

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 11/02/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL E MOLECULAR DE
ISOLADOS DE *COLLETOTRICHUM* spp. PROVENIENTES
DE DIFERENTES FRUTAS TROPICAIS**

Fernanda Dias Pereira
Engenheira Agrônoma

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL E MOLECULAR DE
ISOLADOS DE *COLLETOTRICHUM* spp. PROVENIENTES
DE DIFERENTES FRUTAS TROPICAIS**

Fernanda Dias Pereira

Orientador: Prof. Dr. Antonio de Goes

Co-orientadora: Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

2016

P436c Pereira, Fernanda Dias
Caracterização morfo cultural e molecular de isolados de
Colletotrichum spp. provenientes de diferentes frutas tropicais /
Fernanda Dias Pereira. – – Jaboticabal, 2016
xi, 119 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016
Orientadora: Antonio de Goes
Banca examinadora: Margarete Camargo, Viviani Vieira Marques,
Ronai Ferreira Ramos, Luciana Rossini Pinto
Bibliografia

1. *Colletotrichum* spp. 2. *Mangifera indica*. 3. *Musa* spp. 4. *Persea
americana*. 5. *Psidium guajava*. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.4:634.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

FERNANDA DIAS PEREIRA – Nascida em Jaboticabal, SP, no dia oito de maio de 1985. Filha de José Roberto Dias Pereira e Tania Regina Pagliuso Dias Pereira. Iniciou o curso de Engenharia Agrônômica em 2005, na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal (FCAV/UNESP), que foi concluído em dezembro de 2009. Foi bolsista de iniciação científica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Em março de 2010, ingressou no curso de Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), sendo bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal. Recebeu o título de Mestre em fevereiro de 2012. Em março de 2012 ingressou no curso de Doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Jaboticabal, sendo bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

“Por vezes, sentimos que aquilo que fazemos não é,
senão, uma gota de água no mar. Mas o mar seria
menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

Aos meus pais, *José Roberto* e *Tania Regina*, que acompanharam meu crescimento e trabalharam dobrado, sacrificando seus sonhos em favor dos meus, e aos meus irmãos, *Roberta* e *Júnior*, pela constante torcida pelo meu sucesso.

A minha avó, *Lindaura Gonçalves Pagliuso* (*in memoriam*), que iniciou esta jornada comigo, mas infelizmente não pode estar presente neste momento tão feliz da minha vida.

“Vó, você permanecerá eternamente em nossas lembranças e, principalmente, em nossos corações. Que Deus a tenha na sua infinita glória! ”

Ofereço

Ao meu amado filho, *Henrique*, que me faz feliz simplesmente por existir, e ao meu esposo, *Diego*, que tanto amo, por todo carinho, dedicação e paciência ao longo desses quatro anos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por tornar este sonho realidade.

Ao Prof. Dr. Antonio de Goes por incentivar-me desde a época da graduação, acreditando no meu potencial. Obrigada pela paciência, conselhos acadêmicos, pessoais e profissionais.

À Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério, pela co-orientação, amizade, ensinamentos e disponibilidade.

À professora Dra. Rita de Cássia Panizzi pelo aprendizado, dedicação e exemplo de profissional e ser humano.

À professora Dra. Margarete Camargo pelos conselhos, esclarecimentos e amizade.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro na forma de bolsa de estudo e pelo incentivo à pesquisa.

Ao CNPq pela bolsa de estudo concedida.

À FCAV/UNESP (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), pela oportunidade.

Às técnicas de Laboratório Rosângela, Lúcia e Eliane por toda ajuda neste trabalho, pela convivência, aprendizado e carinho durante esta etapa da minha vida.

Aos técnicos, Wanderley e Luiz, pela ajuda e amizade durante a execução deste trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Fitopatologia: Olavo, Guilherme, Matheus, Larissa, Marcos, Ivan, Ana Dulce e Edwin, e em especial Laís, João, Amanda, Juliana, Marina e Eduardo, pelos felizes anos de convivência, amizade, companheirismo e infinita ajuda. Obrigada por estarem comigo nesta caminhada!

Às amigas do Laboratório de Biologia, Isis e Camila, pela amizade, risadas e o “cafezinho” especial de todas as tardes.

À minha querida amiga, Ana Rita, por toda ajuda, dedicação e companheirismo durante esses dez anos convivência. Minha amiga de todos os momentos!

Aos meus pais, minha eterna gratidão pelos valores que me foram passados, pelo carinho, dedicação e amor incondicional em todas as etapas da minha vida. E, sem dúvida nenhuma, a participação de vocês foi decisiva em cada etapa dessa caminhada! “Amo muito vocês!”

Aos meus irmãos, Junior e Roberta, por me proporcionarem dias de felicidade verdadeira, pura e sincera. Por me ensinarem que o verdadeiro prazer da vida é ter pessoas ao nosso redor para fazer “simplesmente nada”, e que “fazer nada” com quem se ama, admira e respeita, é um dos melhores programas que se pode ter. “Tata e Jú, não importa onde estejamos, o importante é que estejamos sempre juntos!”

Aos meus amores, Henrique e Miguel, que surgiram durante essa caminhada, e transformaram a minha vida. Amo vocês!

Ao meu esposo, Diego, por fazer parte da minha vida. Te amo!

Ao meu sogro, Cícero, minha sogra, Célia, e cunhado, Igor, por todo apoio e carinho.

À minha querida tia Regina, que esteve sempre presente em minha vida, apoiando e torcendo pelo meu sucesso.

A todos os meus familiares, em especial Andréa, Adriana, Eliana, Estela, Vivian, José Marcelo, João Pedro, Matheus, Lorena, Grazielle, Marcelo, Fernanda, Gabriel, José Carlos e Jeová, que de perto ou de longe contribuíram de alguma forma para concretização de mais este sonho.

A todos aqueles que de uma maneira ou outra, prestaram o seu apoio e incentivo para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	xi
CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1.1.INTRODUÇÃO.....	1
1.2. REVISÃO DE LITERATURA	2
1.2.1. Aspectos gerais da antracnose.....	2
1.2.2. O gênero <i>Colletotrichum</i>	5
1.2.3. Análise filogenética.....	8
1.2.3.1. Máxima Parcimônia.....	9
1.2.3.2. Máxima verossimilhança.....	9
1.2.3.3. Inferência Bayesiana.....	10
1.2.3.4. Análise de Bootstrap.....	11
REFERÊNCIAS.....	12
CAPITULO 2 - Caracterização morfocultural e molecular de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. provenientes de frutos de abacateiros com sintomas de antracnose.....	18
2.1. INTRODUÇÃO.....	19
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.2.1. Origem, cultivo e preservação dos isolados <i>Colletotrichum</i> spp.	21
2.2.2. Caracterização morfocultural.....	23
2.2.3. Teste de patogenicidade cruzada.....	24
2.2.4. Análise dos dados morfocultural e patogenicidade cruzada	24
2.2.5. Caracterização molecular	25
2.2.5.1 Extração de DNA.....	25
2.2.5.2. Amplificação e sequenciamento das regiões ITS, actina parcial, glutamina sintase parcial, calmodulina parcial, β -tubulina parcial e gliceraldeído3-fosfato desidrogenase parcial.....	27
2.2.5.3. Análise Filogenética.....	29
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
2.3.1. Caracterização morfocultural.....	30
2.3.2. Patogenicidade cruzada.....	32

2.3.3. Análise de agrupamento das características morfológicas e teste de patogenicidade.....	34
2.3.4. Caracterização molecular.....	37
2.4. CONCLUSÕES.....	40
REFERÊNCIAS.....	41
CAPÍTULO 3 - Caracterização morfológica e molecular de <i>Colletotrichum</i> spp. provenientes de bananas 'prata' e 'nanica' com sintomas de antracnose.....	48
3.1. INTRODUÇÃO.....	49
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	51
3.2.1. Origem, cultivo e preservação dos isolados <i>Colletotrichum</i> spp.	51
3.2.2. Caracterização morfológica.....	53
3.2.3. Teste de patogenicidade cruzada.....	53
3.2.4. Análise dos dados morfológica e patogenicidade cruzada	53
3.2.5. Caracterização molecular	53
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
3.3.1. Caracterização morfológica.....	54
3.3.2. Patogenicidade cruzada.....	57
3.3.3. Análise de agrupamento das características morfológicas e teste de patogenicidade.....	58
3.3.4. Caracterização molecular.....	61
3.4. CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS.....	65
CAPÍTULO 4 – Caracterização morfológica e molecular de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. provenientes de frutos de goiabeira com sintomas de antracnose	70
4.1. INTRODUÇÃO.....	71
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	73
4.2.1. Origem, cultivo e preservação dos isolados <i>Colletotrichum</i> spp.....	73
4.2.2. Caracterização morfológica.....	75
4.2.3. Teste de patogenicidade cruzada.....	75
4.2.4. Análise dos dados morfológica e patogenicidade cruzada	75
4.2.5. Caracterização molecular	75

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
4.3.1. Caracterização morfocultural.....	76
4.3.2. Patogenicidade cruzada.....	78
4.3.3. Análise de agrupamento das características morfoculturais e teste de patogenicidade.....	80
4.3.4. Caracterização molecular.....	83
4.4. CONCLUSÕES.....	86
REFERÊNCIAS.....	87
CAPÍTULO 5 – Caracterização morfocultural e molecular de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp. provenientes de frutos de mangueira com sintomas de antracnose.....	93
5.1. INTRODUÇÃO.....	94
5.2. MATERIAL E MÉTODOS	97
5.2.1. Origem, cultivo e preservação dos isolados <i>Colletotrichum</i> spp.	97
5.2.2. Caracterização morfocultural.....	99
5.2.3. Teste de patogenicidade cruzada.....	99
5.2.4. Análise dos dados morfocultural e patogenicidade cruzada	99
5.2.5. Caracterização molecular	99
5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	100
5.3.1. Caracterização morfocultural.....	100
5.3.2. Patogenicidade cruzada.....	103
5.3.3. Análise de agrupamento das características morfoculturais e teste de patogenicidade.....	104
5.3.4. Caracterização molecular.....	107
5.4. CONCLUSÕES.....	111
REFERÊNCIAS.....	112
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	118

CARACTERIZAÇÃO MORFOCULTURAL E MOLECULAR DE ISOLADOS DE *COLLETOTRICHUM* spp. PROVENIENTES DE DIFERENTES FRUTAS TROPICAIS

RESUMO – A produção média de fruta por ano no mundo é aproximadamente de 800 milhões de toneladas. O Brasil é o terceiro colocado no ranking das principais nações produtoras, estando atrás apenas da China e da Índia, respectivamente. Desta forma, verifica-se que o Brasil possui um grande potencial a ser explorado no contexto das exportações. Para isso, no entanto, há necessidade de investimentos visando minimizar os danos pré e pós-colheita, que representam um fator limitante, tanto na produção, como nas exportações. Entre os danos pós-colheita incluem-se os de natureza fúngica, com destaque ao complexo antracnose, causada por fungos do gênero *Colletotrichum*. O presente trabalho teve como objetivo identificar taxonomicamente as espécies de *Colletotrichum* associadas a frutos de abacate, banana, goiaba e manga, bem como estabelecer relações filogenéticas entre as espécies identificadas. Duzentos isolados de *Colletotrichum* spp. de frutos de abacateiro, bananeira, goiabeira e mangueiras com sintomas de antracnose foram submetidos a análises morfofocultural, molecular e teste de patogenicidade cruzada. Embora mediante análises morfofoculturais tenham identificado diversidade entre os isolados de *Colletotrichum* avaliados, essas foram insuficientes para distinguir espécies do gênero. Os isolados de *Colletotrichum* spp. encontrados em lesões de antracnose em frutos de abacate, banana, goiaba e manga não apresentaram especificidade fisiológica. *Colletotrichum musae* e *C. siamense* estão associadas aos sintomas de antracnose em abacate no Brasil. O agente causal da antracnose em banana não é constituído por um único grupo monofilético, *C. musae*, contando-se com espécies adicionais de patógenos. Além de *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*, *C. siamense* e *C. musae* são também patógenos responsáveis por sintomas de antracnose em frutos de goiaba. A antracnose em frutas de mangueira, no estado de São Paulo, está associada às espécies *C. asianum* e *C. dianesii*.

Palavras-chave: *Colletotrichum* spp., *Mangifera indica*, *Musa* spp., *Persea americana*, *Psidium guajava*

MORPHOCULTURAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *COLLETOTRICHUM* spp. ISOLATES FROM OF VARIOUS TROPICAL FRUITS

ABSTRACT – The average production of fruit per year worldwide is about 800 million tons. The Brazil is third in ranking of the major producing nations. It is behind only to China and India, respectively. It ascertain that Brazil has great potential to be explored in the context of exports. Among the post-harvest damage includes up the fungal nature, highlighting the complex anthracnose, caused by fungi of the genus *Colletotrichum* and present in all the producing countries of fruit. Among the post-harvest damage includes up the fungal nature, highlighting the complex anthracnose, caused by fungi of the genus *Colletotrichum* and present in all the producing countries of fruit. This study aimed to identify the taxonomic species of *Colletotrichum* associated with avocado fruit, banana, guava and mango, as well as to establish phylogenetic relationships among the species identified. Two hundred isolates of *Colletotrichum* spp. fruit avocado, banana, guava and mango trees, underwent Morphocultural analysis, molecular and pathogenicity. According to the results, cultural and morphological characterization still enabling the detection of phenotypic diversity among isolates, do not provide reliable results for identification of species of *Colletotrichum* evaluated. The *Colletotrichum* spp. found in avocado fruit, banana, guava and mango showed no physiological specificity. *C. musae* and *C. siamense* are associated with anthracnose symptoms on avocado in Brazil. The causal agent of anthracnose in banana is not composed of a single monophyletic group of *C. musae*, suggesting the existence of more than one species as a pathogen of this crop. In addition to *C. acutatum* and *C. gloeosporioides*, *C. siamanese* and *C. musae* are also pathogen responsible for anthracnose symptoms in fruits of guava. The anthracnose in hose fruits in the state of São Paulo, is associated with the species *C. asianum* and *C. dianesii*.

Keywords: *Colletotrichum* spp., *Mangifera indica*, *Musa* spp., *Persea americana*, *Psidium guajava*

CAPITULO 1 – Considerações gerais

1.1. INTRODUÇÃO

A produção mundial média de fruto por ano é aproximadamente de 800 milhões de toneladas. O Brasil é o terceiro colocado no ranking das principais nações produtoras, estando atrás apenas da China, em primeiro lugar, e da Índia, (ANUARIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2015). Para o Brasil, o valor da safra anual dos principais frutos, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), foi de R\$ 23 bilhões em 2013. Em 2014, nos negócios com o exterior, o setor frutícola obteve US\$ 3,2 bilhões, o que representa 3,3% da balança comercial do agronegócio (ANUARIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2015).

O Brasil possui um grande potencial a ser explorado no contexto das exportações. Para isso, no entanto, há necessidade de investimentos visando minimizar os danos pré e pós-colheita, que representam um fator limitante, tanto na produção, como nas exportações. Entre os danos pós-colheita incluem-se os de natureza fúngica, com destaque ao complexo antracnose, causada por fungos do gênero *Colletotrichum*, e presente em todos os países produtores de frutas (PEGG et al., 2002; AVILA-QUEZADA et al, 2007).

A ocorrência de duas ou mais espécies de *Colletotrichum* parasitando um mesmo hospedeiro pode resultar em dificuldades de controle visto as diferenças de comportamento dos mesmos, especialmente quanto às necessidades ambientais mínimas capazes de criar condições favoráveis ao desenvolvimento das infecções e consequente expressão de sintomas. Como exemplo, para o caso de pimentão, o complexo antracnose resulta de infecções originárias de *C. acutatum*, *C. boninense*, *C. capsici*, *C. coccodes* e *C. gloeosporioides*, as quais apresentam sensibilidade diferenciada aos fungicidas azoxistrobina, carbendazim, tiabendazol e tebuconazol (TOZZE JÚNIOR, 2007).

Diferenciação entre espécies de *Colletotrichum* baseadas no hospedeiro de origem, ou na sua gama de hospedeiros, não é um critério confiável para fungos deste gênero, já que podem infectar uma ampla faixa de hospedeiros, e às vezes sem apresentar um comportamento fisiológico único e específico. Devido a essa complexa situação, a combinação espécie, hospedeiro envolvido e expressão dos

sintomas mostra-se insuficiente para a definição taxonômica do agente causal, e, por conseguinte a etiologia geral da doença. Devido tal aspecto, investigadores buscam por meio de ferramentas de pesquisa, caracterizar e identificar isolados de *Colletotrichum*, visando uma melhor compreensão dos patossistemas, com consequente melhorias na definição de estratégias de controle (AFANADOR-KAFURI et al., 2003; TOZZE JÚNIOR, 2007).

Estudos envolvendo a análise de sequências de duas ou mais regiões do DNA são necessárias para identificar as espécies de *Colletotrichum* associadas a diferentes tipos de sintomas e hospedeiros, independente da interação patógeno-hospedeiro e a variabilidade intra e interespecífica das espécies associadas.

O presente trabalho teve como objetivo identificar taxonomicamente os isolados de *Colletotrichum* associados aos frutos de abacateiro, bananeira, goiabeira e mangueira, bem como estabelecer relações filogenéticas entre as espécies identificadas.

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1. Aspectos gerais da antracnose

O agente causal da antracnose corresponde ao fungo filamentoso do gênero *Colletotrichum*, sendo considerado um dos principais fitopatógenos em todo mundo. Fungos desse gênero causam significativas perdas econômicas em culturas de regiões temperadas, subtropicais e tropicais no mundo. Em frutíferas tropicais é considerada a mais importante doença de pós-colheita, causando prejuízos que variam em função do grau de suscetibilidade da planta hospedeira e das condições ambientais, sendo temperaturas amenas e alta umidade, os fatores mais favoráveis ao patógeno. Cereais, legumes, plantas ornamentais e frutos podem ser seriamente afetados pelo patógeno. As maiores perdas por *Colletotrichum* se dão nos frutos, em pré e em pós-colheita (JUNQUEIRA et al., 2001; JUNQUEIRA et al., 2002; PICCININ; PASCHOLATI; DI PIERO, 2005, SERRA et al., 2011).

Fungos do gênero *Colletotrichum* sobrevivem no próprio hospedeiro, e também em restos culturais. Como os propágulos desse fungo são disseminados por respingos de água, a ação do patógeno é favorecida por alta umidade,

principalmente chuvas abundantes. Temperatura média próxima de 23 a 27°C favorece a produção dos esporos. Chuvas menos intensas, ou a existência de um contínuo filme de água, favorecem o progresso da doença numa mesma planta já infectada, enquanto que gotas de água acompanhadas de ventos tendem a transportar o fungo para outras plantas. Em algumas situações, temperaturas mais baixas podem contribuir para a permanência do filme de água por um período mais longo, o que, na maioria das vezes, contribui para maiores níveis de incidência e severidade dos sintomas.

O ciclo de infecção é constituído desde o primeiro contato entre o patógeno e o hospedeiro, até a morte dos tecidos (Figura 01). A antracnose é uma doença policíclica, ou seja, que se caracteriza por repetidos ciclos de infecções durante o cultivo. As fases que compõem cada ciclo da antracnose geralmente compreendem: deposição do conídio na superfície da planta, adesão do conídio, germinação do conídio, alongação do tubo germinativo, formação do apressório, desenvolvimento do peg de penetração, penetração nas células epidérmicas, crescimento do patógeno, colonização do tecido vegetal e produção de acérvulos, que dão origem aos conídios (JEFFRIES et al., 1990; PERFECT et al., 1999; PRUSKY; FREEMAN; DICKMAN, 2000; PEGG et al., 2002; MORAES, 2009).

Em geral, os sintomas da doença são caracterizados por manchas necróticas, queima e queda de flores, podridão e queda de frutos, cancro e secamento de ramos, tombamento de plantas jovens, etc. As manchas são necróticas, de coloração escura, com bordos definidos e formato irregular nas folhas. Nos ramos, as manchas são escuras, às vezes deprimidas, podendo causar seca dos ramos e dos ponteiros. Nas flores ocorre secamento ou a sua abscisão. Frutos jovens infectados caem prematuramente. Os sintomas nos frutos variam de acordo com a espécie, mas, de maneira geral, iniciam-se por pequenas pontuações de coloração marrom a preta, com formato circular, onde frequentemente são observados círculos concêntricos, com massas alaranjadas que contêm os esporos do fungo. As lesões evoluem e atingem parte do fruto ou necrosando-o completamente. As necroses ultrapassam a casca e alcançam a polpa do fruto. Uma vez dentro do fruto, o fungo causa um escurecimento da polpa. É muito comum a ocorrência de frutos com

podridão no pedúnculo, a qual tem início nas infecções ocorridas nas flores ou em pós-colheita, no ponto de cicatrização.

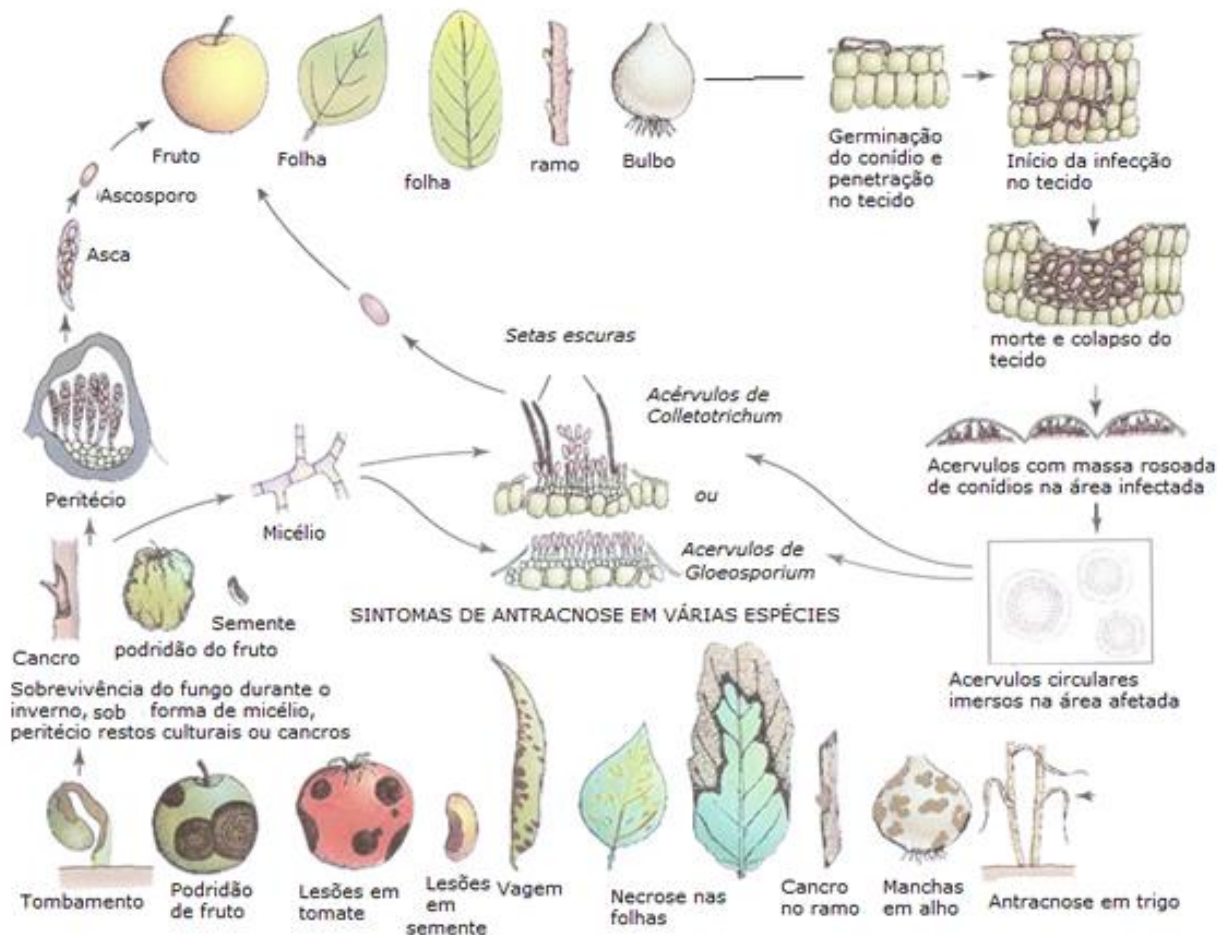


Figura 1 - Ciclo geral das doenças causadas por *Colletotrichum* spp, em diversos hospedeiros. Adaptado de Agrios (2005).

Sutton (1992) menciona à habilidade de *Colletotrichum* em causar infecção latente ou quiescente. O micélio pode permanecer viável por longo período de tempo em frutos assintomáticos, em sementes infectadas, e em restos culturais, a partir do qual pode iniciar um processo infeccioso quando das condições de ambiente mostrarem-se favoráveis para o seu desenvolvimento.

A ocorrência de duas ou mais espécies de *Colletotrichum* parasitando um mesmo hospedeiro pode dificultar o controle da antracnose. Fato dessa natureza já foi verificado para o caso do pimentão, no Brasil, já que as espécies presentes, *C.*

acutatum, *C. boninense*, *C. capsici*, *C. coccodes* e *C. gloeosporioides*, apresentam sensibilidade diferenciada aos fungicidas azoxistrobina, carbendazim, tiabendazol e tebuconazol (TOZZE JÚNIOR, 2007).

Outro fator que pode dificultar o controle da antracnose redonda da ausência de especificidade ao hospedeiro, de forma que muitas espécies de plantas, incluindo várias frutíferas tropicais, podem atuar como fontes de inóculo (FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998; PERES et al. 2002). Este risco é ainda maior no caso da associação de culturas, sistema em que há utilização simultânea do solo com duas ou mais culturas, como já praticado para o abacateiro, que pode ser associado a maracujazeiros e outras frutíferas (KOLLER, 2002).

A falta de especificidade patogênica em fungos do gênero *Colletotrichum* foi demonstrada em vários trabalhos por meio de inoculações artificiais (ALAHAKOON; BROWN; SREENIVASAPRASAD, 1994; BERNSTEIN et al., 1995; PERES et al., 2002, SANDERS; KORSTEN, 2003b). Porém, existe a necessidade de estudos para confirmar quais espécies de plantas efetivamente são hospedeiras dos fungos causadores da antracnose em frutíferas tropicais, pois alguns trabalhos indicam a existência de especialização patogênica dentro de algumas espécies de *Colletotrichum*. Em Israel, por exemplo, embora o cultivo de abacateiros seja realizado próximo às culturas de amendoeiras e morangueiros, em regiões com a presença de espécies de *Colletotrichum* patogênicas aos três hospedeiros, a ocorrência natural de infecção cruzada não tem sido observada (FREEMAN; KATAN, 1997; FREEMAN; KATAN; SHABI, 1998).

Diante do exposto, torna-se imprescindível conhecer os aspectos relacionados às espécies existentes, variabilidade da população do patógeno e o nível de especificidade do patógeno ao hospedeiro. Essas informações são fundamentais para o desenvolvimento ou recomendação de medidas adequadas de manejo da doença, seja ela baseada em métodos culturais, genéticos ou químicos.

1.2.2. O gênero *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum*, descrito por Corda em 1837, compreende várias espécies fitopatogênicas, responsáveis pela doença denominada antracnose. As

espécies deste gênero caracterizam-se por apresentar conídios hialinos, curvos ou fusiformes, produzidos em um acérvulo setoso.

O número de espécies desde o trabalho de Arx aumentou lentamente, à medida que os estudos sobre morfologia, características culturais e patogenicidade foram aprofundados (CANNON; BRIDGE; MONTE, 2000). Na revisão do gênero, realizada por Sutton (1980), 22 espécies foram propostas, passando para 39 espécies na atualização realizada pelo mesmo autor, em 1992.

Colletotrichum apresenta colônia de coloração muito variada, com presença de escleródios em algumas espécies (SUTTON, 1992). As células conidiogênicas do gênero geralmente são agregadas em conidiomatas (acérvulos), mas também podem ser formadas em ramificações laterais do micélio (MENEZES, 2002).

Os acérvulos podem variar muito de forma e tamanho dentro de uma mesma espécie, e frequentemente sobre uma mesma planta suscetível. São rasos, com formato de crosta, lentilha ou pústula, e alcançam um diâmetro de 40 µm a 1 mm, instalam-se na epiderme do tecido do hospedeiro, e menos frequentemente, sob a epiderme. No material vegetal, observa-se com frequência a presença de setas.

A formação de setas no acérvulo é variável e controlada por fatores ambientais. Portanto, a sua presença ou ausência não deve ser utilizada como um caráter de valor taxonômico para separação de taxa. As setas e células conidiogênicas parecem ser homólogas e, em determinadas condições do ambiente, as setas podem produzir conídios na extremidade (MENEZES, 2002).

As espécies mais comumente associadas à antracnose em frutíferas são *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, ambas amplamente disseminadas em todo o mundo, e possuem uma extensa gama de hospedeiros. O fungo *C. gloeosporioides* já foi relatado em mais de 470 gêneros de hospedeiros (SUTTON, 1980; DODD; ESTRADA; JEGGER, 1992; CANNON; BUDDIE; BRIDGE, 2008). Por sua vez, *C. acutatum* foi relatado em mais de 34 gêneros de plantas, de 22 famílias (WALKER; NIKANDROW; MILLAR, 1991). Estas duas espécies, como Sutton (1992) descreve, apresentam características morfológicas e culturais distintas, que têm sido útil para a identificação das mesmas.

Ao longo dos anos, as dificuldades apontadas na identificação de espécies de *Colletotrichum*, baseadas somente em características morfoculturais, abriram espaço

para que técnicas mais sensíveis, como as moleculares, pudessem amparar os métodos clássicos de taxonomia, gerando uma nova abordagem para este gênero.

Peres et al., (2002) analisaram a variabilidade patogênica, características morfológicas, culturais e moleculares de isolados de *Colletotrichum* spp. que infectam frutos, causando podridão em pós-colheita. Isolados de morango e goiaba, em meio de cultura apresentaram crescimento lento, colônia alaranjada e alta frequência de conídios do tipo fusiforme, enquanto que isolados de abacate, mamão, manga e maracujá apresentaram crescimento mais rápido, colônias cinza e alta frequência de conídios obclavados. Essas constatações associadas às análises moleculares permitiram a detecção de duas espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose de frutos em pós-colheita. Os isolados de morango e goiaba foram identificados como *C. acutatum*, enquanto que os demais foram identificados como *C. gloeosporioides*. O isolado de goiaba, que foi identificado como *C. acutatum*, nunca havia sido relatado causando sintomas de antracnose em frutos de pêssego, constituindo-se na primeira constatação no Brasil.

Hyde et al., (2009) forneceram uma visão geral de 66 espécies de *Colletotrichum* que estão em uso corrente, descrevendo-as com base na morfologia, complementado por uma abordagem filogenética multilocus.

Em 2012, Cannon et al. relataram mais 41 espécies introduzidas no gênero *Colletotrichum*, elevando o número para mais de 100 espécies. Neste mesmo ano, Weir et al. descreveram 22 espécies dentro do 'Complexo *C. gloeosporioides*': *C. asianum*, *C. cordylinicola*, *C. fructicola*, *C. gloeosporioides*, *C. horii*, *C. kahawae* subsp. *kahawae*, *C. musae*, *C. nupharicola*, *C. psidii*, *C. siamense*, *C. theobromicola*, *C. tropicale*, and *C. xanthorrhoeae*, *C. aenigma*, *C. aeschynomenes*, *C. alatae*, *C. alienum*, *C. aotearoa*, *C. clidemiae*, *C. kahawae* subsp. *ciggaro*, *C. salsolae*, e *C. ti*. Ainda em 2012, esse autor caracterizou as espécies do 'Complexo *C. acutatum*' e 'Complexo *C. boninense*'.

Lima et al., (2013) em um estudo filogenético realizado com isolados obtidos de pomares do Nordeste brasileiro relataram a existência de quatro espécies previamente descritas, *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. tropicale* e *C. karstii*, e uma nova espécie, *C. dianesii*, associadas a antracnose em frutos de mangueira. Tozze Junior

(2015) relatou, em seu trabalho, que a espécie *C. boninense* está associada a sintomas de antracnose do maracujá, no Estado de São Paulo.

Em vista aos avanços nos estudos moleculares associados aos métodos baseados em critérios fenotípicos, novas espécies de *Colletotrichum* poderão ser descritas.

1.2.3. Análise filogenética

A filogenia permite a identificação e entendimento das relações entre as espécies que resultam da evolução. Sob a premissa que as espécies evoluem de um ancestral comum, as espécies mais próximas têm mais características em comum do que as mais distantes. A sistemática filogenética é utilizada para identificar características similares e definir a relação histórica ou evolucionária mediante essas características, incluindo genes ou fragmentos de DNA. Com base nessas relações, árvores filogenéticas são desenvolvidas mostrando as relações evolucionárias ou agrupamentos de organismos (BUSO, 2005).

Os métodos usados para determinar as diferenças entre as unidades de estudo dependem do número e tipo de características a serem comparadas. Características podem incluir diferenças morfológicas, sequências de DNA, genes ou seus produtos (proteínas).

Existem dois tipos de análises utilizadas para o desenvolvimento de árvores filogenéticas. Os métodos fenéticos utilizam medidas de distância, que consolidam estatisticamente as diferenças entre os caracteres em um número. Uma matriz de distância entre os possíveis pares do grupo de estudo é criada, e árvores são desenvolvidas agrupando aqueles com menor diferença num fenograma (BUSO, 2005).

Os métodos cladísticos calculam árvores para cada caráter e então indicam a melhor árvore através da determinação daquela que requer menor número de mudanças (parcimônia), ou aquela mais provável estatisticamente (máxima verossimilhança). A idéia básica por trás da cladística é que membros do mesmo grupo compartilham uma história evolucionária comum, e são proximamente relacionados, mais com membros do mesmo grupo do que com outros organismos.

Estes grupos são reconhecidos por compartilharem características únicas que não estão presentes num ancestral distante (BUSO, 2005).

1.2.3.1. Máxima Parcimônia

O método de máxima parcimônia é relativamente simples em sua concepção. Seu princípio envolve a identificação de uma topologia que requer o menor número de mudanças evolutivas para explicar as diferenças observadas entre os táxons estudados. Esse método utiliza apenas os sítios variáveis informativos em suas análises, pois os sítios invariáveis não acrescentam nenhuma mudança na árvore, enquanto os sítios variáveis não informativos acrescentam o mesmo número de mudanças em todas as possíveis árvores (GRAUR; LI, 2000; NEI; KUMAR, 2000; MIYAKI et al., 2001).

A vantagem do método de máxima parcimônia em relação aos outros é o seu conceito simples e, em geral, computacionalmente mais rápido que os demais. No entanto, deve-se ter cuidado com homoplasias, substituições múltiplas e desvio de composição de bases, que não são corrigidos por esse método (MIYAKI et al. 2001).

Há diferentes algoritmos para análise filogenética. No caso da máxima parcimônia, dois deles são mais utilizados: a busca exaustiva (se o número de táxons for pequeno, até 10) ou a busca heurística (se houver um grande número de táxons). A busca exaustiva analisa todas as possíveis árvores bifurcadas para um grupo de táxons. A busca heurística une inicialmente todos os táxons em um único nó interno, formando uma árvore totalmente politômica, e em seguida avalia todas as possíveis árvores (GRAUR; LI, 2000; NEI; KUMAR, 2000).

1.2.3.2. Máxima verossimilhança

É um método de inferência filogenética que avalia a hipótese sobre a história evolucionária em termos da probabilidade de que o modelo proposto e a história hipotética dariam origem ao conjunto de dados observados. A suposição é que a história com maior probabilidade de atingir o estado observado é preferida à história com mais baixa probabilidade. O método procura pela árvore com maior probabilidade ou maior verossimilhança (BUSO, 2005).

O método de máxima verossimilhança avalia a probabilidade de que um modelo evolucionário escolhido tenha gerado as sequências observadas. A filogenia é inferida achando-se as árvores com maior verossimilhança.

Sob a hipótese de que cada sítio do nucleotídeo evolui independentemente (modelo de evolução Markovian), pode-se calcular a verossimilhança para cada local separadamente e combinar as verossimilhanças num valor total. Para calcular a verossimilhança para um determinado sítio, têm-se que considerar todos os cenários possíveis pelos quais os nucleotídeos presentes nas pontas da árvore possam ter evoluído. Então, a verossimilhança para um local particular é a soma das probabilidades de todas as reconstruções possíveis de estados ancestrais, dado o modelo de substituição de bases (BUSO, 2005). Após a estimativa das probabilidades para o sítio em questão e considerando-se todos os nucleotídeos possíveis, o processo é repetido para todos os sítios até que todas as probabilidades tenham sido estimadas. Aceitando-se que todos os sítios evoluem independentemente, a estimativa da verossimilhança para toda a sequência será igual ao produto das probabilidades de cada sítio. Isso é repetido para todas as árvores possíveis, e aquela com maior verossimilhança será escolhida. Para um grande número de táxons torna-se impossível a procura devido ao grande esforço computacional (BUSO, 2005).

1.2.3.3. Inferência Bayesiana

Os métodos bayesianos partem do mesmo princípio matemático da máxima verossimilhança. Entretanto, nos métodos da máxima verossimilhança os parâmetros são considerados constantes desconhecidas fixas, enquanto nos métodos bayesianos, os parâmetros do modelo são considerados como variáveis aleatórias, com distribuições estatísticas. Antes da análise dos dados, aos parâmetros é atribuído uma distribuição a priori, que é, então, combinada com os dados (ou suas verossimilhanças) para gerar a distribuição a posteriori que serve de base para as inferências sobre os parâmetros que deverão ser estimados. O principal algoritmo empregado para este tipo de abordagem são os baseados em 'Cadeia de Markov', por simulação de Monte Carlo (MCMC, de Markov chain Monte Carlo). As 'Cadeias de Markov' são uma sequência estocástica (ou cadeia) de

estados, cuja probabilidade da mudança do estado atual para outro, ou para permanecer no mesmo estado, não depende dos estados passados, apenas do estado atual (WHELAN; LIÒ; GOLDMAN, 2001; YANG; RANNALA, 2012).

Assim, a escolha da árvore resultante dependerá do menor número de mudanças, no caso dos métodos de máxima parcimônia, o valor de log-verossimilhança (*log-likelihood*), nos métodos de máxima verossimilhança, e a probabilidade posterior, nos métodos de inferência bayesiana (WHELAN; LIÒ; GOLDMAN, 2001).

1.2.3.4. Análise de Bootstrap

O bootstrap não paramétrico (FELSEINSTEIN, 1985) é muito utilizado em análises filogenéticas, tanto em análises por máxima parcimônia, como nas análises por máxima verossimilhança, para estimar o nível de confiança dos ramos das hipóteses filogenéticas. O teste consiste em uma simples reamostragem aleatória, com reposição dos dados. Para cada réplica é obtida uma árvore e, no final, é computada uma árvore consenso na qual consta a proporção (porcentagem de vezes) que cada agrupamento foi recuperado nas árvores réplicas (GRAUR; LI, 2000; NEI; KUMAR, 2000; RUSSO et al., 2001).

REFERÊNCIAS

- AFANADOR-KAFURI, L.; MINZ, D.; MAYMON, M.; FREEMAN, S. Characterization of *Colletotrichum* isolates from tamarillo, passiflora and mango in Colombia and identification of a unique species from the genus. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 93, n. 5, p. 579-587, 2003.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5th. ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam. 948p, 2005.
- ALAHAKOON, P.W.; BROWN, A.E.; SREENIVASAPRASAD, S. Cross-infection potential of genetic groups of *Colletotrichum gloeosporioides* on tropical fruits. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 44, n. 2, p. 93-103, 1994.
- ANUARIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2015. Santa Cruz do Sul- RS: Editora Gazeta Santa Cruz, 104 p., 2015.
- AVILA-QUEZADA, G.; SILVA-ROJAS, H.V.; TELIZ-ORTIZ, D. First report of the anamorph of *Glomerella acutata* causing anthracnose on avocado fruits in Mexico. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 91, p. 1200-1200, 2007.
- BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 289p. 1996.
- BERNSTEIN, B.; ZEHR, E.I.; DEAN, R.A.; SHABI, E. Characteristics of *Colletotrichum* from peach, apple, pecan, and other hosts. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 79, n. 5, p. 478-482, 1995.
- BUSO, G. S. C. **Marcadores Moleculares e Análise Filogenética**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documento 137, Brasília, 2005. Disponível

em:<<https://www.embrapa.br/documents/1355163/2021925/doc137.pdf/deb86efd-2ca9-4b1b-b241-45a719d33729>>. Acesso em: 22 dez. 2015.

CANNON, P.F.; BRIDGE, P.D.; MONTE, E. Linking the past, present, and future of *Colletotrichum* Systematics. In: PRUSKY, D., FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.). *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology and Host-Pathogen Interaction*. Saint Paul: APS Press, p. 1-19. 2000.

CANNON, P.F.; BUDDIE, A.G.; BRIDGE, P.D. The typification of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Mycotaxon**, Ithaca, v. 104, p.189-204, 2008.

CANNON, P. F., DAMM, U., JOHNSTON, P. R., WEIR, B. S. *Colletotrichum* current status and future directions. **Studies in Mycology**, Utrecht, v.73, p.181-213, 2012.

DAMM U, CANNON PF, WOUDEBERG JHC, JOHNSTON PRP, WEIR BS, TAN Y, SHIVAS RG, CROUS, P.W. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies Mycology** 73:1-36, 2012.

DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDEBERG, J. H. C.; CROUS, P.W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies Mycology** 73:37-113, 2012.

DODD, J.C.; ESTRADA, A.; JEGER, M.J. Epidemiology of *Colletotrichum gloeosporioides* in the Tropics, In: BAILEY, A.J.; JEGER, J.M. *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford: CAB International, p. 308-325. 1992.

FELSENSTEIN, J. Os limites de confiança em filogenias: uma abordagem utilizando o *bootstrap*. **Evolução**, v.39, p.783-791, 1985.

FERRARI, J.T.; DOMINGUES, R.J.; TÖFOLI, J.G.; NOGUEIRA, E.M.C. **Antracnose associada às fruteiras**. 2011. Artigo em Hipertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2011_4/antracnose/index.htm>. Acesso em: 21 dez. 2015.

FREEMAN, S.; KATAN, T. Identification of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose and root necrosis of strawberry in Israel. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, p. 516-521, 1997.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**, St. Paul, v.82, p. 596-605, 1998.

FREEMAN, S.; MINZ, D.; JURKEVITCH, E.; MAYMON, M.; SHABI, E. Molecular analyses of *Colletotrichum* species from almond and other fruits. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 90, p. 608-614, 2000.

GRAUR, D. & LI, W. **Fundamentals of Molecular Evolution**. 2ª edição, Sinauer Associates, Sunderland, 2000.

HYDE, K.D.; CAI, L.; CANNON, P.F.; CROUCH, J.A.; CROUS, P.W.; DAMM, U.; GOODWIN, P.H.; CHEN, H.; JOHNSTON, P.R.; JONES, E.B.G.; LIU, Z.Y.; MCKENZIE, E.H.C.; MORIWAKI, J.; NOIREUNG, P.; PENNYCOOK, S.R.; PFENNING, L.H.; PRIHASTUTI, H.; SATO, T.; SHIVAS, R.G.; TAN, Y. P.; TAYLOR, P.W.J.; WEIR, B.S.; YANG, Y.L.; ZHANG, J.Z. *Colletotrichum* - names in current use. **Fungal Diversity**, Kunming, v. 39, p. 147-182, 2009.

JEFFRIES, P.; DODD, J.C.; JEEGER, M.J.; PUMBLEY, R.A. *Colletotrichum* species on tropical fruits. **Plant Pathology**, London, v. 39, n. 3, p. 343-366, 1990.

JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M.; PEREIRA, M.; LIMA, M.M.; CHAVES, R.C. Doenças da goiabeira no Cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 31 p. (Circular Técnica, 15) 2001.

JUNQUEIRA, N.T.V.; COSTA, H. Controle das doenças da goiabeira In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. (Ed.) Controle de doenças de plantas: fruteiras. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v. 2, p. 1247-1277. 2002.

KOLLER, O.C. Abacate – Produção de mudas, Instalação e manejo de pomares, colheita e pós-colheita. Porto Alegre: Cinco Continentes, 149p. 2002.

LIMA, N. B.; BATISTA, M. V. A.; MORAIS JR, M. A.; BARBOSA, M. A. G.; MICHEREFF, S. J.; HYDE, K. D. CÂMARA, M. P. S. Five *Colletotrichum* species are responsible for mango anthracnose in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, v. 61: p.75–88, 2013.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*, **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 27, Suplemento, p. 523-524, 2002.

MIYAKI, C. Y.; RUSSO, C. A. D.; PEREIRA, S. L. Reconstrução filogenética. Introdução e o método da máxima parcimônia. In: MATIOLI, S. R. **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos, cap. 9, p. 97-107, 2001.

MORAES, S.R. **Infecção e colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em goiaba e infecção de *Colletotrichum acutatum* em folhas de citros**. 2009. 114 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2009.

NEI, M.; KUMAR, S. **Molecular Evolution and Phylogenetics**. Oxford University Press. New York, 2000.

PEGG, K.G.; COATES, L.M.; KORSTEN, L.; HARDING, R.M. Foliar, fruit and soil diseases. In: WHILEY, A.W.; SCHAFFER, B.; WOLSTENHOLME, B.N. (Ed.). **The avocado: botany, production and uses**. Wallingford: CAB International Press, p. 299-338. 2002.

PERES, N.A.R.; KURAMAE, E.E.; DIAS, M.S.C.; SOUZA, N.L. Identification and characterization of *Colletotrichum* spp. affecting fruit after harvest in Brazil. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 150, n. 3, p. 128-134, 2002.

PERFECT, S.E.; HUGHES, H.B.; O'CONNELL, R.J.; GREEN, J.R. *Colletotrichum* - A model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v. 27, p. 186-198, 1999.

PICCININ, E.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M. Doenças do abacateiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 4.ed. São Paulo: Ceres, 2005. v. 2, cap. 44, p. 1-7, 2005.

PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. *Colletotrichum*: host specificity, pathology and host-pathogen interaction. Minnesota: APS Press, 393p. 2000.

RUGGIERO, C.; SÃO JOSE, A.R; VOLPE, C.A; OLIVEIRA, J.C; DURIGAN, J. F; BAUMGARTNER, J. G; SILVA, J.R. da; NAKAMURA, K.I.; FERREIRA, M.E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V.P. Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA, 64 p. 1996.

RUSSO, C. A. M.; MIYAKI, C. Y. E PEREIRA, S. L. Reconstrução filogenética: métodos geométricos. In: Mاتيoli, S. R. (ed.) **Biologia Molecular e Evolução**. Editora Holos, Brasil. Pp. 108-116, 2001.

SANDERS, G.M.; KORSTEN, L. A comparative morphological study of South African avocado and mango isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. Canadian **Journal of Botany**, Ottawa, v. 81, p. 877-885, 2003.

SERRA, I.M.R.S.; COÊLHO, R.S.B.; FERRAZ, G.M.G.; MONTARROYOS, A.V.V.; SILVA, D.S. Diversidade fenotípica e patogênica de *Colletotrichum*, agente causal da antracnose em mangueira, e identificação de espécie. Summa Phytopathologica, Botucatu, v. 37, n. 1, 2011.

SUTTON, B.C. **The Coelomycetes**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, London, 696p. 1980.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum* In: BAILEY, J.A; JEGER, M.J. ***Colletotrichum: biology, pathology and control***. Oxon: CAB International, p. 1-26. 1992.

TOZZE JÚNIOR, H.J. **Caracterização e identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do pimentão (*Capsicum annuum*) no Brasil**. 2007. 81 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2007.

TOZZE JÚNIOR, H. J.; FIRMINO, A. C.; FISCHER, I. H.; FURTADO, E. L., MASSOLA, N. S. Caracterização de isolados de *Colletotrichum* spp. associados às frutíferas no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathology**, Botucatu, v. 41, n. 4, p. 270-280, 2015.

WALKER, J.; NIKANDROW, A.; MILLAR, G.D. Species of *Colletotrichum* on *Xanthium* (Asteraceae) with comments on some taxonomic and nomenclatural problems in *Colletotrichum*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 95, n. 10, p. 1175-1193, 1991.

WEIR, B.; JOHNSTON, P.R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**. v.73, 2012.

WHELAN, S.; LIÒ, P., GOLDMAN, N. Molecular phylogenetics: state-of-the-art methods for looking into the past. **Trends Genetics**. May; 17(5):262-72, 2001.

VON ARX, J.A. Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. **Phytopathology**. Zeitschrift 29: 413-468, 1957.

YANG, Z.; RANNALA, B. Molecular phylogenetics: principles and practice. **Nature Reviews Genetics**. Mar 28;13(5):303-14, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ainda que tenham sido detectados diferenças morfológicas e culturais entre os isolados de *Colletotrichum* spp. oriundos de sintomas de antracnose de frutos de abacate, banana, goiaba e manga, estes foram insuficientes para a distinção de táxons.

O teste de patogenicidade cruzada, sob condições laboratório, indicou ausência de especificidade fisiológica entre espécies de *Colletotrichum* spp. oriundos de abacate, banana, goiaba e manga. Entretanto, dentre os isolados avaliados, apenas os oriundos de banana apresentaram uma faixa de hospedeiro mais restrita, já que estes não induziram à expressão de sintomas de antracnose em frutos de mamão. Estudos complementares, com avaliações a campo, poderão oferecer informações mais completas e conclusivas sobre a importância das espécies de *Colletotrichum* associadas e o relacionamento epidemiológico entre as diferentes interações.

A existência de novas espécies associadas a sintomas de antracnose pode ser decorrente de diversos mecanismos geradores de variabilidade em fungos mitospóricos, como a mutação e outros fatores que podem contribuir à variabilidade genética dos fungos, em condições naturais. Aliado a esse fato, tem-se que a antracnose é uma doença endêmica nas áreas de cultivo dessas frutíferas, onde múltiplas infecções ocorrem constante e simultaneamente, resultando em alta taxa de reprodução do patógeno, o que certamente amplia as chances na geração de variantes genéticos.

Mediante sequenciamento das regiões parciais dos genes da actina (ACT), glutamina sintase (GS), gliceraldeído3-fosfato desidrogenase (GAPDH), calmodulina (CL), β -tubulina (TUB) e ITS1-5.8S-ITS2 foi possível distinguir diversos táxons de *Colletotrichum* associados a sintomas de antracnose em frutos de abacate, banana, goiaba e manga. Neste contexto, para o estado de São Paulo foram confirmados a associação de *C. musae* e *C. siamense* a sintomas de antracnose em abacate e goiaba, enquanto que para manga foram constatado *C. asianum* e *C. dianesii*.

Para a taxonomia de certas espécies de patógenos, o emprego da região ITS1-5.8S-ITS2 pode se constituir em alternativa eficiente para a caracterização

taxonômica. Entretanto, não é o que se aplica para o caso de *Colletotrichum* associado a sintomas de antracnose em frutos de abacate, banana, goiaba e manga. Nesses casos, às vezes, mesmo com o sequenciamento das regiões parciais dos genes da actina (ACT), glutamina sintase (GS), gliceraldeído3-fosfato desidrogenase (GAPDH), calmodulina (CL), β -tubulina (TUB) e ITS1-5.8S-ITS2, possíveis novas espécies podem manterem-se indefinidas. Tal situação aplica-se para o presente caso, como observado para isolados oriundos de frutos de manga com sintomas de antracnose. Também, em determinadas circunstâncias, apenas o emprego de três regiões mostraram-se eficientes para a caracterização taxonômica.