-se a presença dos fungos nos genótipos avaliados.

Avaliação – Os dados de severidade da doença foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL & MADDEN, 1990), que corresponde a integrações numéricas da proporção de área lesionada versus tempo. Para os dados da AACPD, foram testados, inicialmente, os pressupostos da análise de variância individual para cada isolado (PIC 73 e PIC 117). A princípio, foram realizados os testes de aditividade dos dados, normalidade dos erros e homogeneidade das

variâncias. Os dados de AACPD foram transformados em $\log(x)$ para atender os pressupostos da análise. Não havendo nenhuma restrição às pressuposições da análise de variância, essas foram realizadas de acordo com os respectivos modelos estatísticos. Posteriormente, foi realizada uma análise de variância conjunta, envolvendo os dois isolados. As análises foram feitas no programa R (pacote *easynova*). As médias dos tratamentos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

RESULTADOS

Na identificação e seleção de genótipos de berinjela (*Solanum melongena* L.) visando resistência à Mancha de Phomopsis, os resultados da análise de variância individual para os dados da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), para cada isolado dos patógenos associados a doença, evidenciaram, pelo teste F, diferenças significativas para a interação entre genótipos x isolados ($P < 0,05$), (**Tabela 2**). Quanto à análise de variância conjunta para os dados da AACPD, envolvendo os dois fatores (PIC 73 e PIC 117), constataram-se diferenças significativas ($P \leq 1$) para as fontes de variação acessos e interação acessos e isolados.

A AACPD da doença obtida em ambos os experimentos foi eficiente para discriminar os acessos quanto à sua resistência (**Tabela 3**). Independente dos isolados, foi observada diferença significativa entre os acessos avaliados. Para o isolado Pic 73 os acessos de berinjela foram agrupados em 4 níveis (classes) de resistência, sendo 41 acessos (59,01%) classificados como resistentes, 13 acessos (21,31%) classificados como moderadamente resistentes, seis acessos (9,83%) classificados como suscetíveis e um acesso (1,64%) altamente suscetível. Para o isolado Pic 117 os acessos foram agrupados em dois níveis de resistência, sendo 51 acessos (83,60%) considerados resistentes e dez (16,40%) suscetíveis.

Observou-se que os acessos que demonstraram ser mais resistentes aos patógenos associados com a Mancha de Phomopsis, causada por ambos os isolados, foram o CNPH 119, CNPH 116, CNPH 125, CNPH 121, CNPH 407, CNPH 006, CNPH 410, CNPH 218, CNPH 737 e Ciça, enquanto os mais suscetíveis foram os acessos CNPH 071, CNPH 057, CNPH 050 e CNPH 052. Analisando os isolados individualmente, o acesso CNPH 095 foi o mais suscetível para o PIC 73, alcançado maior valor de AACPD (112,87), enquanto o PIC 117 teve o acesso CNPH 062 como sendo o mais suscetível, com AAACPD (42,58). Os acessos CNPH 058, CNPH 098, CNPH 067, CNPH 066, CNPH

099, CNPH 056 e CNPH 112 comportaram-se como intermediários, independente do isolado dos patógenos associados à doença.

DISCUSSÃO

A cultura da berinjela (*Solanum melongena* L.) é suscetível a estresses bióticos e abióticos durante diferentes estágios de desenvolvimento. Entre os agentes bióticos, os patógenos fúngicos são os principais responsáveis pela diminuição do rendimento da colheita dos frutos (MAHADEVAKUMAR & JANARDHANA 2016). Os patógenos utilizados na seleção de fontes de resistência deste trabalho, fazem parte de um novo relato de um complexo de espécies causando sintomas da Mancha de *Phomopsis* em berinjela no Brasil (Capítulo 2 desta dissertação).

Vários métodos têm sido utilizados para o controle da Mancha de *Phomopsis*, incluindo rotação de culturas, tratamento com fungicidas e uso de variedades resistentes (KALDA et al., 1976; KALDA, 1977; MAHADEVAKUMAR & JANARDHANA 2016; NABI et al., 2022). Extensos programas de melhoramento genético para resistência à Mancha de *Phomopsis* em berinjela foram conduzidos na Flórida – EUA (DECKER, 1946; 1947; 1948; 1949), Índia (KALDA et al., 1976; DATAR & ASHTAPUTRE, 1988; PANDEY et al., 2002), China (REN & ZHANG, 1993; LIU, 1998) e Brasil (REIFSCHNEIDER et al., 1993). O que se sabe é que variedades que carregam genes únicos ou principais não apresentam resistência durável devido à rápida evolução dos patótipos virulentos. Sendo assim, esforços contínuos estão sendo feitos para encontrar novas fontes de resistência, visando o desenvolvimento de variedades resistentes (CRUTE, NORWOOD, & GORDON, 1985; SAHA et al., 2020, 2016; SIVASITHAMPARAM, BARBETTI, & LI, 2005; STUTHMAN, LEONARD, & MILLER-GARVIN, 2007; ZHANG, PELGROM, NIKS, VISSER, & JEUKEN, 2009).

A obtenção de um cultivar resistente não é tão simples quanto a sua utilização pelo agricultor. A princípio, são identificadas as fontes de resistência. Posteriormente, a resistência deve ser incorporada no cultivar de interesse. No final, devem ser traçadas estratégias para que essa resistência seja durável. Para obtenção do material resistente, deve-se primeiramente identificar fontes de resistência em acessos da cultura ou em acessos de espécies relacionadas, para em seguida tentar incorporar a característica de interesse ao cultivar. Na identificação das fontes de resistência, pode-se utilizar métodos

de inoculação artificiais em condições controladas ou realizar o experimento em áreas com histórico de infecção, e a avaliação da severidade e/ou incidência da doença. A seleção de acessos resistentes deve ser feita comparando-se com o comportamento da cultivar suscetível (LIMA et al., 2005).

Nos ensaios testados nesse estudo, foram observadas diferenças na frequência de plantas resistentes dentre os 61 acessos testados, indicando uma certa variabilidade genética no germoplasma avaliado para os dois isolados, PIC 73 (*Boeremia* sp. 1) e PIC 117 (*Diaporthe griceae*). Entretanto, apesar de não ter sido detectado nenhum acesso com reação de imunidade, a maioria deles apresentaram altos níveis de resistência foliar aos dois patógenos (67,22 % de acessos resistentes para *Boeremia* sp. e 83,60% de acessos resistentes para *D. griceae*).

Embora sejam duas espécies de fungo distintas e existirem diferenças genéticas em componentes de agressividade e virulência em cada isolado, não foram observados contrastes quanto a severidade entre *Boeremia* sp. 1 e *Diaporthe griceae*. Os acessos A34 - University of the Philippines (CNPH 071), Black Bell (CNPH 057), Híbrido Super F-100 (CNPH 050) e Híbrido Black Pride (CNPH 052) se comportaram como mais suscetíveis independente das espécies em estudo, justamente por resultarem em maiores valores médios de severidade. Padrões diferenciados foram notados para dois acessos em cada isolado. O acesso A273 - University of the Philippines (CNPH 095), que se comportou como mais suscetível a *Boeremis* sp. 1 (PIC 73) e o acesso Florida Market seleção Cook's- Dessert Seed Co. (CNPH 062) que se comportou como mais suscetível a *Diaporthe griceae* (PIC 117). Esses, ao longo das avaliações, obtiveram notas crescentes quanto ao percentual de área foliar doente (%), o que resultou nas altas médias de severidades para cada isolado testado.

Por sua vez, os acessos Baluroi Híbrido – Royal Sluis (CNPH 119), Solara Híbrido – Royal Sluis (CNPH 116), Ichiban Híbrido - Petoseed (CNPH 125), Lange Violette – Royal Sluis (CNPH 121), Nanton-Nasu, China (CNPH 407), Linhagem derivada da cv. Campinas da Agroflora (CNPH 006), Ceylon-France (CNPH 410), Berinjela Branca (CNPH 218) e EG 190 “SM 6 - 6” - Índia (CNPH 737) e o Híbrido que até então é resistente a *Phomopsis vexans* (Ciça), se comportaram como mais resistentes aos dois novos patógenos associados à Mancha de *Phomopsis* da berinjela.

A severidade da doença, ou a proporção da área de tecido do hospedeiro afetada pela doença (NUTTER et al. 1991), é uma variável importante a ser obtida na avaliação da intensidade da Mancha foliar de *Phomopsis* para estudos que envolvam decisões de

manejo da doença, avaliação de perda de rendimento e avaliação de germoplasmas resistentes. As estimativas visuais são o método mais comum para obter dados de severidade da doença (BOCK et al. 2010). A partir do esclarecimento da etiologia da doença (Capítulo 2), o presente trabalho buscou selecionar fontes de resistência de amplo espectro contra dois dos patógenos causadores da Mancha de Phomopsis no banco de germoplasma de berinjela da Embrapa Hortaliças, localizada em Brasília-DF. As análises envolvendo a interação acessos x isolados, de modo geral, não causaram variações exorbitantes quanto à severidade da Mancha de Phomopsis. Essa baixa variação pode estar relacionada à senescência foliar precoce e à desfolha severa causada pela doença (CONN, 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos que visem a redução no custo de produção para os agricultores são de suma importância, tendo em vista que tratando especificamente da berinjela, a mesma é uma hortaliça fruto que vem ganhando espaço dentre as hortaliças de maior importância econômica. A criação da resistência é a abordagem mais eficaz para superar os problemas de manejos como as doenças usando tecnologia avançada. Neste contexto, o presente estudo é a primeira tentativa de selecionar fontes de resistência contra os dois novos agentes causadores da Mancha de Phomopsis da berinjela no Brasil.

A identificação de materiais genéticos contrastantes em resposta aos dois fungos vai permitir o desenvolvimento de populações segregantes visando identificar o controle genético dos níveis elevados de resistência detectados em alguns acessos. A informação gerada aqui pode, portanto, facilitar o desenvolvimento de cultivares com resistência múltipla contra os dois patógenos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REIS, A. BOITEUX, L. S. LOPES, C. A. Doenças da berinjela no Brasil. **Circular Técnica**, Brasília, DF, Embrapa Hortaliças, 2011.

ANTONINI ACC, ROBLES WGR, TESSARIOLI NETO J, KLUGE RA (2002). Capacidade produtiva de cultivares de berinjela. **Horticultura Brasileira** 20: 646-648.

BOCK, C. H., POOLE, G., PARKER, P. E., & GOTTWALD, T. R. (2010). Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 29, 59–107.

BOITEUX L.S., LOPES, C.A., REIS A., REIFSCHNEIDER, F. J. B. Eggplant diseases: Ecology and management. In: PIMENTEL, D. (Org.). **Encyclopedia of Pest Management**. 1ed. New York-USA: CRC Press Taylor & Francis Group, 2010, v.1 p. 1-8.

BOITEUX LS, MENDONÇA LJ, FONSECA MEN, REIS A, VILELA NJ, GONZÁLEZ-ARCOS M & NASCIMENTO MN (2016). Melhoramento de berinjela. In Nick C and Borém A (eds) **Melhoramento de Hortaliças**. Editora UFV, Viçosa, p.15-192.

CAMPBELL, C. D.; MADDEN, L. V. Introduction to plant disease epidemiology. New York: J. Willey, 1990. 532 p.

CONN, K. (2006). Guia de doenças de berinjela de pimenta e berinjela. Madeira: Seminis Sementes Vegetais.

CORREIA, K.C., DE QUEIROZ, J.V.J., MARTINS, R.B. et al. Development and evaluation of a standard area diagram set for the severity of *phomopsis* leaf blight on eggplant. **Eur J Plant Pathol** 149, 269–276 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1184-y>.

CRUTE, I.R., NORWOOD, J.M., & GORDON, P.L. (1985). Resistance to phenylamide fungicides in lettuce and Brassica downy mildew. Proceeding of the Bordeaux Mixture Centenary Meeting. Fungicides for Crop Protection. **B.C.P.C. monograph**, 31, 311–314. France

DATAR VV, Ashtaputre JU, 1988. Studies on resistance to *Phomopsis* fruit rot in eggplant. **Indian Phytopathology**, 41(4):637-638

DECKER P, (1946). Annual Report of the Agriculture Experiment Station, Florida, for the year ending June 30, 1945.

DECKER P, (1947). Annual Report of the Agriculture Experiment Station, Florida, for the year ending June 30, 1946. No. 206. Florida, USA.

DECKER P, (1948). Annual Report of the Agriculture Experiment Station, Florida, for the year ending June 1947.

DECKER P, (1949). Annual Report of the Agriculture Experiment Station, Florida, for the year ending June 1948, 280.

DECKER, P. (1951). *Phomopsis*-blight resistant eggplants. *Ibid.* 41: 9.

EDGERTON CW, MORELAND CC, (1921). Eggplant blight. **Louisiana Agricultural Experiment Station Bulletin**, 178:1-44.

EMBRAPA HORTALIÇAS. **Ciça**: rende o ano inteiro. Brasília, DF: 2003. Equipe técnica: Francisco J. B. Reifschneider; Maria Cristina B. Madeira; Cláudia Silva da Costa Silva. Folder.

HARTER, L. L. (1914). Fruit-rot, leaf-spot, and stem-blight of the eggplant caused by *Phomopsis vexans*. **J. Agric. Res.** 2:331-338.

HOWARD, F. L., and DESROSIERS, R. 1941. Studies on the resistance of eggplant varieties to *Phomopsis* blight. **Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.** 39:337-340.

IKUTA H. (1969). Melhoramento e Genética da Berinjela. In Kerr WE (ed) **Melhoramento e Genética**. Melhoramentos, São Paulo, p.161-168.

ISLAM, M. M., ASADUZZAMAN, M., HOQUE, M. E., and Meah, M. B. 2010. Morphological characterization of isolates of *Phomopsis vexans* of Bangladesh. **J. Sci. Found.** 8:123-130. <https://doi.org/10.3329/jsf.v8i1->

KALDA TS, SWARUP V, CHOUDHURY B, (1976). Studies on resistance to *Phomopsis* blight in eggplant (*Solanum melongena* L.). **Vegetable Science**, 3(1):65-70

KALDA TS, SWARUP V AND CHOUDHURY B. (1977). Resistance to *Phomopsis* blight in eggplant. **Vegetable Sci. India.** 4(2): 90-101.

LIMA, G. S. A.; ASSUNÇÃO, I. P.; VALLE, L. A. C. (2005). Controle genético de doenças radiculares. IN: Micherref, S. J.; Andrade, D. E. G. T.; Menezes, M. Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. UFRPE: 247-278.

LIU XM et al., (1998). Studies on resistant inheritance of *Solanum melongena* L. to *Phomopsis* rot. **Journal of Jilin Agricultural University**, 20(4):1-7.

- MAHADEVAKUMAR S, JANARDHANA GR. (2016). Leaf blight and fruit rot disease of brinjal caused by *Diaporthe vexans* (*Phomopsis vexans*) in six agro-ecological regions of south West India. **Plant Pathol Quar.**;6:5–12. doi: 10.5943/ppq/6/1/2.
- MENEZES, M.; SILVA-HANLIN, D.M.W. (1997). **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, 106p.
- McKINNEY, H. H. (1923). Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 26 n. 5, p. 195-219.
- NABI Z, AHANGER FAH, BHAT KH et al (2022). Screening of available germplasm for resistance to *phomopsis* blight in Brinjal. **Pharma Innov J** 11:1295–1302.
- NUTTER, F. W., TENG, P. S., & SHOKES, F. M. (1991). Disease assessment terms and concepts. **Plant Disease**, 75, 1187–1188.
- PANDEY KK, PANDEY PK, KALLOO G, CHAURASIA SNS, (2002). *Phomopsis* blight in brinjal and sources of resistance. **Indian Phytopathology**, 55(4):507-509.
- PANDEY, K. K., PANDEY, P. K., KALLOO, G., and CHAURASIA, S. N. S. (2002). *Phomopsis* blight in brinjal and sources of resistance. **Indian Phytopathol.** 55:507-509.
- PAWAR VH, PATEL MK, (1957). *Phomopsis* blight and fruit rot of brinjal. **Indian Phytopathology**, v.10, p. 115-120.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B.; MADEIRA, M.C.B.; SILVA, C. “Ciça”: Novo híbrido de berinjela resistente à antracnose e à podridão-de-fomopsis. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.11, n.1, p.57, 1993.
- REIFSCHNEIDER, F. J. B.; RIBEIRO, C. S. da C.; PESSOA, H. B.S.V. e GOIS, M. R. B. (1997). Evaluation, Characterization And Availability Of Eggplant Germplasm At Embrapa,- Hortalias, BRAZIL. **Capsicum and Eggplant Newsletter**. 16: 110-111.
- REN XILUN, ZHANG HANQIN, (1993). Test on brinjal (*Solanum melongena* L.) resisting to *Phomopsis* rot. **Journal of Jilin Agricultural University**, 15(2):34-39, 102
- RIBEIRO CSC AND REIFSCHNEIDER FJB (1999). Avaliação do híbrido de berinjela 'Ciça' por produtores e técnicos. **Horticultura Brasileira** 17: 49-50.

SAHA, P., LYNGDOH, Y.A., & TOMAR, B.S. (2016). Screening of cultivated eggplant (*Solanum melongena* L.) and wild *Solanum* sp. against *Fusarium* wilt in India. **Indian Phytopathology**, 69, 729–733.

SAHA, P., GHOSHAL, C., RAY, S., SAHA, N.D., SRIVASTAVA, M., KALIA, P., & TOMAR, B.S. (2020). Genetic analysis of downy mildew resistance and identification of molecular markers linked to resistance gene Ppa 207 on chromosome 2 in cauliflower. **Euphytica**, 216, 183. doi:<https://doi.org/10.1007/s10681-020-02696-6>.

SHERF AF, MCNAB AA. (1986). Vegetable diseases and their control. Second edition. New York, USA: John Wiley and Sons, 728 pp.

UDAYANGA D, CASTLEBURY LA, ROSSMAN AY, HYDE KD. Species limits in *Diaporthe*: molecular re-assessment of *D. citri*, *D. cytospora*, *D. foeniculina* and *D. rudis*. **Persoonia**. 2014 Jun;32:83-101. doi: 10.3767/003158514X679984.

SIVASITHAMPARAM, K., BARBETTI, M.J., & LI, H. (2005). Recurring challenges from a necrotrophic fungal plant pathogen: A case study with *Leptosphaeria maculans* (causal agent of blackleg disease in brassicas) in Western Australia. **Annals of Botany**, 96, 363–377.

STUTHMAN, D.D., LEONARD, K.J., & MILLER-GARVIN, J. (2007). Breeding crops for durable resistance to disease. **Advances in Agronomy**, 95, 319–367.

ZHANG, N.W.W., PELGROM, K., NIKS, R.E., VISSER, R.G.F., & JEUKEN, M.J.W. (2009). Three combined quantitative trait loci from non host *Lactuca saligna* are sufficient to provide complete resistance of lettuce against *Bremialactucaae*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 22, 1160 – 1168. doi:<https://doi.org/10.1094/MPMI-22-9-1160>.



Fonte: Bruno Alves, 2023

Figura 1. Vista geral do ensaio de resistência de acessos de berinjela a isolados de *Boeremia* sp. e *Stagnosporopsis* sp.: Mudas com 10 dias após sementeira (A), plantas após 40 dias de nascimento (B), inoculação (C) e submissão a câmara úmida (D).

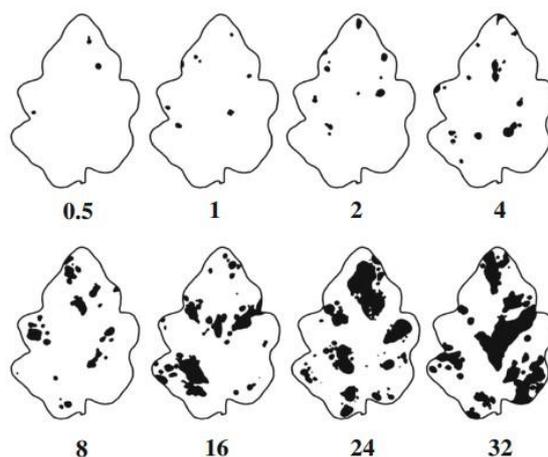


Figura 2. Conjunto de diagramas de área padrão para avaliação da severidade da queima foliar de *Phomopsis* em berinjela. Os números nos diagramas representam a porcentagem (%) de área foliar com sintomas necróticos da doença (CORREIA, K.C. et al, 2017).

Tabela 1. Acessos de berinjela (*Solanum Melongena* L.) utilizados no presente estudo.

| ACESSOS | Informações | Nº |
|-----------------|---|-----------|
| CNPH 006 | Linhagem derivada da cv. Campinas da Agroflora, parental feminino de Ciça | 1 |
| 044 | Cultivar Embu - Agroflora | 2 |
| 047 | Cultivar Santa Genebra- Agroflora | 3 |
| 048 | Híbrido Prelane - Vilmorin | 4 |
| 050 | Híbrido Super F-100 - ESALQ | 5 |
| 051 | Long Purple - Agrocerec | 6 |
| 052 | Híbrido Black Pride – Niagara Seeds | 7 |
| 053 | Black Beauty - | 8 |
| 056 | Blacknite - Petoseed | 9 |
| 057 | Black Bell | 10 |
| 058 | Híbrido 465 Classic – Harris Seeds | 11 |
| 059 | Berinjela branca | 12 |
| 060 | Meio Comprida Campineira Honjo | 13 |
| 062 | Florida Market seleção Cook´s- Dessert Seed Co. | 14 |
| 063 | Híbrido F-100 | 15 |
| 066 | P12-INRA | 16 |
| 067 | P18-INRA | 17 |
| 069 | A6 - University of the Philippines | 18 |
| 070 | A13 - University of the Philippines | 19 |
| 071 | A34 - University of the Philippines | 20 |
| 072 | A77 - University of the Philippines | 21 |
| 075 | A180 - University of the Philippines | 22 |
| 079 | A239 - University of the Philippines | 23 |
| 093 | A271 - University of the Philippines | 24 |
| 095 | A273 - University of the Philippines | 25 |
| 098 | A275 - University of the Philippines | 26 |
| 099 | A276 - University of the Philippines | 27 |

| | | |
|------------|---|----|
| 107 | DNESTROVEC WIR 768 - URSS | 28 |
| 108 | STOJKIJ 740 WIR 912 - URSS | 29 |
| 109 | UNIVERSAL 6 WIR 929 - URSS | 30 |
| 112 | Avan Híbrido - Vilmorin | 31 |
| 113 | Prélane Híbrido - Vilmorin | 32 |
| 114 | De Barbentane - Vilmorin | 33 |
| 116 | Solara Híbrido – Royal Sluis | 34 |
| 118 | Florida High Bush – Royal Sluis | 35 |
| 119 | Baluroi Híbrido – Royal Sluis | 36 |
| 121 | Lange Violette – Royal Sluis | 37 |
| 122 | Gator - Asgrow | 38 |
| 124 | Híbrido Misson Bell – Petoseed, USA | 39 |
| 125 | Ichiban Híbrido - Petoseed | 40 |
| 127 | P88/83, China | 41 |
| 128 | P 103/83 Pompano Market | 42 |
| 218 | Berinjela Branca | 43 |
| 407 | Nanton-Nasu, China | 44 |
| 408 | Dingaras Multiple Purple, Filipinas | 45 |
| 410 | Ceylon-France | 46 |
| 608 | Tamita - Japão | 47 |
| 609 | Kokutei - Japão | 48 |
| 612 | <i>Solanum melongena</i> L., Hortus Botanicus/Holanda | 49 |
| 613 | <i>Solanum melongena</i> L., Hortus Botanicus/Holanda | 50 |
| 624 | Diamante Negro híbrido - Hortec | 51 |
| 625 | Napoli híbrido - Agroflora | 52 |
| 684 | NA-S-33- Universidad Politecnica de Valencia - Espanha | 53 |
| 685 | NA-S-25- Universidad Politecnica de Valencia - Espanha | 54 |

| | | |
|-------------|--|----|
| 688 | MU-S-1- Universidad Politecnica de Valencia - Espanha | 55 |
| 735 | EG 197 “Local 1”- Índia | 56 |
| 736 | EG 191 “Arka Keshav”- Índia | 57 |
| 737 | EG 190 “SM 6 - 6” - Índia | 58 |
| 738 | EG 203 “Surya” - Índia | 59 |
| 791 | Linhagem derivada da cv. Florida Market da Topseed, parental masculino de Ciça | 60 |
| Ciça | Híbrido resistente a <i>Phomopsis</i> | 61 |

Tabela 2. Quadro de análise de variância das variáveis acessos de berinjela x isolado utilizados no presente estudo.

| FV | GL | QM |
|--------------------------|-----------|----------------------|
| Acessos | 60 | 0,0895* |
| Isolado | 1 | 0,0001 ^{ns} |
| Acessos x isolado | 60 | 0,0624* |
| Resíduo | 244 | 0,0136 |
| Total | 365 | |

Ns Não significativo, * Significância a 0.05, GL: grau de liberdade e QM: quadrado médio.

Tabela 3. Resultados médios da análise de interação acessos x isolados obtidos a partir de três avaliações da severidade dos patógenos *Boeremia* sp. (PIC 73) e *Stagnosporopsis* sp. (PIC 117), considerando 61 acessos de berinjela provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Hortaliças.

| ACESSOS | ISOLADOS | |
|-----------------|-----------|----------|
| | PIC 73 | PIC 117 |
| CNPH 095 | 112,87 Aa | 13,42 Bb |
| CNPH 053 | 64,17 Ab | 30,04 Ba |
| CNPH 071 | 30,63 Ac | 30,63 Aa |
| CNPH 057 | 27,42 Ac | 24,5 Aa |
| CNPH 051 | 40,83 Ab | 13,71 Bb |
| CNPH 070 | 44,63 Ab | 8,75 Bb |
| CNPH 050 | 19,25 Ac | 21,29 Aa |
| CNPH 608 | 10,5 Bd | 34,13 Aa |
| CNPH 069 | 39,96 Ab | 8,46 Bb |
| CNPH 072 | 30,04 Ab | 7,58 Bb |
| CNPH 052 | 17,5 Ac | 16,92 Aa |
| CNPH 058 | 21,58 Ac | 13,71 Ab |
| CNPH 098 | 16,92 Ac | 16,33 Ab |
| CNPH 067 | 21,88 Ac | 10,79 Ab |
| CNPH 062 | 4,67 Bd | 42,58 Aa |
| CNPH 066 | 14,58 Ac | 14,29 Ab |
| CNPH 099 | 17,79 Ac | 11,38 Ab |
| CNPH 056 | 15,46 Ac | 13,13 Ab |
| CNPH 079 | 34,71 Ab | 3,5 Bb |
| CNPH 625 | 8,75 Ad | 18,38 Aa |
| CNPH 093 | 18,38 Ac | 8,46 Bb |
| CNPH 112 | 15,17 Ac | 9,33 Ab |
| CNPH 609 | 13,13 Ad | 11,08 Ab |
| CNPH 688 | 6,13 Bd | 19,83 Aa |
| CNPH 075 | 21 Ac | 5,25 Bb |
| CNPH 059 | 10,5 Ad | 11,38 Ab |
| CNPH 048 | 10,21 Ad | 10,79 Ab |
| CNPH 128 | 9,92 Ad | 10,5 Aa |

| | | |
|------------------|----------|----------|
| CNPH Ciça | 8,17 Ad | 13,42 Ab |
| CNPH 044 | 7,58 Ad | 8,75 Ab |
| CNPH 624 | 8,75 Ad | 10,79 Ab |
| CNPH 060 | 7,29 Ad | 12,83 Ab |
| CNPH 684 | 10,79 Ad | 8,46 Ab |
| CNPH 612 | 7,58 Ad | 11,08 Ab |
| CNPH 124 | 6,13 Ad | 15,46 Ab |
| CNPH 108 | 5,54 Ad | 13,13 Ab |
| CNPH 063 | 6,42 Ad | 11,08 Ab |
| CNPH 107 | 4,38 Bd | 14 Ab |
| CNPH 114 | 10,5 Ad | 6,71 Ab |
| CNPH 109 | 8,46 Ad | 8,17 Ab |
| CNPH 122 | 5,83 Ad | 10,5 Ab |
| CNPH 685 | 4,38 Bd | 12,83 Ab |
| CNPH 113 | 6,13 Ad | 9,92 Ab |
| CNPH 613 | 4,96 Ad | 11,38 Ab |
| CNPH 735 | 4,08 Ad | 11,08 Ab |
| CNPH 118 | 4,67 Ad | 9,63 Ab |
| CNPH 408 | 10,5 Ad | 4,67 Ab |
| CNPH 047 | 5,54 Ad | 9,33 Ab |
| CNPH 736 | 8,46 Ad | 5,54 Ab |
| CNPH 738 | 4,96 Ad | 9,92 Ab |
| CNPH 119 | 6,42 Ad | 7,29 Ab |
| CNPH 116 | 5,83 Ad | 7,88 Ab |
| CNPH 125 | 6,71 Ad | 6,42 Ab |
| CNPH 121 | 5,83 Ad | 7,29 Ab |
| CNPH 127 | 1,75 Bd | 11,96 Ab |
| CNPH 407 | 2,33 Ad | 9,04 Ab |
| CNPH 791 | 1,75 Bd | 9,92 Ab |
| CNPH 006 | 4,08 Ad | 5,25 Ab |
| CNPH 410 | 5,54 Ad | 3,5 Ab |
| CNPH 218 | 3,79 Ad | 4,96 Ab |

| | | |
|-----------------|---------|---------|
| CNPH 737 | 2,04 Ad | 5,54 Ab |
|-----------------|---------|---------|

Médias seguidas de letras distintas minúsculas, na coluna, diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$); médias seguidas de letras distintas maiúsculas, na linha, diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

CONCLUSÕES GERAIS

CONCLUSÕES GERAIS

- A Podridão de Phomopsis no Brasil é causada por um complexo de espécies em 4 gêneros: *Boeremia* (*Boeremia* sp1 e *Boeremia* sp2), *Cumuliphoma* (*C. pneumoniae*), *Diaporthe* (*D. endophytica*, *D. griceae* e *D. vexans*) e *Stagonosporopsis* (*Stagonosporopsis* sp. e *S. pogostemon*).
- A região ITS, sozinha, não apresentou boa informatividade e suporte para distinguir a maioria das espécies identificadas nesse estudo, excessão ao gênero *Cumuliphoma*.
- As informações das sequências obtidas para as 4 regiões genômicas podem ser utilizadas para o desenvolvimento de primers específicos para cada gênero/ espécie deste complexo.
- A severidade da podridão de Phomopsis por meio dos quatro isolados testados nos frutos de berinjela (cv. Ciça) foi influenciada apenas pelos métodos de inoculação.
- O tratamento químico da doença que antes tinha como agente causal apenas *Diaporthe vexans*, torna-se inviável após o esclarecimento da etiologia da doença neste estudo.
- Nenhum acesso de berinjela demonstrou reação de imunidade, mas a maioria deles apresentou altos níveis de resistência foliar aos dois patógenos (67,22% de acessos resistentes para *Boeremia* sp. e 83,60% de acessos resistentes para *Stagonosporopsis* sp.).

- **Tabela S1.** Relação dos isolados e número de acesso do GenBank das sequências utilizadas como referência nas análises filogenéticas.

| Nome da espécie | Código | Código de acesso de | | | |
|---|----------------------------------|---------------------|----------|----------|----------|
| | | GenBank | | | |
| | | ITS | ACT | TEF1 | TUB2 |
| <i>Boeremia crinicola</i> | CBS 109.79 CBS 109.79; PD 77/747 | GU237737 | KY484558 | - | GU237489 |
| <i>Boeremia crinicola</i> | CBS 118.93; PD 70/195 | GU237758 | KY484559 | - | GU237490 |
| <i>Boeremia diversispora</i> | CBS 102.80 | GU237725 | EU880861 | KY484676 | GU237492 |
| <i>Boeremia diversispora</i> | CBS 101194 | GU237716 | EU880864 | KY484674 | GU237491 |
| <i>Boeremia coffeae</i> | CBS 109183T | GU237748 | KY484560 | KY484678 | GU237505 |
| <i>Boeremia exigua var exigua</i> | CBS 431.74T | FJ427001 | EU880854 | KY484687 | FJ427112 |
| <i>Boeremia exigua var exigua</i> | CBS 141361 | KY550229 | KY550225 | KY550228 | KY550226 |
| <i>Boeremia exigua</i> | CBS 101213 | GU237723 | EU880868 | KY484692 | GU237494 |
| <i>Boeremia exigua</i> | CBS 101197 | GU237718 | EU880866 | KY484690 | GU237493 |
| <i>Boeremia gilvescens</i> | CBS 101150 T | GU237715 | KY484562 | KY484694 | GU237495 |
| <i>Boeremia heteromorpha</i> | CBS 443.94T | GU237866 | EU880869 | KY484700 | GU237497 |
| <i>Boeremia heteromorpha</i> | CBS 101196 | GU237717 | EU880870 | KY484699 | GU237496 |
| <i>Boeremia linicola (Bo. exigua var. linicola)</i> | CBS 116.76R | GU237754 | EU880880 | KY484705 | GU237500 |
| <i>Boeremia linicola</i> | CBS 112.28 | MH854942 | EU880878 | KY484703 | KY484756 |
| <i>Boeremia populi</i> | CBS 100167T | GU237707 | EU880885 | KY484706 | GU237501 |
| <i>Boeremia populi</i> | CBS 100168; PD 94/138 | MN972784 | EU880886 | KY484707 | MN983801 |

| | | | | | |
|--|-------------------------|----------|----------|----------|----------|
| <i>Boeremia opuli</i> | CGMCC 3.18354; LC 8117T | KY742045 | - | - | KY742287 |
| <i>Boeremia opuli</i> | LC8118 | KY742046 | - | - | KY742288 |
| <i>Boeremia pseudolilacis</i> | CBS 101207T | GU237721 | EU880874 | KY484710 | GU237503 |
| <i>Boeremia pseudolilacis (As. lamiorum)</i> | CBS 423.67 | KT389487 | | - | KT389781 |
| <i>Boeremia exigua var. viburni</i> | CBS 100354 | GU237711 | EU880889 | - | GU237506 |
| <i>Boeremia exigua var. viburni</i> | CBS 101211; PD 93/838 | GU237722 | EU880891 | - | GU237507 |
| <i>Boeremia foveata</i> | CBS 109176 | GU237742 | EU880892 | KY484714 | GU237508 |
| <i>Boeremia foveata</i> | CBS 200.37T | KY484663 | - | KY484715 | MT005575 |
| <i>Boeremia hedericola</i> | CBS 367.91T | GU237842 | KY484568 | KY484718 | GU237511 |
| <i>Boeremia hedericola</i> | CBS 366.91 | GU237841 | KY484567 | KY484717 | GU237510 |
| <i>Boeremia lilacis</i> | CBS 569.79R | GU237892 | EU880875 | KY484721 | GU237498 |
| <i>Boeremia lilacis</i> | CBS 489.94 | MN972793 | EU880876 | KY484720 | MN983810 |
| <i>Boeremia lycopersici</i> | CBS 378.67R | GU237848 | EU880898 | KY484726 | GU237512 |
| <i>Boeremia lycopersici</i> | CBS 196.36 | MN972798 | EU880897 | KY484725 | MN983815 |
| <i>Boeremia noackiana</i> | CBS 100353R | GU237710 | EU880881 | KY484727 | GU237514 |
| <i>Boeremia noackiana</i> | CBS 101203 | GU237720 | EU880882 | KY484728 | GU237515 |
| <i>Boeremia sambuci-nigrae</i> | CBS 629.68T | GU237897 | KY484570 | KY484734 | GU237517 |
| <i>Boeremia sambuci-nigrae</i> | CBS 109170; PD 75/796 | GU237738 | EU880903 | KY484733 | GU237516 |
| <i>Boeremia strasseri</i> | CBS 126.93 | GU237773 | EU880904 | KY484735 | GU237518 |
| <i>Boeremia strasseri</i> | CBS 261.92; ATCC 24146; | GU237813 | EU880905 | KY484736 | GU237519 |

| | | | | | |
|------------------------------------|-------------------------------|----------|------------|----------|------------|
| <i>Boeremia telephii</i> | CBS 109175 | GU237741 | EU880906 | KY484737 | GU237520 |
| <i>Boeremia telephii</i> | CBS 76073 | GU237905 | EU880907 | | GU237521 |
| <i>Boeremia trachelospermi</i> | CGMCC 3.18222T | KY064028 | - | - | KY064051 |
| <i>Boeremia Galiicola</i> | MFLUCC 15-0771; MFLU 15-2279T | KX698037 | - | - | KX698030 |
| <i>Boeremia parva</i> | KNU-OL2 | LC557020 | LC557022 | LC557024 | LC557028 |
| <i>Boeremia parva</i> | KNU-NL4 | LC557019 | LC557021 | LC557023 | LC557027 |
| <i>Boeremia maritima</i> | MFLUCC 18-0411T | MN047082 | - | - | MN431491 |
| <i>Boeremia rhapontica</i> | CBS 113651 | - | KY484566.1 | - | KY484760.1 |
| <i>Boeremia exigua gilvescens)</i> | PD98/213 | - | KY484563.1 | - | KY484752.1 |
| <i>Boeremia wisteriae</i> | MFLUCC 18-1562 | - | - | - | OQ304687 |

●

| | | | | | |
|---------------------------------------|-----------------------|----------|---|---|----------|
| <i>Stagonosporopsis actaeae</i> | CBS 106.96T | GU237734 | - | - | GU237671 |
| <i>Stagonosporopsis actaeae</i> | CBS 105.96; PD 74/230 | GU237733 | - | - | GU237670 |
| <i>Stagonosporopsis ailanthicola</i> | CBS140554 | MN973462 | - | - | MT005561 |
| <i>Stagonosporopsis ailanthicola</i> | MFLUCC 16-1439T | KY100872 | - | - | KY100878 |
| <i>Stagonosporopsis ajacis</i> | CBS 177.93T | GU237791 | - | - | GU237673 |
| <i>Stagonosporopsis ajacis</i> | CBS 176.93; PD 86/547 | GU237790 | - | - | GU237672 |
| <i>Stagonosporopsis andigena</i> | CBS 101.80 R | GU237714 | - | - | GU237674 |
| <i>Stagonosporopsis andigena</i> | CBS 285.81 | MN973429 | - | - | MN984052 |
| <i>Stagonosporopsis artemisiicola</i> | CBS 102636R | GU237728 | - | - | GU237676 |

| | | | | | |
|---|-----------------------------------|----------|---|----------|----------|
| <i>Stagonosporopsis astragali</i> | CBS 178.25R | GU237792 | - | - | GU237677 |
| <i>Stagonosporopsis bomiensis</i> | CGMCC 3.18366T | KY742123 | - | - | KY742365 |
| <i>Stagonosporopsis bomiensis</i> | LC 8168 | KY742124 | - | - | KY742366 |
| <i>Stagonosporopsis bungeiana</i> | YMF1.05092T | MH257419 | - | - | MH422976 |
| <i>Stagonosporopsis caricae</i> | CBS 248.90 | GU237807 | - | - | GU237680 |
| <i>Stagonosporopsis caricae</i> | CBS 282.76 | GU237821 | - | - | GU237682 |
| <i>Stagonosporopsis chrysanthemi</i> | CBS 500.63 | GU237871 | - | JQ897537 | GU237695 |
| <i>Stagonosporopsis chrysanthemi</i> | CBS 137.96 | GU237783 | - | JQ897525 | GU237696 |
| <i>Sagonosporopsis citrulli</i> | FLAS-F-58996; C5-5T | KJ855546 | - | - | KJ855602 |
| <i>Sagonosporopsis citrulli</i> | CBS 214.65 | MN973454 | - | - | MT005553 |
| <i>Stagonosporopsis crystalliniformis</i> | CBS 713.85T | GU237903 | - | - | GU237683 |
| <i>Stagonosporopsis crystalliniformis</i> | CBS 771.85; IMI 386091; PD 85/772 | GU237906 | - | - | GU237684 |
| <i>Stagonosporopsis Cucumeris</i> | CBS 386.65T | MN973455 | - | - | MT005554 |
| <i>Stagonosporopsis Cucumeris</i> | OM-rot-02 | OP788059 | - | - | OP810569 |
| <i>Stagonosporopsis cucurbitacearum</i> | CBS 133.96 | GU237780 | - | - | GU237686 |
| <i>Stagonosporopsis cucurbitacearum</i> | CBS 109171; PD 91/310R | GU237922 | - | - | GU237685 |
| <i>Stagonosporopsis dennisii</i> | CBS 631.68T | GU237899 | - | - | GU237687 |
| <i>Stagonosporopsis dennisii</i> | CBS 135.96; PD 95/4756 | GU237782 | - | - | GU237688 |
| <i>Stagonosporopsis dorenboschii</i> | CBS 426.90T | GU237862 | - | - | GU237690 |
| <i>Stagonosporopsis dorenboschii</i> | CBS 320.90; PD 86/932 | GU237830 | - | - | GU237689 |

| | | | | | |
|--|-------------------------|----------|---|----------|----------|
| <i>Stagonosporopsis helianthi</i> | CBS 200.87T | KT389545 | - | - | KT389848 |
| <i>Stagonosporopsis helianthi</i> | CBS 155.90 | MN973457 | - | - | MT005556 |
| <i>Stagonosporopsis heliopsisidis</i> | CBS 109182R | GU237747 | - | - | GU237691 |
| <i>Stagonosporopsis hortensis</i> | CBS 104.42 | GU237730 | - | - | GU237703 |
| <i>Stagonosporopsis hortensis</i> | CBS 572.85; PD 79/269R | GU237893 | - | - | GU237704 |
| <i>Stagonosporopsis inoxydabilis</i> | CBS 425.90T | GU237861 | - | JQ897527 | GU237693 |
| <i>Stagonosporopsis inoxydabilis</i> | MF-9.239 | MH651539 | - | - | MH725216 |
| <i>Stagonosporopsis loticola</i> | CBS 562.81T | GU237890 | - | - | GU237697 |
| <i>Stagonosporopsis loticola</i> | CBS 563.81; PDDCC 6799 | MN973465 | - | - | MT005564 |
| <i>Stagonosporopsis lupini</i> | CBS 101494T | GU237724 | - | - | GU237699 |
| <i>Stagonosporopsis lupini</i> | CBS 375.84; PD 80/1250 | GU237844 | - | - | GU237700 |
| <i>Stagonosporopsis oculo-hominis</i> | CBS 634.92T | GU237901 | - | - | GU237701 |
| <i>Stagonosporopsis malaiana</i> | YMF1.05087 | MH257421 | - | - | MH423017 |
| <i>Stagonosporopsis nemophilae</i> | CBS 715.85T | MN973460 | - | - | MT005559 |
| <i>Stagonosporopsis nemophilae</i> | CBS 249.38 | MN973461 | - | - | MT005560 |
| <i>Stagonosporopsis papillata</i> | CGMCC 3.18367; LC 8169T | KY742125 | - | - | KY742367 |
| <i>Stagonosporopsis papillata</i> | LC 8171 | KY742127 | - | - | KY742369 |
| <i>Stagonosporopsis pini</i> * | MFLUCC 18-1549T | MK347800 | - | - | MK412886 |
| <i>Stagonosporopsis pedicularis-striatae</i> | ZHKUCC 22-0167 | OQ275212 | - | - | OQ336263 |
| <i>Stagonosporopsis pogostemonis</i> | ZHKUCC 21-0001 | MZ156571 | - | - | MZ203132 |

| | | | | | |
|--|------------------------|-----------|----------|----------|----------|
| <i>Stagonosporopsis pogostemonis</i> | CMY6-3 | OQ22189 | - | - | |
| <i>Stagonosporopsis pogostemonis</i> | TYJ-SP2 | | - | - | |
| <i>Stagonosporopsis pogostemonis</i> | 8 | | - | - | |
| <i>Stagonosporopsis rudbeckiae</i> | CBS 109180R | GU237745 | - | - | GU237702 |
| <i>Stagonosporopsis rhizophila</i> | CGMCC 3.19852 | MG833824 | - | - | MN422099 |
| <i>Stagonosporopsis sambucella</i> | CBS 130003T | MN973459 | - | - | MT005558 |
| <i>Stagonosporopsis stuijvenbergii</i> | CBS 144953; JW 132011T | MN823449 | - | - | MN824623 |
| <i>Stagonosporopsis stuijvenbergii</i> | JW 33021 | MN823450 | - | - | MN824624 |
| <i>Stagonosporopsis tanacetii</i> | CBS 131484T | NR_111724 | - | JQ897536 | JQ897496 |
| <i>Stagonosporopsis tanacetii</i> | CBS 131485 | JQ897487 | - | JQ897520 | JQ897502 |
| <i>Stagonosporopsis trachelii</i> | CBS 379.91 | GU237850 | - | - | GU237678 |
| <i>Stagonosporopsis valerianellae</i> | CBS 329.67T | GU237832 | - | - | GU237706 |
| <i>Stagonosporopsis valerianellae</i> | CBS 273.92; PD 82/43 | GU237819 | - | - | GU237705 |
| <i>Stagonosporopsis weymaniae</i> | CBS 144959T | MN823453 | - | - | MN824627 |
| <i>Stagonosporopsis vannaccii</i> | PHB11 | MW832506 | - | MW853804 | MW853809 |
| <i>Stagonosporopsis vannaccii</i> | PHB5 | MW832504 | - | MW853802 | MW853807 |
| <i>Cumuliphoma indica</i> | CBS 991.95; FMR 15331 | MN973546 | FJ426934 | - | MT005649 |
| <i>Cumuliphoma Indica</i> | CBS 654.77; FMR 15341T | FJ427043 | FJ426933 | - | FJ427153 |
| <i>Cumuliphoma omnivirens</i> | CBS 341.86; FMR 14915T | FJ427042 | FJ426932 | - | FJ427152 |

| | | | | | |
|-----------------------------------|---|----------|----------|----------|----------|
| <i>Cumuliphoma Pneumoniae</i> | CBS 142454; UTHSC: DI16-249; FMR 13739T | LT592925 | - | - | LT592994 |
| <i>Cumuliphoma Pneumoniae</i> | CBS 123397 | MN973545 | FJ426937 | - | MT005648 |
| <i>Cumuliphoma lijiangensis</i> | YMF1.05096T | MH257400 | FJ426934 | - | MH423002 |
| <i>Diaporthe subordinaria</i> | CBS 464.90 T | KC343214 | - | KC343940 | KC344182 |
| <i>Diaporthe schoeni</i> | MFLU 15-1279 T | KY964226 | - | KY964182 | KY964109 |
| <i>Diaporthe stewartii</i> | CBS193.36T | FJ889448 | - | GQ250324 | JX275421 |
| <i>Diaporthe cucurbitae</i> | CBS136.25 | KC343031 | - | KC343757 | KC343999 |
| <i>Diaporthe gulyae</i> | MF-Ha 17-042T | MK024252 | - | MK039420 | MK033488 |
| <i>Diaporthe angelicae</i> | CBS 111592T | KC343027 | - | KC343753 | KC343995 |
| <i>Diaporthe cichorii</i> | MFLUCC 17-1023T | KY964220 | - | KY964176 | KY964104 |
| <i>Diaporthe arctii</i> | CBS 139280 T | KJ590736 | - | KJ590776 | KJ610891 |
| <i>Diaporthe neoarctii</i> | CBS 109490T | KC343145 | - | KC343871 | KC344113 |
| <i>Diaporthe pseudolongicolla</i> | PL42 T | JQ697843 | - | JQ697856 | |
| <i>Diaporthe cuppatea</i> | CBS 117499 T | KC343057 | - | KC343783 | KC344025 |
| <i>Diaporthe lusitanicae</i> | CBS 123212T | KC343136 | - | KC343862 | KC344104 |
| <i>Diaporthe infecunda</i> | CBS 133812T | KC343126 | - | KC343852 | KC344094 |
| <i>Diaporthe infertilis</i> | CBS 230.52T | KC343052 | - | KC343778 | KC344020 |

| | | | | | |
|---------------------------------|------------------|----------|---|----------|----------|
| <i>Diaporthe unshiuensis</i> | CGMCC3.17569T | KJ490587 | - | KJ490466 | KJ490408 |
| <i>Diaporthe helianthi</i> | CBS 592.81T | KC343115 | - | KC343841 | KC344083 |
| <i>Diaporthe ovalispora</i> | CGMCC 3.17256 T | KJ490628 | - | KJ490507 | KJ490449 |
| <i>Diaporthe endophytica</i> | CBS 133811 T | KJ490608 | - | KJ490487 | KJ490429 |
| <i>Diaporthe endophytica</i> | KNU JJ 1809 | LC567429 | - | LC567434 | LC567435 |
| <i>Diaporthe vexans</i> | CBS 127.14 | KC343229 | - | KC343955 | KC344197 |
| <i>Diaporthe vexans</i> | FAU597 | KJ590734 | - | KJ590774 | KJ610889 |
| <i>Diaporthe hordei</i> | CBS 481.92 T | KC343120 | - | KC343846 | KC344088 |
| <i>Diaporthe megalospora</i> | CBS 143.27T | KC343140 | - | KC343866 | KC344108 |
| <i>Diaporthe absenteum</i> | LC3429 T | KP267897 | - | KP267971 | KP293477 |
| <i>Diaporthe acericola</i> | MFLUCC 17-0956 T | KY964224 | - | KY964180 | KY964074 |
| <i>Diaporthe actinidiae</i> | ICMP 13683 T | KC145886 | - | KC145941 | |
| <i>Diaporthe alangii</i> | CFCC 52556 T | MH121491 | - | MH121533 | MH121573 |
| <i>Diaporthe amaranthophila</i> | MAFF 246900 | LC459575 | - | LC459577 | LC459579 |
| <i>Diaporthe ambigua</i> | CBS 114015 T | KC343010 | - | KC343736 | KC343978 |
| <i>Diaporthe batatas</i> | CBS 122.21 T | KC343040 | - | KC343766 | KC344008 |
| <i>Diaporthe beilharziae</i> | BRIP 54792 T | JX862529 | - | JX862535 | KF170921 |
| <i>Diaporthe biguttulata</i> | ZJUD47 T | KJ490582 | - | KJ490461 | KJ490403 |

| | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|----------|---|----------|----------|
| <i>Diaporthe brasiliensis</i> | CBS 133183 T | KC343042 | - | KC343768 | KC344010 |
| <i>Diaporthe caatingaensis</i> | CBS 141542 T | KY085927 | - | KY115603 | KY115600 |
| <i>Diaporthe griceae</i> | strain BRIP 67014aT | OM918694 | - | OM960603 | OM960621 |
| <i>Diaporthe sojae</i> | FAU635 T | KJ590719 | - | KJ590762 | KJ610875 |
| <i>Diaporthe vexans</i> | MAFF:150147 | LC769633 | - | LC769122 | LC769525 |

-
-
-