

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIENCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE
JABOTICABAL**

**COMPLEXOS DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum*
ASSOCIADOS AOS CITROS E A OUTRAS FRUTÍFERAS NO
BRASIL**

Roberta Cristina Delphino Carboni
Engenheira Agrônoma

2018

**T
E
S
E**

/

**C
A
R
B
O
N
I**

**R.
C.
D.**

**2
0
1
8**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE
JABOTICABAL**

**COMPLEXOS DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum*
ASSOCIADOS AOS CITROS E A OUTRAS FRUTÍFERAS NO
BRASIL**

Roberta Cristina Delphino Carboni

Orientador: Prof. Dr. Antonio de Goes

Co-orientadora: Dra. Andressa de Souza Pollo

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

2018

Carboni, Roberta Cristina Delphino

C264d Complexos de espécies de *Colletotrichum* associados aos citros e a outras frutíferas no Brasil / Roberta Cristina Delphino Carboni. – – Jaboticabal, 2018

x, 107 p.: il.; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2018

Orientador: Antonio de Goes

Co-orientadora: Dra. Andressa de Souza Pollo

Banca examinadora: Kátia Cristina Kupper, Rita de Cássia Panizzi, Juliana Altafin Galli, Marcos Tulio de Oliveira

Bibliografia

1. *Citrus* spp., *Colletotrichum* spp. 2. Análise polifásica. 3. marcadores ISSR. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 634.3:632.4

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

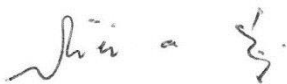
TÍTULO DA TESE: **COMPLEXOS DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADOS AOS CITROS E A OUTRAS FRUTÍFERAS NO BRASIL**

AUTORA: ROBERTA CRISTINA DELPHINO CARBONI

ORIENTADOR: ANTONIO DE GÓES

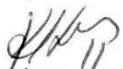
COORDINADORA: ANDRESSA DE SOUZA POLLO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



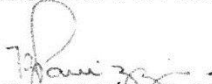
Prof. Dr. ANTONIO DE GÓES

Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal



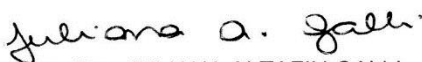
Pesquisadora Dra. KÁTIA CRISTINA KUPPER

Centro de Citricultura / IAC / Instituto Agronômico de Campinas - Cordeirópolis/SP



Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI

Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora Dra. JULIANA ALTAFIN GALLI

Secretaria da Agricultura e Abastecimento / Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Pindorama/SP



Prof. Dr. MARCOS TULIO DE OLIVEIRA

Departamento de Tecnologia / FCAV/UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 27 de fevereiro de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ROBERTA CRISTINA DELPHINO CARBONI - nascida em 03 de novembro de 1987, em Jaboticabal-SP, é Engenheira Agrônoma formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' (UNESP), Câmpus de Jaboticabal-SP, em fevereiro de 2012. Durante a graduação, estagiou, no período de março de 2007 a maio de 2011, junto ao Departamento de Fitossanidade, no Laboratório de Fitopatologia, na área de fitopatologia clássica, e no período de março de 2008 a dezembro de 2010, no Departamento de Tecnologia, no Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas, na área de genética de populações de fitopatógenos, como bolsista do CNPq e, posteriormente, FAPESP, sob orientação do Prof. Dr. Antonio de Goes e co-orientação da Dra. Andressa de Souza Pollo e da Profa. Dra. Lucia Maria Carareto Alves. O Estágio de Conclusão de Curso foi realizado junto à Oxiquímica Agrociência Ltda., localizada em Jaboticabal-SP, no período de junho de 2011 a dezembro de 2011, no setor de Pesquisa e Desenvolvimento de novas formulações de nutrientes foliares e agrotóxicos, com bolsa de complementação educacional. Concluiu a graduação com o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "Caracterização molecular e patogênica de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* associados a sintomas de antracnose em mangueiras (*Mangifera indica* L.)". Em março de 2012, ingressou no curso de Pós-Graduação, Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, pela FCAV/UNESP, como bolsista Capes, sob orientação do Prof. Dr. Antonio de Goes e co-orientação da Dra. Andressa de Souza Pollo. A dissertação de mestrado intitulada "Diversidade de populações de *Phyllosticta* spp. de goiabeiras e de mangueiras em diferentes ambientes", foi defendida em fevereiro de 2014. Em março de 2014, ingressou no curso de Pós-Graduação, Doutorado em Agronomia, Área de Concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, pela FCAV/UNESP, também como bolsista Capes e sob orientação e co-orientação dos mesmos profissionais do Mestrado.

Andei...

Por caminhos difíceis, eu sei.
Mas olhando o chão sob meus pés, vejo a vida correr.
E assim a cada passo que der
Tentarei fazer o melhor que puder.

Aprendi...

Não tanto quanto quis, mas vi que conhecendo
O universo ao meu redor eu aprendo a me conhecer melhor;
Assim escutarei o tempo que me ensinará
A tomar a decisão certa a cada momento.

E partirei...

Em busca de muitos ideais,
Mas sei que hoje se encontram meu passado, presente e futuro.
Hoje sinto em mim a emoção da despedida.
Hoje é o ponto de chegada.
Mas, ao mesmo tempo, tempo de partida”.

(Autor desconhecido)

Dedico

Aos meus pais, Aauto e Marina, por todos os momentos de alento,
por todo amor, orgulho e força.

Ofereço

Ao meu noivo Lucas, com carinho e eterna gratidão, pelo apoio,
companheirismo e amor incondicionais.

AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo, por me dar força, luz, paciência e sabedoria em todos os momentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos durante o curso de Doutorado.

Ao Laboratório de Fitopatologia, do Departamento de Fitossanidade e ao Laboratório de Epidemiologia Molecular, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, ambos pertencentes à FCAV, que disponibilizaram toda estrutura necessária para o desenvolvimento desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio de Goes, pelo qual tenho profundo respeito e admiração. Obrigada pela orientação, amizade, apoio e ensinamentos que contribuíram para o meu aprendizado profissional e crescimento pessoal.

À minha co-orientadora, grande amiga e comadre Andressa de Souza Pollo, pelos mais de dez anos de muita dedicação, paciência e valiosos ensinamentos que foram essenciais para a minha formação pessoal e profissional.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Rita de Cássia Panizzi, Prof. Dr. Marcos Tulio de Oliveira, Dra. Kátia Cristina Kupper e Dra. Juliana Altafin Galli, pelas correções e valiosas sugestões que contribuíram para enriquecimento deste trabalho.

Às queridas amigas do Laboratório de Epidemiologia Molecular, Luciana C. C. Lacerda e Mariana Fröner Casagrande, pela amizade, carinho e força nos momentos difíceis.

Aos meus amados pais, pelo amor, compreensão e apoio incondicionais em todos os momentos da minha vida.

Ao meu querido noivo Lucas, pela paciência, cumplicidade, apoio, carinho e amor, principalmente nas horas mais difíceis.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. <i>Colletotrichum</i> : um gênero de fungo multi-hospedeiro em plantas	3
2.2. O gênero <i>Colletotrichum</i> : espécies e complexos de espécies	5
2.3. <i>Colletotrichum</i> em citros (<i>Citrus</i> spp.)	8
2.4. Antracnose em frutíferas.....	11
2.5. Caracterização molecular de espécies de <i>Colletotrichum</i>	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Obtenção dos isolados.....	19
3.2. Extração de DNA.....	20
3.3. Triagem dos isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.....	21
3.3.1. PCR espécie-específico	21
3.3.2. Marcadores ISSR	22
3.4. Caracterização molecular das populações de <i>Colletotrichum</i>	23
3.4.1. Sequenciamento de DNA.....	23
3.4.2. Marcadores ISSR	25
3.5. Testes de patogenicidade	26
4. RESULTADOS	28
4.1. Frequência de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.....	28
4.2. Triagem dos isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.....	32
4.2.1. PCR espécie-específico	32
4.2.2. Marcadores ISSR	32
4.3. Caracterização molecular das populações de <i>Colletotrichum</i>	32
4.3.1. Sequenciamento de DNA.....	32
4.3.2. Marcadores ISSR	38
4.4. Testes de patogenicidade	45
5. DISCUSSÃO	46

6. CONCLUSÃO	52
7. REFERÊNCIAS	53

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Oligonucleotídeos iniciadores espécie-específicos utilizados para triagem populacional de isolados sugestivos de <i>Colletotrichum</i> spp.....	22
Tabela 2. Oligonucleotídeos iniciadores utilizados no sequenciamento gênico de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.....	25
Tabela 3. Número de isolados de <i>Colletotrichum</i> obtidos de cada procedência, hospedeiros e tecidos vegetais amostrados	29
Tabela 4. Média da distância genética entre-Grupos do dendrograma obtido pela análise com cinco marcadores ISSR, correspondentes aos diferentes complexos de espécies de <i>Colletotrichum</i> , e entre isolados pertencentes a um mesmo Grupo.....	41
Tabela 5. Resultados preliminares dos testes de patogenicidade com isolados de pertencentes a cinco espécies de <i>Colletotrichum</i> , obtidos de diferentes hospedeiros, inoculados em flores de laranjeiras 'Valência', sob condições de casa de vegetação	45
Anexo 1. Códigos de acesso dos isolados de <i>Colletotrichum</i> e <i>Glomerella</i> presentes no banco de dados GenBank. Estas sequências de DNA foram alinhadas às sequências de DNA dos isolados obtidos neste estudo	81

LISTA DE FIGURAS

Página

- Figura 1. Filograma obtido pela análise bayesiana das sequências concatenadas da região ITS e genes GAPDH e TUB2 dos 92 isolados de *Colletotrichum* selecionados para esta análise. As espécies-tipo do banco de dados estão marcadas em negrito. Os isolados marcados em vermelho foram selecionados para análise filogenética com seis genes. Os valores na inserção dos ramos correspondem à confiabilidade do agrupamento.....35
- Figura 2. Filograma obtido pela análise bayesiana das sequências concatenadas da região ITS e genes GAPDH e TUB2 dos 92 isolados de *Colletotrichum* selecionados para esta análise. As espécies-tipo do banco de dados estão marcadas em negrito. Os isolados marcados em vermelho foram selecionados para análise filogenética com seis genes. Os valores na inserção dos ramos correspondem à confiabilidade do agrupamento.....36
- Figura 3. Filograma obtido pela análise bayesiana das sequências concatenadas da região ITS e genes GAPDH, TUB2, ACT, CHS1 e GS dos 22 isolados de *Colletotrichum* selecionados. As espécies-tipo do banco de dados estão marcadas em negrito. Os valores na inserção dos ramos correspondem à confiabilidade do agrupamento37
- Figura 4. Dendrograma obtido pelo o agrupamento neighbor-joining resultante da análise de diversidade genética com cinco marcadores ISSR de 148 isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para o Grupo 1. Os isolados em negrito foram sequenciados42
- Figura 5. Dendrograma obtido pelo o agrupamento neighbor-joining resultante da análise de diversidade genética com cinco marcadores ISSR de 148 isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para os Grupos 2, 3, 4 e 5. Os isolados em negrito foram sequenciados43
- Figura 6. Eletroforese em gel dos produtos de amplificação dos isolados de *Colletotrichum* spp. com o marcador P12, mostrando os diferentes perfis

genéticos de cada espécie do fungo, dentro dos seus respectivos complexos de espécies (Gloeosporioides: SO1.10, MM1.18, OO1.7, TM2.1.7; Acutatum: OO2.4; Boninense: SO3.1, BP1.10, BL1.5; Gigasporum: TG1.1.2 e Cliviae: BP1.2). PM: 100 pb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific). CN: controle negativo44

Anexo 2. Agrupamento neighbor-joining resultante da análise com marcadores ISSR de isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para os grupos G2, G3 e G4. Os isolados de que não amplificaram com o oligonucleotídeo principal para o grupo constituíram exceções e estão marcados na cor azul. Os isolados selecionados para o sequenciamento estão na cor vermelha e azul com asterisco87

COMPLEXOS DE ESPÉCIES DE *Colletotrichum* ASSOCIADOS AOS CITROS E A OUTRAS FRUTÍFERAS NO BRASIL

RESUMO

Colletotrichum é um gênero de fungo polífago e cosmopolita e, dada a sua diversidade de estratégias de vida, possui alta complexidade taxonômica. Em citros, quatro complexos de espécies já foram relatados no mundo, dentre os quais apenas os complexos Gloeosporioides e Acutatum foram associados à Podridão Floral dos Citros (PFC) no Brasil. Este trabalho teve por objetivo identificar os complexos de espécies de *Colletotrichum* associados aos citros e à frutíferas localizadas nos arredores de pomares cítricos no estado de São Paulo. Foram obtidos 444 isolados de *Colletotrichum*, os quais foram submetidos à triagem por PCR e marcadores ISSR visando a seleção de representantes para o sequenciamento da região ITS e genes GAPDH, TUB2, ACT, CHS-1 e GS. Dos 376 isolados oriundos de citros, 309 pertenceram ao complexo Gloeosporioides, 34 a Boninense, 31 a Acutatum e dois a Gigasporum. Os complexos Gloeosporioides e Boninense também foram encontrados em mangueiras, goiabeiras, mamoeiros, cajueiros e bananeiras. Já a espécie *C. gigasporum*, do complexo Gigasporum, foi encontrada, além dos citros, em folhas de goiabeiras, assim como a espécie *C. aracearum*, do complexo Cliviae, que foi encontrada apenas em mamoeiros, sendo este o primeiro relato de tais espécies ocorrendo nestas frutíferas no mundo. Ainda em relação ao mundo, outros resultados inéditos foram obtidos, como a identificação da espécie *C. siamense*, do complexo Gloeosporioides, em goiabeiras e cajueiros, *C. karstii*, do complexo Boninense, em goiabeiras, cajueiros e bananeiras e outras duas espécies de *Colletotrichum* ainda não identificadas, também pertencentes a este complexo, em limeira e mamoeiro. A análise com marcadores ISSR mostrou que isolados de diferentes hospedeiros agruparam-se entre si, sendo este um indicativo do compartilhamento de hospedeiros por espécies de *Colletotrichum*, o que veio a ser comprovado pelos testes de patogenicidade que já indicaram a capacidade das espécies *C. siamense*, *C. asianum*, *C. gigasporum* e *C. aracearum* de ocasionar sintomas de PFC em laranjeiras doces.

Palavras-chave: *Citrus* spp., análise polifásica, marcadores ISSR.

***Colletotrichum* SPECIES COMPLEX ASSOCIATED TO CITRUS AND OTHER FRUIT PLANTS IN BRAZIL**

ABSTRACT

Colletotrichum is a polyphagous and cosmopolitan fungus that presents high taxonomic complexity owing to its diversity of life strategies. In citrus, four species complexes have already been reported in the world, of which only the Gloeosporioides and Acutatum complexes were associated with Postbloom Fruit Drop (PFD) in Brazil. The objective of this work was to identify the *Colletotrichum* species complexes associated to citrus and fruit trees located in the proximity of citrus orchards in the state of São Paulo. A total of 444 *Colletotrichum* isolates were obtained, which were subjected to PCR and ISSR markers screening in order to select representatives for sequencing of ITS region and GAPDH, TUB2, ACT, CHS-1 and GS genes. Of the 376 isolates obtained from citrus, 309 belonged to the Gloeosporioides complex, 34 to Boninense, 31 to Acutatum and two to Gigasporum. The Gloeosporioides and Boninense complexes were also found in mangoes, guava, papaya, cashew and banana plants. *C. gigasporum* species was found, besides the citrus, only in guava leaves, as well as the *C. aracearum* species was found only in papaya, being the first report of such species occurring in these fruit plants in the world. Still regarding the world, other unpublished results were obtained, such as the identification of *C. siamense*, of the Gloeosporioides complex, in guava and cashew plants, *C. karstii*, of the Boninense complex, in guava, cashew and banana plants, and two other species of *Colletotrichum* not yet identified, also belonging to this complex, in lime and papaya plants. The ISSR markers analysis showed that isolates from different hosts were grouped together, being an indicative of hosts sharing among *Colletotrichum* species, which came to be proven by the pathogenicity tests that have revealed the capacity of *C. siamense*, *C. asianum*, *C. gigasporum* and *C. aracearum* species to cause PFD symptoms in sweet orange.

Keywords: *Citrus* spp., Polyphasic analysis, ISSR markers.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de frutas tropicais, laranja doce e de suco de laranja do mundo (PINTO; JACOMINO, 2013; USDA, 2017). Tamanha produção vem acompanhada das preocupações e dificuldades de controle das doenças ocasionadas por fungos. Temperaturas constantemente elevadas, chuvas frequentes e umidade relativa alta, além de longos períodos de enfolhamento, formam um ambiente altamente favorável para o desenvolvimento e manutenção dos fungos. Assim, o cultivo de plantas perenes requer que o produtor proteja tanto a safra de frutos anual quanto mantenha a planta saudável por muitos anos a fim de garantir sua capacidade produtiva mesmo na presença do patógeno. Estas são as razões pelas quais o controle de doenças fúngicas em culturas perenes tropicais constitui um dos maiores desafios (DRENTH; GUEST, 2016).

O gênero *Colletotrichum* foi recentemente incluído na lista dos dez mais importantes fungos fitopatogênicos do mundo, tanto pela sua relevância científica, como pela importância econômica (DEAN et al., 2012). Espécies de *Colletotrichum* infectam mais de 30 gêneros de plantas (DAMM et al., 2012a, b; FARR; ROSSMAN, 2017), causando antracnose e doenças de pós-colheita em culturas tropicais, subtropicais e temperadas, dentre as quais as frutíferas são as mais afetadas (CANNON et al., 2012; DEAN et al., 2012), tais como cajueiros, mamoeiros, videiras, citros, abacateiros, mangueiras, goiabeiras, dentre outras (LOPEZ; LUCAS, 2010; MAHARAJ; RAMPERSAD, 2012; UDAYANGA et al., 2013; YAN et al., 2015; AIELLO et al., 2015; HUNUPOLAGAMA et al., 2015; BRAGANÇA et al., 2016; PARDO-DE LA HOZ et al., 2016).

A diversidade das estratégias de sobrevivência e ciclos de vida de espécies de *Colletotrichum* são características responsáveis pela sua alta complexidade taxonômica (SHARMA; SHENOY, 2016). Por este motivo, recentemente foi estabelecida a reclassificação de espécies deste gênero de fungo, a qual encontra-se em transição (CANNON et al., 2012; DAMM et al., 2012a, b, 2013, 2014; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). Até o momento, foram reconhecidas 218 espécies de *Colletotrichum*, sendo a maioria destas subdivididas em 12 complexos de espécies e,

outras, consideradas espécies individuais (JAYAWARDENA et al., 2016b; LIU et al., 2016b; DOUANLA-MELI; UNGER, 2017; GUARNACCIA et al., 2017).

Em citros, 23 espécies de *Colletotrichum* já foram descritas no mundo, sendo 20 associadas a antracnose e quatro à Podridão Floral dos citros (PFC) (HUANG et al., 2013; RAMOS et al., 2016; DOUANLA-MELI; UNGER, 2017). No Brasil, sob condições de temperatura favoráveis ao fungo, a PFC pode atingir até 100% de incidência nos pomares e pode acarretar até 80% de perda de produção (GOES; KUPPER, 2002; GOES et al., 2008; SOARES-COLLETTI; ALVARES; SENTELHAS, 2016). Dentre as várias espécies de *Colletotrichum* relatadas em citros, somente *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* e *C. abscissum* foram associadas a PFC no Brasil (BROWN et al., 1996; LIMA et al., 2011; SILVA et al., 2017). Já com relação a outras frutíferas, no país, foram relatadas nove espécies de *Colletotrichum* ocasionando sintomas de antracnose em mangueiras, goiabeiras e mamoeiros (VIEIRA; NASCIMENTO; MICHEREFF, 2013; LIMA et al., 2013a, b, 2014; VIEIRA et al., 2014; BRAGANÇA et al., 2016; STRACIERI et al., 2016).

O impacto das doenças ocasionadas por *Colletotrichum* em frutíferas tropicais gera um problema em larga escala relacionado ao crescente aumento no trânsito de materiais vegetais e comércio dentro e entre países tropicais, onde há maior biodiversidade de fungos fitopatogênicos. Desta forma, conhecer as espécies de fungos associadas às principais doenças agrícolas em cada país contribui para que medidas protetivas sejam alocadas precisamente em cada área (DRENTH; GUEST, 2016). Tendo isto em vista, o objetivo deste trabalho foi conhecer as espécies de *Colletotrichum* atualmente associadas aos citros no estado de São Paulo e, adicionalmente, compará-las com espécies encontradas em outras frutíferas cultivadas próximas aos pomares cítricos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Colletotrichum*: um gênero de fungo multi-hospedeiro em plantas

O gênero *Colletotrichum*, descrito por Corda (1831), pertence à família Glomerellaceae (Glomerellales, Sordariomycetes), sendo este o único membro desta família (MAHARACHCHIKUMBURA et al., 2015, 2016). Fungos deste gênero são organismos complexos e muito adaptados ao seu principal hospedeiro, as plantas (SERFLING; WOHLRAB; DEISING, 2007; O'CONNELL et al., 2012, GAN et al., 2016; MASCARIN et al., 2016; BARONCELLI et al., 2017). Espécies de *Colletotrichum* colonizam uma grande variedade de plantas e podem obter nutrientes de forma necrotrófica, hemibiotrófica e endofítica, além de poderem comportar-se como biotróficos (PRUSKY et al., 2013; HYDE et al., 2014; JAYAWARDENA et al., 2016a).

Muitas espécies do fungo são utilizadas como modelos para estudos do ciclo de vida hemibiotrófico (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; MÜNCH et al., 2008; O'CONNELL et al., 2012; VARGAS et al., 2012). Fungos hemibiotróficos inicialmente infectam o hospedeiro por meio de uma breve fase biotrófica, a qual está associada com a produção de uma grande hifa intracelular primária que pode infectar as células sem causar a sua morte. Após a infecção primária, o fungo sofre uma transição para a fase necrotrófica, durante a qual pequenas hifas secundárias são produzidas e se espalham através do tecido do hospedeiro causando lesões necróticas (PERFECT et al., 1999; O'CONNELL et al., 2012). Na transição do patógeno de biotrófico para necrotrófico, muitos genes são transcritos sucessivamente. Efetores e enzimas do metabolismo secundário são induzidos antes da penetração e durante a fase biotrófica, enquanto muitas hidrolases e transportadores são superexpressos no momento da troca para a fase necrotrófica (O'CONNELL et al., 2012).

Fungos do gênero *Colletotrichum* utilizam diferentes estratégias para invadir a parede celular das plantas e utilizam os sinais do hospedeiro, derivados da percepção da pré-invasão, para reprogramar a sua expressão gênica e alterar o seu ciclo de vida para necrotrófico (O'CONNELL et al., 2012). Embora as espécies deste gênero estejam melhor adaptadas a hospedeiros específicos (O'CONNELL et al., 2012), na

maioria das vezes, não possuem especificidade de hospedeiro, podendo infectar e ocasionar sintomas, mesmo que mais brandos, em plantas que não fazem parte da sua predileção (PERES et al., 2008; PHOULIVONG; MCKENZIE; HYDE, 2012; SOUZA et al., 2013; SAKINAH; SUZIANI; LATIFFAH, 2014; BRAGANÇA et al., 2016).

Espécies de *Colletotrichum* podem infectar mais de 30 gêneros de plantas (PERFECT et al., 1999; DAMM et al. 2012a, b; FARR; ROSSMAN, 2017), causando doenças em pré- e pós-colheita em culturas tropicais, subtropicais e temperadas (HYDE et al., 2009b; CANNON et al., 2012; DEAN et al., 2012), tais como: inhame (ABANG et al., 2003), pimenta (THAN et al., 2008), banana (ZAKARIA et al., 2009), gramíneas (CROUCH et al., 2009), milho (CROUCH; BEIRN, 2009), caju (LOPEZ; LUCAS, 2010), orquídeas (YANG et al., 2011), mamão (MAHARAJ; RAMPERSAD, 2012), café (UDAYANGA et al., 2013), morango (UDAYANGA et al., 2013), abacate (HUNUPOLAGAMA et al., 2015), citros (AIELLO et al., 2015), uva (YAN et al., 2015), oliveiras (SCHENA et al., 2014), goiaba (BRAGANÇA et al., 2016), manga (PARDO-DE LA HOZ et al., 2016), soja (ROGÉRIO et al., 2017) e algodão (MORENO-MORAN; BURBANO-FIGUEROA, 2017).

Muitas espécies de *Colletotrichum*, caracterizadas como endofíticas, têm sido isoladas de tecidos assintomáticos de angiospermas, coníferas, samambaias, líquens e gramíneas (BUSSABAN et al., 2001; LIU; XIE; DUAN, 2007; MANAMGODA et al., 2013; TAO et al., 2013; HYDE et al., 2014). No entanto, mesmo em culturas nas quais este gênero de fungo possui conhecido potencial patogênico, é possível encontrá-lo em tecidos sadios (PERES et al., 2005). Assim, salienta-se que espécies endofíticas de *Colletotrichum* podem ser patógenos latentes (LU et al., 2007; LIU et al., 2015). Além de patogênicas e endofíticas, espécies deste fungo podem ser encontradas em tecidos vegetais mortos e, portanto, serem saprofíticas (PHOTITA et al., 2005; JAYAWARDENA et al., 2016b). Algumas espécies de *Colletotrichum* podem ser patogênicas para humanos (SHIVAPRAKASH et al., 2011; NATARAJAN et al., 2013; SQUISSATO et al., 2015) e insetos, tais como *C. fiorinae* (DAMM et al., 2012a) e *C. nymphaeae* (MASCARIN et al., 2016). Além disso, *C. acutatum* foi relatado, inclusive, colonizando ecossistemas marinhos (MANIRE et al., 2002; NAMIKOSHI et al., 2002).

A diversidade das estratégias de sobrevivência e ciclos de vida do gênero *Colletotrichum* são características notáveis deste fungo e responsáveis pela sua alta diversidade genética e complexidade taxonômica (SHARMA; SHENOY, 2016). Por este motivo, este gênero de fungo tem passado por frequentes mudanças taxonômicas nas últimas décadas, com fusão e adição de muitas espécies (CANNON; BUDDIE; BRIDGE, 2008; CAI et al., 2009; DAMM et al., 2009, 2012a, b, 2013, 2014; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; LIU et al., 2014, 2015, 2016a, b). Tais mudanças se devem, inclusive, à falta de caracteres morfológicos distintos entre as espécies, os quais foram inicialmente utilizados para sua identificação (VON ARX, 1957; SUTTON, 1980, 1992; CAI et al., 2009; HYDE et al., 2009 a,b; CANNON et al., 2012). A falta de entendimento sobre a inespecificidade de hospedeiro do fungo também levou à classificação errônea de muitas espécies, que anteriormente foram nomeadas de acordo com o hospedeiro dos quais provieram (JOHNSTON et al., 2005; CAI et al., 2009).

O conceito taxonômico para classificação de espécies de *Colletotrichum* encontra-se em fase de transição, no entanto, muitos clados monofiléticos principais ou complexos de espécies já foram definidos (CANNON et al., 2012; DAMM et al., 2012a, b, 2013, 2014; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). Um epítipo de uma espécie de *Colletotrichum* deve ter características morfológicas similares à descrição original ou ao holotipo, e ser originário de uma mesma região geográfica e hospedeiro (ARIYAWANSA et al., 2014). Assim, a identificação de epi- ou neotipos de espécies de *Colletotrichum* deve seguir critérios estabelecidos pelo *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plants* (HAWKSWORTH et al., 2011).

2.2. O gênero *Colletotrichum*: espécies e complexos de espécies

Os complexos de espécies ou *sensu lato*, designações amplamente utilizadas para classificação de espécies do gênero *Colletotrichum*, possuem a finalidade de agregar o crescente número de espécies descritas e que formam clados subgenéricos monofiléticos (BARONCELLI et al., 2017). Já a denominação *sensu stricto* é dada às espécies de *Colletotrichum* únicas que formam clados monofiléticos

compostos por apenas uma espécie (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; MCNEILL et al., 2012; HYDE et al., 2014).

Até recentemente, o gênero *Colletotrichum* contava com 189 espécies reconhecidas, subdivididas em 11 complexos, e 23 espécies únicas (JAYAWARDENA et al., 2016b). No entanto, até o presente momento, este gênero de fungo já conta com outras espécies em adição às aquelas compiladas por Jayawardena et al. (2016b), sendo estas *C. sichuanensis* (LIU et al., 2016b), *C. citri-maximae* (DOUANLA-MELI; UNGER, 2017), *C. catinaense*, *C. limonicola*, *C. helleniense* e *C. hystricis* (GUARNACCIA et al., 2017). Assim, 12 complexos de *Colletotrichum* são atualmente reconhecidos: *Acutatum*, *Boninense*, *Caudatum*, *Dematium*, *Destructivum*, *Gigasporum*, *Gloeosporioides*, *Graminicola*, *Orbiculare*, *Spaethianum*, *Truncatum* (JAYAWARDENA et al., 2016b) e o complexo *Cliviae*, recentemente proposto por Douanla-Meli, Unger e Langer (2017).

O complexo *Acutatum* é composto por 34 espécies, incluindo *C. acutatum* e *C. abscissum*. Os membros deste complexo frequentemente causam podridão em frutos e possuem conídios com pelo menos uma das extremidades aguda (DAMM et al., 2012b). São considerados cosmopolitas e estão associados a mais de 90 gêneros de plantas (BARONCELLI et al., 2017), embora algumas espécies sejam patogênicas a hospedeiros específicos (TALHINHAS; BARONCELLI; LE FLOCH, 2016).

O complexo *Boninense* é composto por *C. boninense*, *C. karstii* e outras 17 espécies que possuem conídios com uma cicatriz basal proeminente e células conidiogênicas com considerável espessamento periclinal (DAMM et al., 2012a). As espécies deste complexo são endofíticas a uma ampla gama de hospedeiros e são frequentemente associadas a sintomas de antracnose em folhas e frutos (DAMM et al., 2012a).

O complexo *Caudatum* é constituído por sete espécies, sendo estes *C. alcorni*, *C. baltimoreense*, *C. caudasporum*, *C. caudatum*, *C. duyunensis*, *C. ochracea*, *C. somersetense* e *C. zoysia* (JAYAWARDENA et al., 2016b). Estas espécies podem ser distinguíveis das demais pela presença de um apêndice filiforme no ápice dos conídios (CROUCH, 2014).

O complexo *Cliviae* foi recentemente proposto para englobar quatro espécies, *C. aracearum*, *C. cliviae*, *C. orchidearum* e *C. sichuanensis*, que podem ser tanto fitopatogênicas quanto endofíticas (DOUANLA-MELI; UNGER; LANGER, 2017).

O complexo *Dematium* engloba *C. dematium* e outras dez espécies, incluindo *C. lineola* que é o epítipo do gênero *Colletotrichum* (DAMM et al., 2009). Os conídios das espécies deste complexo apresentam a base truncada e uma parte central quase reta que se curva abruptamente em direção ao ápice, o que lhes confere um formato quase angular. As espécies deste complexo são em sua maioria saprófitas (DAMM et al., 2009).

O complexo *Destructivum* é composto por *C. destructivum* e mais 14 espécies, as quais são principalmente patogênicas às plantas e apresentam ciclo de vida hemibiotrófico (DAMM et al., 2014). Espécies deste complexo são caracterizadas por apresentarem conídios ligeiramente curvados devido às suas extremidades unilateralmente afuniladas e pelo acérvulo pequeno, quase imperceptível (DAMM et al., 2014).

O complexo *Gigasporum* é formado por oito espécies, *C. arxii*, *C. citri-maximae*, *C. gigasporum*, *C. magnisporum*, *C. pseudomajus*, *C. radices*, *C. thailandicum* e *C. vietnamense* (LIU et al., 2014; DOUANLA-MELI; UNGER, 2017), as quais são caracterizadas pela formação de conídios grandes ($> 20 \mu\text{m}$) (LIU et al., 2014). As espécies deste complexo são comumente encontradas como endofíticas, mas também podem ser patogênicas para plantas (RAKOTONIRIANA et al., 2013; LIU et al., 2014; HUNUPOLAGAMA et al., 2015) e humanos, no caso da espécie *C. gigasporum* (CASTRO et al., 2001; LIU et al., 2014).

O complexo *Gloeosporioides* engloba *C. gloeosporioides* e outras 37 espécies intimamente relacionadas que podem ser tanto patogênicas (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012) quanto endofíticas (LIU et al., 2015). Os conídios destas espécies de fungos são cilíndricos, com as extremidades arredondadas que se afunilam ligeiramente em direção à base (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). Espécies deste complexo, tais como *C. gloeosporioides*, *C. siamense* e *C. asianum* são cosmopolitas e infectam uma ampla gama de hospedeiros (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; KRISHNAPILLAI; WIJERATNAM, 2014; UDAYANGA et al., 2013; SHARMA et al., 2015; SHARMA; PINNAKA; SHENOY, 2015; JAYAWARDENA et al., 2016b). No

entanto, a espécie mais comumente isolada é *C. gloeosporioides* (RAMOS et al., 2016), a qual foi originalmente descrita em citros na Itália (PENZIG, 1882). *C. murrayae*, também pertencente a este complexo, está associada à mancha foliar de *Murraya* spp. e a sintomas de antracnose em folhas de citros (PENG et al., 2012) e em folhas e pecíolos de morangueiro (HAN et al., 2016).

O complexo Graminicola é composto por *C. graminicola* e 14 espécies associadas apenas a certas gramíneas (família Poaceae) (CANNON et al., 2012; JAYAWARDENA et al., 2016b). As espécies deste complexo possuem conídios amplamente falcados (CROUCH et al., 2009).

O complexo Orbiculare engloba oito espécies, incluindo *C. orbiculare*, que são restritas a hospedeiros de gêneros e espécies herbáceas, e possuem ciclo de vida hemibiotrófico (GOODWIN, 2001; DAMM et al., 2013). Os conídios destas espécies são retos e relativamente largos e curtos. Os apressórios são pequenos e possuem contorno simples (DAMM et al., 2013).

O complexo Spaethianum inclui *C. spaethianum* e outras nove espécies que formam um apressório complexo (DAMM et al., 2009).

Por último, o complexo Truncatum é formado pelas espécies patogênicas *C. truncatum*, *C. jasiminigenum*, *C. fusiforme* e *C. curcumae* (DAMM et al., 2009; WIKKE et al., 2011), as quais apresentam conídios muito curvados no ápice, com base truncada e aguda, e apressórios agrupados (DAMM et al., 2009).

2.3. *Colletotrichum* em citros (*Citrus* spp.)

A indústria dos citros é uma das mais importantes do mundo (FAO, 2016). O Brasil é o maior produtor mundial de suco e fruta fresca de laranja (USDA, 2017), com mais de 800.000 ha em produção e rendimento médio superior a 17 milhões de toneladas (IBGE, 2015; USDA, 2017). Desta forma, o estudo e o conhecimento de todos os patógenos que afetam os citros são de suma importância (GUARNACCIA et al., 2017).

Análises polifásicas revelaram 20 espécies de *Colletotrichum* associadas aos citros pertencentes a seis complexos: (i) Boninense, incluindo *C. boninense*, *C. citricola*, *C. constrictum*, *C. karstii*, *C. novae-zelandiae*, *C. catinaense* e *C. limonicola*

(DAMM et al., 2012b; HUANG et al., 2013; GUARNACCIA et al., 2017); (ii) *Acutatum*, sendo as espécies encontradas em citros *C. abscissum*, *C. acutatum*, *C. citri*, *C. godetiae*, *C. johnstonii*, *C. limetticola* e *C. simmondsii* (DAMM et al., 2012a; PENG et al., 2012; HUANG et al., 2013; CROUS et al., 2015); (iii) *Truncatum*, espécie *C. truncatum* (DAMM et al., 2009); (iv) *Gloeosporioides*, englobando as espécies *C. fructicola*, *C. gloeosporioides*, *C. kahawae* subsp. *ciggaro*, *C. communis* sp. nov., *C. helleniense*, *C. hystericis* e *C. siamense* (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; HUANG et al., 2013; SHARMA; PINNAKA; SHENOY, 2015; PERRONE et al., 2016; LIU et al., 2016; GUARNACCIA et al., 2017); (v) *Gigasporum*, espécie *C. citri-maximae* (DOUANLA-MELI; UNGER, 2017); e (vi) *Cliviae*, espécie *C. cliviae* (DOUANLA-MELI; UNGER; LANGER, 2017). Outras três espécies individuais de *Colletotrichum*, *C. brevisporum*, *C. tropicicola* e *C. queenslandicum*, também já foram relatadas em citros (HUANG et al., 2013; KUNTA et al., 2017).

O gênero *Colletotrichum* é responsável por três importantes doenças que acometem os citros no mundo: (i) a antracnose em pré e pós-colheita, cujos sintomas são murcha dos ponteiros, manchas foliares e podridão de frutos, ocasionada por espécies dos complexos *Gloeosporioides*, *Boninense*, *Acutatum* e *Truncatum* (HUANG et al., 2013; HYDE et al., 2014; RHADEM; TAYLOR, 2016), e pela espécie *C. queenslandicum*, recentemente relatada nos Estados Unidos (KUNTA et al., 2017); (ii) a antracnose do limão Galego (*Citrus aurantifolia*), que afeta flores, folhas, ramos e frutos, nos quais o patógeno produz lesões necróticas que podem ser pequenas ou atingir inflorescências e brotações por completo, e está associada à espécie *C. limetticola* (PERES et al., 2008; DAMM et al., 2012a); e (iii) a Podridão Floral dos citros (PFC), que é a principal doença causada por *Colletotrichum* que afeta os citros no Brasil (GOES et al., 2008; SILVA-JUNIOR et al., 2014).

No Brasil, sob condições favoráveis, a PFC pode ocasionar perdas de até 80% na produção de frutos (GOES; KUPPER, 2002; GOES et al., 2008). Um estudo agroclimático realizado no estado de São Paulo mostrou que, sob temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e precipitação acumulada de 40 mm, entre o pico de floração e 50% de flores restantes, a incidência da PFC pode chegar a 10%. No entanto, sob as mesmas condições, se a precipitação acumulada for de 80 mm, a incidência da doença pode atingir até 60%. Estes dados refletem a característica explosiva da PFC sob condições

ambientais favoráveis ao fungo (SOARES-COLLETTI; ALVARES; SENTELHAS, 2016).

Inicialmente, a PFC foi atribuída à espécie *C. acutatum* (BROWN et al., 1996). Posteriormente, a espécie *C. gloeosporioides*, comumente encontrada como endofítica de citros (HUANG et al., 2013; SOUZA et al., 2013; RAMOS et al., 2016; DOUANLA-MELI; UNGER, 2017), teve sua patogenicidade comprovada e também passou a ser considerada agente causal da doença (LIMA et al., 2011; SOUZA et al., 2013; SILVA-JUNIOR et al., 2014). Recentemente, *C. abscissum* foi relatado ocorrendo em pomares de citros no estado de São Paulo (CROUS et al., 2015) e, um estudo realizado por Silva et al. (2017), indicou que esta espécie e *C. gloeosporioides* foram as únicas isoladas de sintomas de PFC neste estado. No entanto, testes de patogenicidade realizados em plantas cítricas em Portugal comprovaram que, mesmo advindo de outros órgãos da planta, *C. karstii* pode ser patogênico para flores e folhas de laranjeiras doce, tangerinas e limoeiros (RAMOS et al., 2016), sendo esta mais uma espécie passível de ser associada à PFC.

Todas as variedades de laranjeiras doces cultivadas no estado de São Paulo são suscetíveis às espécies de *Colletotrichum* que ocasionam PFC (GOES et al., 2008). O patógeno infecta as pétalas de citros, causando lesões necróticas de coloração pêssego a alaranjada que podem se expandir rapidamente em condições favoráveis de temperatura (TIMMER; BROWN, 2000; TIMMER; PERES, 2015). A penetração das hifas nas pétalas pode ocorrer intra e intercelularmente, e através dos estômatos, sendo a penetração intercelular a mais frequente (MARQUES et al., 2013). Grupos inteiros de flores podem ser atacados deixando toda a inflorescência com pétalas de coloração laranja a amarronzada (TIMMER; PERES, 2015). Após a queda das pétalas, o fruto recém-formado apresenta coloração amarelo pálido e cai, mas o cálice permanece retido ao ramo, o que diferencia a PFC da queda fisiológica de frutos (TIMMER; BROWN, 2000; LIMA et al., 2011).

O ciclo epidemiológico da doença é mantido pela dispersão de um número abundante de conídios formado nos acérvulos, na superfície das flores infectadas, que são dispersos por gotículas de água para flores saudáveis (TIMMER et al., 1994). O fungo infecta as flores rapidamente e produz uma infecção extensiva em 48 horas e acérvulos em 5 dias (AGOSTINI et al., 1992; ZULFIQAR; BRLANSKY; TIMMER,

1996). Assim, enquanto houver flores no pomar e condições ambientais favoráveis a doença se espalha pelas plantas.

Os conídios depositados na superfície dos tecidos vegetais formam apressórios e infecções quiescentes que servem como estruturas de sobrevivência durante os períodos em que as flores estão ausentes. Quando as flores se encontram disponíveis e expostas à umidade, os apressórios germinarão e produzirão conídios secundários para infectá-las (AGOSTINI; TIMMER 1994; ZULFIQAR; BRLANSKY; TIMMER, 1996; MACKENZIE et al., 2009). Desta forma, as primeiras pétalas produzidas na primavera, provavelmente, estimulam a germinação de apressórios e a formação de conídios para iniciar um novo ciclo de infecção (TIMMER; PERES, 2015).

Em laranjeiras doces, o fungo exerce o ciclo de vida necrotrófico nas flores e biotrófico nas folhas (PERES et al., 2005; MACKENZIE et al., 2009). O fungo se reproduz primariamente nas pétalas e, portanto, não se reproduz na ausência das mesmas (ZULFIQAR; BRLANSKY; TIMMER, 1996; TIMMER; PERES, 2015). O controle da PFC se dá pela união de métodos culturais, tais como florescimento compacto e em um curto período de tempo, aplicação de fungicidas efetivos e modelos preditivos de temperatura, umidade e produção de inóculo (GOES et al., 2008; TIMMER; PERES, 2015; SOARES-COLLETTI; ALVARES; SENTELHAS, 2016).

2.4. Antracnose em frutíferas

A antracnose é uma doença que engloba sintomas ocasionados por diferentes fungos, dentre os quais destaca-se o gênero *Colletotrichum*, que infecta diversas espécies de frutíferas tropicais, subtropicais e temperadas, nas quais pode ocasionar prejuízos tanto em pré- como em pós-colheita (PERES et al., 2002; LOPEZ; LUCAS, 2010; NGUYEN et al., 2010).

Em mangueiras (*Mangifera indica* L.), os sintomas de antracnose ocorrem em todos os órgãos da parte aérea da planta. Nas folhas, as lesões mostram-se salientes, necróticas e escuras. Na panícula, os sintomas podem ocorrer tanto no ramo da inflorescência quanto nas flores individuais. Os frutos, quando infectados no estágio inicial de desenvolvimento, geralmente são abortados. Já em pós-colheita, os sintomas da doença são caracterizados por lesões de coloração marrom a preta e

deprimidas, podendo ocupar de alguns milímetros a vários centímetros (ARAUZ, 2000). O principal agente causal de antracnose em mangueiras é a espécie *C. gloeosporioides* (SANTOS FILHO; MATOS, 2003; RIBEIRO, 2005) e, em menor frequência, *C. acutatum* (PERES et al., 2005; RIVERA-VARGAS et al., 2006; SOUZA et al., 2013). No nordeste brasileiro, outras seis espécies de *Colletotrichum*, *C. cliviae*, *C. dianesei*, *C. endomangiferae*, *C. fructicola*, *C. tropicale* e *C. karstii*, estão associadas a esta doença (LIMA et al., 2013a, b, 2014; VIEIRA et al., 2014). Além destas espécies, *C. asianum* também foi relatada ocasionando sintomas de antracnose no Brasil, Austrália, Panamá, Filipinas, Colômbia, Japão, Tailândia (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; LIMA et al., 2013a, 2014; VIEIRA et al., 2014; PARDO-DE LA HOZ et al., 2016), África do Sul (SHARMA et al., 2015) e Sri Lanka (KRISHNAPILLAI; WIJERATNAM, 2014). Já as espécies *C. simmondsii* e *C. fiorinae* foram relacionadas a sintomas de antracnose em mangueiras na Austrália (DAMM et al., 2012a, b), *C. siamense* na Índia e Colômbia (SHARMA et al., 2013; PARDO-DE LA HOZ et al., 2016), *C. fragariae*, *C. fructicola*, *C. jasmine-sambac*, *C. dianesei* e *C. communis* sp. nov. na Índia (SHARMA et al., 2013; SHARMA; PINAKKA; SHENOY, 2015), *C. theobromicola* na Malásia (ZAKARIA et al., 2015) e *C. kahawae* subsp. *ciggaro* na Itália (ISMAIL et al., 2015).

Em goiabeiras (*Psidium guajava* L.), a antracnose é caracterizada por lesões necróticas nos frutos e folhas e, também pode ocasionar a morte de ramos (LIM; MANICOM, 2003). *C. gloeosporioides* também é considerado o principal agente causal de antracnose em goiabeiras no mundo (FARR; ROSSMAN, 2012). No Brasil, as espécies *C. abscissum* e *C. nymphaeae*, do complexo *Acutatum*, também estão associadas a sintomas de antracnose nesta cultura (BRAGANÇA et al., 2016). Teste de patogenicidade demonstraram que *C. asianum*, *C. dianesei*, *C. fructicola*, *C. karstii*, *C. tropicale* (LIMA et al., 2014) e *C. paranaense* (BRAGANÇA et al., 2016) podem causar lesões em frutos de goiabeiras no país. As espécies *C. guajavae* (DAMM et al., 2012), *C. communis* sp. nov., *C. dianesei* (SHARMA; PINAKKA; SHENOY, 2015) estão associadas a sintomas da doença em goiabeiras na Índia e, *C. psidii* na Itália (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). No Laos e Tailândia, as espécies *C. asianum*, *C. fructicola*, *C. siamense* e *C. simmondsii* são capazes de ocasionar sintomas de

antracnose em goiabas quando inoculadas (PHOULIVONG; MCKENZIE; HYDE, 2012).

Em mamoeiros (*Carica papaya* L.), a antracnose tem sido relatada como uma das principais responsáveis por perdas substanciais na produção do fruto em vários países, incluindo Brasil, Havaí, África e Ásia (UCHIDA; KADOOKA; ARAGAKI, 1996; PAULL et al., 1997; MAHARAJ; RAMPERSAD, 2012). Nesta cultura, além da antracnose, espécies de *Colletotrichum* também podem causar a mancha chocolate (ALVAREZ; NISHIJIMA, 1987; BAILEY; JEGGER, 1992). As infecções ocorrem principalmente nos frutos, em qualquer fase de desenvolvimento (PRUSKY, 1996), porém os sintomas se expressam na fase de maturação, com presença de lesões necróticas e deprimidas (RAMPERSAD, 2011). Além dos frutos, o fungo pode ocasionar lesões nas hastes, mancha foliar, desfolha e tombamento de plântulas (TRUJILLO; OBRERO, 1969; UCHIDA et al., 1996).

À exemplo das demais culturas, em mamoeiros, os sintomas de antracnose eram associados principalmente a *C. gloeosporioides* (MORTON, 1987). No entanto, atualmente, várias outras espécies do fungo podem ocasionar sintomas da doença nesta cultura, tais como: *C. acutatum*, *C. queenslandicum*, *C. fioriniae*, e *C. simmondsii* na Austrália (SIMMONDS, 1968; PHOULIVONG; MCKENZIE; HYDE, 2012; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012); *C. siamense* na África do Sul (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012), *C. truncatum* na Flórida (TARNOWSKI; PLOETZ, 2010), México (ROJO-BÁEZ et al., 2016), Costa Rica (MOLINA-CHAVES; GÓMEZ-ALPÍZAR; UMAÑA-ROJAS, 2017), Japão (YAGUCHI et al., 1995), Tailândia (SEPIAH, 1994) e Trinidad (RAMPERSAD, 2011; MAHARAJ; RAMPERSAD, 2012) e na Coreia (AKTARUZZAMAN et al. 2017); *C. capsici* no México (TAPIA-TUSSELL et al., 2008), EUA (TARNOWSKI; PLOETZ, 2010), Trinidad e Tobago (RAMPERSAD, 2011); *C. magnum* e *C. cliviae* no México (TAPIA-TUSSELL; CORTÉS-VELÁZQUEZ; VALENCIA-YAH, 2016; DOUANLA-MELI; UNGER; LANGER, 2017) e Costa Rica (MOLINA-CHAVES; GÓMEZ-ALPÍZAR; UMAÑA-ROJAS, 2017); *C. fructicola* e *C. salsoe* na Índia (SAINI; GUPTA; ANANDALAKSHMI, 2016; 2017). No Brasil, até o momento, já foram relatadas quatro espécies do fungo associadas a sintomas de antracnose em frutos de mamoeiros: *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* (ANDRADE et al., 2007; STRACIERI et al., 2016), *C. magna* (NASCIMENTO et al., 2010), *C.*

brevisporum (VIEIRA; NASCIMENTO; MICHEREFF, 2013). Testes de patogenicidade demonstraram que *C. asianum*, *C. dianesei*, *C. fructicola*, *C. karstii* e *C. tropicale* são capazes de ocasionar sintomas da doença em mamão, no país (LIMA et al., 2014).

Em videiras, espécies de *Colletotrichum* podem causar antracnose (SANTOS et al., 2017) e podridão da uva madura (WHITELAW-WECKERT et al., 2007). Os sintomas de antracnose em videiras ocorrem sobretudo em tecidos jovens, incluindo caules, folhas, pecíolos, gavinhas, ráquis e bagas. Os primeiros sintomas da doença se manifestam na forma de numerosas manchas, circulares ou angulares, levemente deprimidas, de coloração marrom escuro, presentes em toda a parte aérea das plantas (THIND, 2015). À medida que a doença avança, as lesões podem coalescer e necrosar os caules, levando à desfolha precoce e atraso no amadurecimento das bagas (SANTOS et al., 2017). A antracnose em videiras pode ser causada tanto por *Colletotrichum* quanto pelo fungo *Elsinoë ampelina* (KUMAR; THIRD; MOHAN, 1994; PEDRO JÚNIOR; PEZZOPANE; MARTINS, 1999; POOLSAWAT et al., 2010; CARISSE; LEFEBVRE, 2011; SANTOS et al., 2017). No Brasil, a doença afeta principalmente videiras das regiões sul e sudeste do país e é ocasionada por espécies do complexo Gloesporioides (*C. gloeosporioides*, *C. fructicola*, *C. siamense* e *C. viniferum*), Acutatum (*C. nymphaeae*), Truncatum (*C. truncatum*) e Cliviae (*C. cliviae*) (SANTOS et al., 2017). Em países da Ásia e Europa, a doença está associada às espécies *C. aenigma*, *C. fructicola* e *C. hebeiense* do complexo Gloesporioides (PENG et al., 2013; YAN et al., 2015); *C. clavatum* e *C. godetiae* do complexo Acutatum (BARONCELLI et al., 2014; ZANG et al., 2016; ZAPPARATA et al., 2017), e *C. capsici* (SAWANT et al., 2012a, b).

Já a podridão da uva madura atinge diretamente as bagas, que são suscetíveis ao patógeno em todos os estádios de desenvolvimento, porém os sintomas aparecem somente com o amadurecimento dos frutos (WHITELAW-WECKERT et al., 2007). O sintoma inicial da doença é marcado pela perda do turgor das bagas que, posteriormente, se desprendem dos cachos infectados, levando à queda de produtividade (MELKSHAM; WECKERT; STEEL, 2002). Além disso, a infecção pelo patógeno leva ao amargor das bagas, o que prejudica a qualidade do vinho (WHITELAW-WECKERT et al., 2007). No Brasil, EUA, Coréia e China, os sintomas desta doença estão associados às espécies *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*

(SIMMONDS, 1965; KUMMUANG et al., 1996; HONG et al., 2008; LEI et al., 2016). Na Austrália, China e EUA, outras espécies também foram relatadas ocasionando a podridão da uva madura: *C. aenigma*, *C. clidemiae* e *C. viniferum*, do complexo *Gloeosporioides* (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; PAN et al., 2016), *C. acutatum*, *C. citri* e *C. fioriniae*, do complexo *Acutatum* (WHITELAW-WECKERT et al., 2007; HONG et al., 2008; LEI et al., 2016; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; DOYLE et al., 2013), *Colletotrichum* sp., pertencente ao complexo *Cliviae* (LEI et al., 2016) e a espécie *C. capsici* (PAN et al., 2016).

A antracnose é uma das doenças de pós-colheita mais importantes em frutos de bananeiras (*Musa* spp.), comumente causada por *C. musae*, que infecta frutos verdes feridos e também frutos maduros (MEREDITH, 1960; STOVER; SIMMONDS, 1987; SAKINAH; SUZIANI; LATIFFAH, 2014). Este patógeno também é o principal responsável pela podridão da coroa, podridão apical e podridão da ponta dos frutos (NAZRIYA; DE COSTA; AZHAAR, 2007). No Brasil, além de *C. gloeosporioides*, testes de patogenicidade mostraram que as espécies *C. asianum*, *C. dianesei*, *C. fructicola*, *C. tropicale* e *C. karstii* também podem ocasionar sintomas de antracnose em bananas (COUTO; MENEZES, 2004; ZAKARIA et al., 2009; SU et al., 2011; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; LIMA et al., 2014; SAKINAH; SUZIANI; LATIFFAH, 2014; SHARMA et al., 2015). Na Malásia, Índia, Caribe, México e China, as espécies *C. gloeosporioides* (ZAKARIA et al., 2009; SU et al., 2011; WEIR et al., 2012; SAKINAH et al., 2014; SHARMA et al., 2015), *C. aotearoa* (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; LIU et al., 2013b; TAO et al., 2013; SHARMA et al., 2015; HSIAO et al., 2016), *C. paxtonii* (DAMM et al., 2012b), *C. gigasporum* (RAKOTONIRIANA et al., 2013; LIU et al., 2014) e *C. scovillei* (ZHOU et al., 2017), respectivamente, também estão associadas a podridões em bananas.

Em cajueiros (*Anacardium occidentale* L.), apenas *C. gloeosporioides* foi isolado de sintomas de antracnose no Brasil (LOPEZ; LUCAS, 2010; SERRA et al., 2011) e Moçambique (UACIQUETE; KORSTEN; VAN DER WAALS, 2013), países em que o cultivo do caju é expressivo. Os sintomas da doença se manifestam em folhas e nas castanhas jovens (FREIRE et al., 2002). Infecções severas em plantas adultas resultam em desfolha, morte das inflorescências e posterior necrose e queda das

castanhas imaturas (FREIRE; CARDOSO, 2003; UACIQUETE; KORSTEN; VAN DER WAALS, 2013).

2.5. Caracterização molecular de espécies de *Colletotrichum*

A caracterização genética de espécies de *Colletotrichum* tem sido realizada com base em abordagem polifásica, incluindo análise dos dados genéticos, morfológicos, ecológicos e geográficos, visando estabelecer um sistema de classificação natural para este fungo (CAI et al., 2009; CANNON et al., 2012; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). Análises filogenéticas de sequências gênicas concatenadas e a aplicação do *Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition* (GCPSR) são importantes ferramentas utilizadas para a delimitação de espécies dentro dos complexos (CANNON et al., 2012; CROUS; HAWKSWORTH; WINGFIELD, 2015; LIU et al., 2016).

O sequenciamento da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*), localizada entre as subunidades ribossomais 18S e 28S, é a metodologia mais utilizada para a identificação de fungos, pois está entre os marcadores com maior probabilidade de identificação correta de uma ampla gama de espécies destes microrganismos (HIBBETT et al., 2007). No entanto, atualmente, há certas ressalvas em se utilizar somente esta região para identificação de fungos. Muitas espécies de fungo estreitamente relacionadas filogeneticamente podem diferir umas das outras em apenas um ou poucos nucleotídeos na região ITS. Além disso, encontrar essas variações depende da localização do fragmento sequenciado (KISS, 2012). Em caso de espécies crípticas, como do gênero *Colletotrichum*, o sequenciamento apenas da região ITS pode não ser suficiente para a correta identificação das espécies (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; RAJA et al., 2017). Desta forma, outros genes secundários são utilizados para compor a análise polifásica de espécies de *Colletotrichum*. No entanto, ressalta-se que os genes codificadores de proteínas são difíceis de serem amplificados e sequenciados pois, na maioria das vezes, ocorrem como uma única cópia no genoma ao invés de múltiplas cópias repetidas em *tandem*, como no caso dos genes ribossomais. Assim, nem todas as estirpes de fungo que se

deseja identificar irão apresentar amplificação específica da região gênica de interesse (RAJA et al., 2017).

As análises polifásicas de espécies de *Colletotrichum* podem ser compostas pelo sequenciamento dos seguintes genes: (i) GAPDH (*Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*), gene codificador de uma proteína altamente conservada encontrada na superfície externa das células ou como um produto secretor, podendo desempenhar a função de fator de virulência (SEIDLER, 2013); (ii) ACT (actina), proteína que exerce papel fundamental na exocitose, endocitose, movimentação de organelas e citocinese em fungos, os quais estão ligados à produção de estruturas superiores distintas, tais como fragmentos de actina, cabos e anéis, que geram forças ou servem como guia para o transporte intracelular (BEREPIKI; LICHIOUS; READ, 2011) (iii) CAL (calmodulina), proteína que modela a sinalização intracelular de íons de cálcio e age em diversas vias metabólicas e regulação da expressão gênica (CARVALHO et al., 2003); (iv) CHS-1 (*chitin synthase 1*), enzima que sintetiza quitina, um componente essencial da parede celular e septo de todos os fungos patogênicos (LENARDON; MUNRO; GOW, 2010); (v) HIS3 (*histona 3*) (JAYAWARDENA et al., 2016a); (vi) TUB2 (β -tubulina2), tubulinas são os principais componentes dos microtúbulos que estão envolvidos em muitos processos celulares, como divisão celular e transporte intracelular em organismos eucariotos. Em fungos, β -tubulinas são as moléculas alvo dos fungicidas do grupo dos benzimidazóis (ZHAO et al., 2014); (vii) TEF1 (*translation elongation factor EF-1 alpha*) que é responsável pelo carregamento enzimático de aminoacil-tRNAs para o ribossomo (CONDEELIS, 1995); e (viii) GS (*Glutamine Synthetase*) é a única enzima que sintetiza glutamina que é a principal fonte de nitrogênio para a biossíntese de proteínas e ácidos nucleicos (WAGNER et al., 2013).

Todos os complexos de espécies de *Colletotrichum* podem ser distinguidos entre si apenas pela análise da região ITS (JAYAWARDENA et al., 2016b). No entanto, para a correta distinção das espécies dentro dos complexos, a literatura sugere o sequenciamento de alguns dos genes secundários supracitados. Por exemplo, ITS, GAPDH, TUB2, ACT, CHS-1, GS, HIS3 e CAL são utilizados para identificar espécies dos complexos *Gloeosporioides* e *Acutatum* (LIU et al. 2015;

SHARMA, PINNAKA, SHENOY, 2015; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; JAYAWARDENA et al., 2016 a, b; MARIN-FELIX et al., 2017).

Já para estudos de diversidade genética e dinâmica das populações de microrganismos, o emprego de marcadores moleculares tem sido amplamente utilizado devido ao seu alto nível de precisão e rapidez (SCHAAD et al., 2003; BENALI et al., 2011). Um bom marcador molecular é caracterizado por uma alta variabilidade genética e pela capacidade de gerar dados multilocus a partir do genoma do microrganismo em estudo (ANNE, 2006).

Dentre os marcadores moleculares utilizados, destacam-se os microssatélites que são unidades de repetição de pares de bases do DNA e podem apresentar altas taxas de mutação em relação a outras partes do genoma (NG; TAN, 2015). Também conhecidos como SSRs (*Simple Sequence Repeats*), os microssatélites consistem de pequenas sequências com dois a cinco nucleotídeos de comprimento, repetidas em *tandem*, que são específicas para cada organismo (TAUTZ; RENZ, 1984; NG; TAN, 2015). Em genomas de eucariotos, estas sequências simples são mais frequentes e melhor distribuídas ao acaso. Os ISSRs (*Inter-simple sequence repeats*), por sua vez, são segmentos de DNA flanqueados em ambas as extremidades por sequências microssatélites. Desta forma, na técnica com marcadores ISSRs, fragmentos randômicos do DNA genômico são amplificados por PCR utilizando-se oligonucleotídeos compostos pelas sequências repetitivas homólogas às regiões de microssatélites do genoma. Assim como o AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), os marcadores ISSR são dominantes e produzem resultados reprodutíveis (NG; TAN, 2015). Estes marcadores têm sido amplamente empregados em estudos de diversidade genética de populações de *Colletotrichum* (GRAMAJE et al., 2014; BAGHERABADI; ZAFARI; SOLEIMANI, 2015; SILVEIRA et al., 2016; STRACIERI et al., 2016).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Campus de Jaboticabal. O isolamento dos fungos e os testes de patogenicidade foram realizados no Laboratório de Fitopatologia, do Departamento de Fitossanidade. As técnicas de biologia molecular foram realizadas no Laboratório de Epidemiologia Molecular, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal e a utilização da plataforma de sequenciamento foi concedida pelo Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas e Instituto de Pesquisa em Bioenergia/FCAV.

3.1. Obtenção dos isolados

Os isolados de *Colletotrichum* spp. foram obtidos de flores de plantas cítricas com sintomas de podridão floral dos citros (PFC) e de folhas e frutos cítricos assintomáticos de sete municípios do estado de São Paulo, Bebedouro, Conchal, Itajobi, Matão, Olímpia, Santa Cruz do Rio Pardo e Taquaritinga, sendo uma propriedade amostrada por município. Em algumas propriedades, além dos citros, também foram coletadas amostras de folhas e frutos de outras espécies de frutíferas com ou sem sintomas. Foram coletadas em Matão folhas de mangueiras com sintomas de antracnose, em Taquaritinga folhas assintomáticas de goiabeiras, mangueiras e mamoeiros, e frutos de mamoeiro com sintomas de antracnose e, em Bebedouro, folhas assintomáticas de goiabeira, cajueiro, videira, bananeira e mamoeiro, e frutos de mamoeiro com sintomas de antracnose. Além do estado de São Paulo, foram obtidos outros seis isolados de folhas de laranjeiras 'Pera' de uma propriedade citrícola localizada em Hidrolândia/GO.

Para isolamento de *Colletotrichum*, fragmentos de tecidos vegetais sintomáticos e assintomáticos com cerca de 5 mm² foram desinfestados superficialmente em etanol 70% (v/v) por 30 segundos e em solução de hipoclorito de sódio 0,5% (v/v) por um minuto, seguido de enxágue em água destilada e secagem em papel de filtro esterilizados. A seguir, os fragmentos foram depositados em placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), seguido de incubação

em estufas para B.O.D. a $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por quatro dias. Colônias típicas do fungo foram repicadas para tubos de ensaio contendo meio BDA onde, após o crescimento, o micélio foi recoberto com óleo mineral estéril para a preservação das culturas.

3.2. Extração de DNA

A fim de se obter quantidades suficientes de micélio do fungo para a extração de DNA, todos os isolados com morfologia sugestiva de *Colletotrichum* spp. obtidos foram cultivados em meio de cultura líquido Batata-Dextrose e incubados por sete dias em estufa para B.O.D. a $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Após o período de incubação, a massa miceliana foi peneirada, lavada com água esterilizada e seca em estufa a 50°C por 12 horas.

A massa miceliana seca foi macerada com nitrogênio líquido até a formação de um pó, do qual 0,1 g foram transferidos para tubos eppendorf de 2,0 mL. A extração de DNA foi baseada no protocolo de Kuramae-Izioka (1997), com modificações. Para a lise celular, foram acrescentados aos tubos contendo o micélio macerado 650 μL de tampão de extração de DNA (160 mM de Tris-HCl pH 8.0, 60 mM de EDTA pH 8.0, 20 mM de NaCl e SDS 0,5%). Os tubos foram agitados em vórtex e mantidos em ThermoMixer (Eppendorf) a 65°C por 50 minutos. Após a lise celular, foram acrescentados aos tubos 300 μL de acetato de potássio 5M. A solução foi homogeneizada por inversão e incubada em gelo por 30 minutos. Posteriormente, procedeu-se a centrifugação das amostras a $12000 \times g$ por 10 minutos a 10°C . O sobrenadante translúcido foi então transferido para tubos novos, aos quais foram acrescentados 650 μL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1 v/v). A solução foi agitada vigorosamente em vórtex e centrifugada sob as mesmas condições descritas anteriormente. Após a centrifugação, o sobrenadante foi novamente transferido para outros tubos aos quais foram acrescentados 1000 μL de álcool etílico absoluto para precipitação do DNA que ocorreu a -20°C por 12 horas.

Para obtenção do *pellet* de DNA, a solução contendo álcool etílico absoluto foi centrifugada a $12.000 \times g$ por 20 minutos a 10°C . A fase líquida foi completamente removida e o *pellet* de DNA foi lavado com 1000 μL de álcool etílico 70%, sob nova centrifugação. O *pellet* de DNA foi seco em estufa a 50°C por 30 minutos, e,

posteriormente, suspenso em 60 µL de solução TE 10:1 (10 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 1 mM de EDTA pH 8,0).

A avaliação da quantidade do DNA e da sua qualidade foi realizada com o auxílio de um espectrofotômetro NanoDrop-1000 (Thermo Scientific), medindo-se a absorbância de cada amostra nos comprimentos de onda de 260 e 280 nm. A relação da absorbância entre estes dois comprimentos de onda resulta no valor referente à qualidade do DNA, que se estiver no intervalo de 1,8 a 2,0 caracteriza um DNA de boa qualidade (SAMBROOK; RUSSELL, 2001). Já a integridade do material genético foi observada em gel de agarose 1% (p/v), contendo brometo de etídio (0,5 g/mL), visualizado sob luz UV em equipamento de fotodocumentação GEL DOC XR (BioRad).

3.3. Triagem dos isolados de *Colletotrichum* spp.

3.3.1. PCR espécie-específico

Todos os isolados foram primeiramente submetidos à PCR espécie-específica utilizando-se os oligonucleotídeos CgInt (MILLS; SREENIVASAPRASAD; BROWN, 1992) para *C. gloeosporioides* e Calnt1 ou Calnt2 (SREENIVASAPRASAD et al., 1996) para *C. acutatum*, utilizados em associação com o oligonucleotídeo ITS4 (WHITE et al., 1990). Tais oligonucleotídeos foram inicialmente desenvolvidos para a identificação destas espécies e apresentam alta especificidade, portanto, são comumente utilizados na literatura (MCGOVERN et al., 2012; CIAMPI-GUILLARDI et al., 2013; SAXENA; RAGHUWANSHI; SINGH, 2014; HUNUPOLAGAMA et al., 2015; SILVA et al., 2017). Os isolados que não apresentaram amplificação na triagem inicial foram então submetidos à PCR com os oligonucleotídeos MKCgF/MKCgR (KAMLE et al., 2013), também específicos para o complexo *Gloeosporioides*, segundo a literatura, e com os oligonucleotídeos Col1 (PILEGGI et al., 2009) e ITS4, para amplificação de fungos do complexo Boninense. Os isolados que ainda assim não apresentaram amplificação foram submetidos à PCR para confirmação do gênero *Colletotrichum*, utilizando-se os oligonucleotídeos Coll1F/Coll3Rb (MOSCA et al., 2014) (Tabela 1).

Tabela 1. Oligonucleotídeos iniciadores espécie-específicos utilizados para triagem populacional de isolados sugestivos de *Colletotrichum* spp.

Oligonucleotídeo iniciador	Sequência (5' → 3')	Tamanho do fragmento	Temperatura de anelamento (°C)
CgInt	GGCCTCCCGCCTCCGGGCGG	450	64
CaInt1	CCGGCCCCCACCACGGGGAC	490	66
CaInt2	GGGGAAGCCTCTCGCGG	500	57
Col1	GCCGTCCCCTGAAAAG	500	48
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
MKCgF	TTGCTTCGGCGGGTAGGGTC	380	58
MKCgR	ACGCAAAGGAGGCTCCGGGA		
Coll1F	AACCWGCGGAGGGATCATTA	470	55
Coll3Rb	TCCCTBCGRRTCCCRRTGCG		

3.3.2. Marcadores ISSR

Após a triagem inicial, todos os isolados que apresentaram amplificação para pelos menos um dos conjuntos de oligonucleotídeos foram submetidos à triagem por marcadores ISSR. Foram testados 30 oligonucleotídeos ISSR desenhados para o gênero *Colletotrichum*: P1 ao P22 (RAMPERSAD, 2013), AF80820 ao AF80825 (RATANACHERDCHAI et al., 2010), (TCC)₅ e MR (AFANADOR-KAFURI et al., 2014). Para a triagem dos isolados, foram selecionados dois marcadores, AF80821 (AGA GAG AGA GAG AGA GC) e P9 (CCA)₅, que resultaram em perfis genéticos mais polimórficos para cada um dos complexos de *Colletotrichum* previamente identificados. As reações de PCR com os marcadores ISSR foram compostas por tampão 1X (KCl 50 mM; Tris-HCl 200 mM; pH8,4); 0,2 mM de dNTP's; 1,0 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen); 2 mM de MgCl₂; 5 pmol de oligonucleotídeos, 60 ng de DNA e água pura estéril para 20 µL. As amplificações ocorreram em um termociclador Nexus (Eppendorf), programado para realizar um ciclo a 95°C por três minutos, 35 ciclos a 94°C por 40 segundos, temperatura de anelamento específica para cada oligonucleotídeo por 40 segundos e 72°C por um minuto e, para finalizar, um ciclo a 72°C por 10 minutos. O produto da amplificação das amostras foi visualizado em gel

de agarose 1,7 % sob luz UV em equipamento de fotodocumentação GelDoc XR (BioRad).

O padrão de bandas ISSR dos isolados foi analisado manualmente para obtenção de uma matriz binária, na qual o número 1 foi contabilizado como presença de banda e 0 como ausência. O agrupamento neighbor-joining, pelo método da distância, foi obtido utilizando-se o *software* PAUP 4.0b10 (SWOFFORD, 2002). O dendrograma gerado foi graficamente visualizado e editado pelo *software* TreeGraph 2.3.0 (STÖVER; MÜLLER, 2010).

3.4. Caracterização molecular das populações de *Colletotrichum*

3.4.1. Sequenciamento de DNA

A partir da triagem com os oligonucleotídeos específicos e marcadores ISSR, foram selecionados isolados representativos das populações para a identificação das espécies de *Colletotrichum* por sequenciamento. Inicialmente foi realizado o sequenciamento parcial da região ITS1-5.8S-ITS2, utilizando-se os oligonucleotídeos ITS1/ITS4 (WHITE et al., 1990), e dos genes GAPDH e TUB2, utilizando-se os oligonucleotídeos GDF1/GDR1 (TEMPLETON et al., 1992) e TB2L/TB2R (BUHR; DICKMAN, 1994), respectivamente (Tabela 2).

As reações de amplificação foram compostas por tampão 1X (KCl 50mM, TRIS-HCl 200mM, pH 8,4); 2mM de MgCl₂; 0,2mM de dNTP's; 0,5 U de Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen); 2,5 pmol de cada primer; 40 ng de DNA genômico e água pura estéril para 20 µL. As amplificações ocorreram em um termociclador Nexus (Eppendorf) programado para realizar um ciclo a 95°C por 2 minutos e 30 segundos, 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, temperatura de anelamento dos oligonucleotídeos iniciadores por 30 segundos, e 72°C por 40 segundos, seguido de um ciclo final a 72°C por 10 minutos. Os fragmentos amplificados foram submetidos à PCR de sequenciamento utilizando-se o kit BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems), conforme instruções do fabricante.

O sequenciamento foi realizado por eletroforese de capilar em um sequenciador ABI3130 (Applied Biosystems). Os eletroferogramas gerados foram

submetidos ao pacote de programas Phred/Phrap/Consed (EWING; GREEN, 1998; GORDON; ABAJIAN; GREEN, 1998) para verificação da qualidade de bases e corte das extremidades das sequências, levando-se em consideração bases com qualidade Phred igual ou superior a 20. As sequências qualificadas foram comparadas a outras sequências depositadas no banco de dados do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) por meio da ferramenta BLAST (JOHNSON et al., 2008).

Para obtenção da árvore filogenética, as sequências de cada região gênica dos isolados deste estudo e demais sequências de *Colletotrichum* espécies-tipo (DAMM et al., 2012 a, b; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; LIU et al., 2014) do banco de dados foram alinhadas separadamente utilizando-se as ferramentas MUSCLE (EDGAR, 2004) ou PnpProbs (YONGTAO et al., 2016) com consistência de 3 e 300 passos (Anexo 1). A melhor ferramenta de alinhamento para cada região gênica analisada foi escolhida levando-se em consideração aquela que gerou o menor peso de AIC segundo o critério de informação de Akaike (AIC) (POSADA; BUCKLEY, 2004). O mesmo critério foi levado em consideração para a escolha do melhor modelo evolutivo para as análises filogenéticas.

As sequências das três regiões gênicas alinhadas e concatenadas foram submetidas à análise bayesiana utilizando-se o algoritmo *Markov Chain Monte Carlo* (MCMC) pelo software MrBayes 3.2.3 (RONQUIST; HUELSENBECK, 2003). O modelo evolutivo utilizado foi correspondente ao tipo de substituição 6 e distribuição gamma. Foram realizadas duas corridas independentes com 2.000.000 de gerações, sendo as árvores amostradas a cada 100 gerações. Ao final das análises, obtendo-se desvio padrão inferior a 0,01, 25% das árvores geradas inicialmente foram descartadas. O filograma obtido foi editado graficamente pelo software TreeGraph 2.3.0 (STÖVER; MÜLLER, 2010).

Após a análise da árvore filogenética dos isolados submetidos ao sequenciamento da região ITS e genes GAPDH e TUB2, foram selecionados isolados não identificados precisamente em espécie dentro dos complexos para o sequenciamento de genes adicionais. Para tanto, isolados representativos de cada clado foram submetidos também ao sequenciamento dos genes ACT, CHS-1 e GS, utilizando-se os oligonucleotídeos ACT-512F/ACT-783R (CARBONE; KOHN, 1999),

CHS I-79F/CHS I-354R (CARBONE; KOHN, 1999) e GSF1/GDR1 (STEPHENSON et al., 1997), respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Oligonucleotídeos iniciadores utilizados no sequenciamento gênico de isolados de *Colletotrichum* spp.

Oligonucleotídeo iniciador	Sequência (5' → 3')	Tamanho do fragmento	Temperatura de anelamento (°C)
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	550	59
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
GDF1	GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA	200	59
GDR1	GGGTGGAGTCGTACTTGAGCATGT		
TB2F	GTTTCCAGATCACCCACTCC	400	54
TB2R	TGAGCTCAGGAACACTGACG		
ACT-512F	ATGTGCAAGGCCGGTTTCG	300	60
ACT-783R	TACGAGTCCTTCTGGCCCAT		
CHS I-79F	TGGGGCAAGGATGCTTGGAAGAAG	300	56
CHS I-354R	TGGAAGAACCATCTGTGAGAGTTG		
GSF1	ATGGCCGAGTACATCTGG	1000	58
GSR1	GAACCGTCGAAGTTCCAC		

As amplificações dos genes, análises dos eletroferogramas, corte das extremidades das sequências e alinhamento foram realizadas conforme metodologia supracitada, assim como a análise bayesiana que passou a ser composta pelas sequências das seis regiões gênicas alinhadas e concatenadas.

3.4.2. Marcadores ISSR

Mediante a triagem inicial com marcadores ISSR e a identificação das espécies de *Colletotrichum* pelo sequenciamento, foram selecionados isolados representativos de cada população para análise de diversidade genética com um número maior de marcadores. Foram selecionados todos os isolados de diferentes espécies provenientes de cada região geográfica e de cada hospedeiro amostrado,

representantes de cada clado e subclado do dendrograma ISSR, incluindo isolados submetidos ao sequenciamento.

Nesta etapa, dentre os 30 oligonucleotídeos testados, foram selecionados os cinco mais polimórficos para compor esta análise: AF80821 (AGA GAG AGA GAG AGA GC), P9 (CCA)₅, P11 (GTC)₆, P12 (GACA)₄ e P20 CT(GA)₈ (RATANACHERDCHAI et al., 2010; RAMPERSAD, 2013). A amplificação dos fragmentos e as análises foram realizadas conforme descrito anteriormente no item 3.3.2.

3.5. Testes de patogenicidade

Representantes de cada espécie de *Colletotrichum* identificados pela análise filogenética, provenientes de cada hospedeiro e tecido vegetal amostrados, foram selecionados para o teste de patogenicidade em flores de citros. Para inoculação, os isolados foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura BDA, em estufas para B.O.D. sob temperatura de 27°C ± 1°C por cerca de 10 dias. Após o completo desenvolvimento do fungo, 10 mL de água destilada estéril contendo tween 80 0,1% (v/v) foram adicionados às placas para possibilitar a remoção dos conídios com o auxílio de lâminas de vidro estéreis. A suspensão de conídios foi calibrada para a concentração 1 x 10⁶ conídios/mL com o auxílio de uma câmara de Neubauer.

As inoculações foram realizadas em flores de laranjeiras doce, no estágio de florescimento 'cotonete', da variedade Valência e porta-enxerto 'Swingle', com cerca de dois anos de idade, mantidas em casa de vegetação. Cada isolado foi inoculado em três grupos de flores de cada uma das três plantas utilizadas como repetição. Em cada grupo de flores foram depositados, com o auxílio de pipetas Pasteur, 20 µL da suspensão conidial calibrada. Já as três plantas utilizadas como testemunha foram inoculadas com água destilada estéril. Após a inoculação, a umidade relativa na casa de vegetação foi mantida em torno de 90-95%, com seis horas diárias de molhamento foliar até o desenvolvimento dos sintomas. A temperatura média da casa de vegetação variou de 24-26 °C. Os isolados que ocasionaram sintomas de PFC nas três plantas inoculadas foram considerados patogênicos para laranjeiras 'Valência'. O experimento foi validado pela ausência de sintomas de PFC nas flores

correspondentes às testemunhas. As flores com sintomas de PFC foram coletadas e submetidas ao isolamento do agente causal, o qual foi novamente submetido à identificação da espécie, por meio de análise do perfil genético por marcadores ISSR, para fechamento do Postulado de Koch.

4. RESULTADOS

4.1. Frequência de isolados de *Colletotrichum* spp.

No total, foram obtidos 444 isolados com características morfológicas sugestivas de *Colletotrichum*, sendo 376 oriundos de citros, 27 de mangueiras, 16 de mamoeiros, 11 de cajueiros, nove de goiabeiras, três de videiras e dois de bananeiras (Tabela 3).

Tabela 3. Número de isolados de *Colletotrichum* obtidos de cada procedência, hospedeiros e tecidos vegetais amostrados

Coleção de Isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.								
Município	Coordenadas geográficas	Hospedeiro	Variedade	Talhão ¹	Tecido Vegetal	Sintoma ²	Sigla ³	Nº de isolados obtidos
Itajobí (I)	21°20'07,2"S 48°59'55,9"O	Lima ácida (<i>Citrus latifolia</i>) (L)	Tahiti	1	folhas	A	IL1.1.	13
					flores	A	IL1.2.	2
				2	frutos	S	IL1.3.	6
					folhas	A	IL2.1.	9
					frutos	A	IL2.2.	5
Olimpia (O)	20°48'01,28"S 49°03'35,65"O	Laranja (<i>Citrus sinensis</i>) (O)	Valência	–	folhas	A	OO1.	47
					flores	A	OO2.	9
					frutos	S	OO3.	20
					cálices	S	OO4.	1
Santa Cruz do Rio Pardo/SP (S)	22°47'41,48"S 49°24'12,30"O	Laranja (<i>Citrus sinensis</i>) (O)	Pera	–	folhas	A	SO1.	20
					flores	A	SO2.	25
					frutos	S	SO3.	15
Conchal/SP (C)	22°18'04,94"S 47°09'34,70"O	Laranja (<i>Citrus sinensis</i>) (O)	Pera	Novo	folhas	A	CON1.	12
					flores	A	CON2.	3
				Velho	frutos	S	CON3.	4
					folhas	A	COV1.	15
					flores	A	COV2.	7
					frutos	S	COV3.	9

Continuação da Tabela 3

Município	Coordenadas geográficas	Hospedeiro	Variedade	Talhão ¹	Tecido Vegetal	Sintoma ²	Sigla ³	Nº de isolados obtidos			
Matão/SP (M)	21°38'27,66"S 48°29'44,67"O	Laranja (<i>Citrus sinensis</i>) (O)	Valência	Novo	folhas	A	MON1.	15			
					frutos	S	MON3.	2			
				Velho	folhas	A	MOV1.	16			
					flores	A	MOV2.	2			
		Manga	-	-	frutos	S	MOV3.	17			
					folhas	S	MM1.	12			
					nervura principal	S	MM5.	3			
					folhas	A	TO1.1.	15			
		Taquaritinga/SP (T)	21°23'42,2"S 48°37'25,0"O	Laranja (<i>Citrus sinensis</i>) (O)	Lima Verde	1	frutos	A	TO1.3.	14	
							folhas	A	TO1.1.	15	
Goiaba (<i>Psidium guajava</i>) (G)	Paluma			1	folhas	S	TG1.1.	7			
					folhas	A	TL2.1.	10			
Lima ácida (<i>Citrus latifolia</i>) (L)	Tahiti			2	frutos	A	TL2.3.	4			
					folhas	A	TO2.1.	12			
Laranja (<i>Citrus sinensis</i>) (O)	Folha Murcha			2	frutos	A	TO2.3.	11			
					folhas	A	TO2.1.	12			
Manga (<i>Mangifera indica</i>) (M)	Palmer			2	folhas	A	TM2.1.	12			
					folhas	A	TM2.1.	12			
		Lima ácida (<i>Citrus latifolia</i>) (L)	Tahiti	3	folhas	A	TL3.1.	1			
					cálices	A	TL3.4.	1			
					Mamão (<i>Carica papaya</i>) (P)	Formosa	3	folhas	A	TP3.1.	3
								frutos	S	TP3.3.	5

Continuação da Tabela 3

Município	Coordenadas geográficas	Hospedeiro	Variedade	Talhão ¹	Tecido Vegetal	Sintoma ²	Sigla ³	Nº de isolados obtidos
Bebedouro/SP (B)	21°2'44,37"S 48°33'27,67"O	Laranja (<i>Citrus sinensis</i>) (O)	Natal		folhas	A	BO1.	10
					frutos	A	BO3.	11
		Lima Doce (<i>Citrus limettoides</i>) (L)	Lima da Pérsia		folhas	A	BL1.	7
		Goiaba (<i>Psidium guajava</i>) (G)	Paluma		folhas	A	BG1.	2
		Caju (<i>Anacardium occidentale</i>) (C)	-	-	folhas	A	BC1.	11
		Uva (<i>Vitis</i> sp.) (U)	Rubi		folhas	A	BU1.	3
Hidrolândia/GO (G)	-	Banana (<i>Musa</i> sp.) (B)	Nanica		folhas	A	BB1.	2
		Mamão (<i>Carica papaya</i>) (P)	Comum		folhas	A	BP1.	7
					frutos	S	BP3.	1
		Laranja (<i>Citrus sinensis</i>) (O)	Pera	-	folhas	A	GO1.	6

¹ Talhões 1 e 2 de Itajobi/SP – localizados a cerca de 20 km de distância um do outro na mesma propriedade; Talhão Novo de Matão/SP – plantas com 4 anos; Talhão Velho de Matão/SP – plantas com 16 anos; Talhão Novo de Conchal/SP – plantas com 5 anos; Talhão Velho de Conchal/SP – plantas com 15 anos; Talhões 1 de Taquaritinga/SP – pomares de laranjeira 'Lima Verde' e goiabeira 'Paluma' localizados um ao lado do outro; Talhões 2 de Taquaritinga/SP – pomares de limeira ácida 'Tahiti', laranjeira 'Folha Murcha' e mangueira 'Palmer' localizados um ao lado do outro; Talhões 3 de Taquaritinga/SP – pomares de limeira ácida 'Tahiti' e mamoeiro 'Formosa' localizados um ao lado do outro.

² A – tecido assintomático; S – tecido sintomático

³ As siglas são formadas pelo código do município, do hospedeiro, do talhão (em caso de característica específica do talhão), do tecido vegetal (1- Folhas, 2 - Flores, 3 - Frutos, 4 - Cálices e 5 - Nervuras principais) e, após o último ponto, pelo número do isolado, respectivamente.

4.2. Triagem dos isolados de *Colletotrichum* spp.

4.2.1. PCR espécie-específico

Dos 444 isolados obtidos, 401 isolados apresentaram amplificação, quando submetidos à PCR com os oligonucleotídeos CgInt/ITS4 ou MKCgF/R, específicos ao complexo Gloeosporioides. Dentre os 43 isolados restantes, 31 foram amplificados na PCR com os oligonucleotídeos CaInt1/ITS4 ou CaInt2/ITS4 para o complexo Acutatum, e quatro com os oligonucleotídeos Col1/ITS4, para o complexo Boninense. Apenas oito isolados não apresentaram amplificação para um complexo específico e amplificaram apenas com os oligonucleotídeos Coll1F/Coll3Rb para o gênero *Colletotrichum*.

4.2.2. Marcadores ISSR

Os isolados de *Colletotrichum* obtidos foram divididos, com poucas exceções, em grupos de acordo com a classificação prévia realizada pela amplificação com os oligonucleotídeos específicos. Oito grupos foram formados por isolados que foram amplificados com os oligonucleotídeos CgInt/ITS4, MKCgF/R, Col1/ITS4 e Coll1F/Coll3Rb. Os isolados previamente identificados como pertencentes ao complexo Acutatum formaram apenas um grupo. Os subgrupos foram formados, em geral, por isolados de mesma procedência, como hospedeiro, localização geográfica e tecido vegetal dos quais foram amostrados. Adicionalmente, observou-se que isolados de uma mesma propriedade, porém de diferentes espécies de plantas, agruparam-se em um mesmo subgrupo, indicando similaridade genética entre isolados de diferentes hospedeiros (Anexo 2). Isolados representantes de cada grupo e subgrupo foram selecionados para as análises posteriores.

4.3. Caracterização molecular das populações de *Colletotrichum*

4.3.1. Sequenciamento de DNA

Noventa e quatro isolados foram selecionados para o sequenciamento da região ITS e dos genes GAPDH e TUB2. A análise bayesiana gerou 45.002 árvores, das quais 44.552 apresentaram 99% de credibilidade. De acordo com as análises filogenéticas, os isolados foram classificados em cinco complexos, Gloeosporioides, Acutatum, Boninense, Gigasporum e Cliviae (Figuras 1 e 2).

No filograma, observou-se que dentre os 62 isolados pertencentes ao complexo Gloeosporioides, 52 foram identificados como *C. gloeosporioides*, oito (OO1.7, MM1.18, BG1.1, TO1.1.14, TG1.1.3, TM2.1.3, TP3.3.6 e TL3.1.1) como *C. siamense* e dois (MM5.1 e TM2.1.7) não foram classificados em uma espécie específica (Figura 1). No clado do complexo Gloeosporioides, foram agrupados todos os isolados que haviam sido amplificados com os oligonucleotídeos CgInt/ITS4, seis isolados (OO1.7, TP3.3.6, IL1.3.9, MON1.5, IL1.1.1 e IL2.1.13) que foram amplificados com os oligonucleotídeos MKCgF/R e um isolado (COV2.5) que foi amplificado apenas com os oligonucleotídeos para o gênero *Colletotrichum*. No clado do complexo Acutatum, foram agrupados os cinco isolados selecionados que haviam sido amplificados previamente com os oligonucleotídeos CaInt1/ITS4 ou CaInt2/ITS4 (Figura 2). O clado referente ao complexo Boninense, por sua vez, foi formado por 20 isolados da espécie *C. karstii*, dos quais 14 haviam sido amplificados com os oligonucleotídeos MKCgF/R, quatro com os oligonucleotídeos Col1/ITS4 e dois apenas para o gênero *Colletotrichum* (Figura 2). Ainda no complexo Boninense, outros dois isolados (MM1.8 e BL1.5) que foram amplificados com os oligonucleotídeos MKCgF/R e o isolado BP1.10, que foi amplificado apenas com os oligonucleotídeos para o gênero *Colletotrichum*, não foram identificados em espécie. Já os isolados SO3.11, TL2.3.2 e TG1.1.2, de frutos de laranjeiras e limeiras e de folhas de goiabeiras, respectivamente, foram classificados como *C. gigasporum*, do complexo Gigasporum. Apenas o isolado BP1.2, de folhas de mamoeiro, foi classificado como *C. aracearum*, do complexo Cliviae (Figura 2). Os isolados do complexo Gigasporum e Cliviae haviam sido amplificados apenas com os oligonucleotídeos para o gênero *Colletotrichum*.

A partir da análise do filograma composto pelas sequências concatenadas da região ITS e genes GAPDH e TUB2, foram selecionados isolados representativos de cada clado, incluindo aqueles não classificados em espécie, para o sequenciamento de outros três genes, ACT, CHS-1 e GS. No total, foram selecionados 22 isolados

para compor a nova análise filogenética com as sequências concatenadas dos seis genes. A análise bayesiana gerou, desta vez, 29.746 árvores, das quais 29.446 apresentaram 99% de credibilidade. Esta análise polifásica possibilitou a confirmação da maioria das espécies já identificadas, no entanto, alguns isolados foram reclassificados. O isolado TM2.1.7, do complexo *Gloeosporioides*, não identificado em espécie anteriormente, agrupou-se à espécie *C. asianum*, ao passo que o isolado OO1.7, classificado na primeira análise como *C. siamense*, passou a ser identificado como *C. murrayae*. Os isolados do complexo *Acutatum* foram identificados como *C. abscissum* (Figura 3).

Mediante a análise conjunta dos resultados da triagem dos isolados e do sequenciamento gênico, os 444 isolados obtidos foram separados de acordo com os respectivos complexos do gênero *Colletotrichum* aos quais pertencem: (i) 347 isolados são pertencentes ao complexo *Gloeosporioides*, sendo as espécies identificadas como *C. gloeosporioides*, *C. siamense*, *C. asianum* e *C. murrayae*; (ii) 61 isolados são do complexo *Boninense*, sendo 59 da espécie *C. karstii* e dois de linhagens não identificadas; (iii) 32 isolados são do complexo *Acutatum*, espécie *C. abscissum*; (iv) três isolados pertencem ao complexo *Gigasporum*, espécie *C. gigasporum*; e (v) um isolado pertence ao complexo *Cliviae*, cuja espécie é *C. aracearum*.

Com relação à identificação dos isolados oriundos de cada hospedeiro amostrado: (i) dos 376 isolados de citros, 309 pertenceram ao complexo *Gloeosporioides*, 34 ao complexo *Boninense*, 31 ao complexo *Acutatum* e dois ao complexo *Gigasporum*; (ii) dos 27 isolados de mangueiras, 23 foram identificados como pertencentes ao complexo *Gloeosporioides* e quatro ao complexo *Boninense*; (iii) dos 16 isolados obtidos de mamoeiros, oito pertenceram ao complexo *Gloeosporioides*, sete ao complexo *Boninense* e um ao complexo *Cliviae*; (iv) dos 11 isolados de cajueiros, sete pertenceram ao complexo *Boninense* e quatro ao complexo *Gloeosporioides*; (v) dos nove isolados obtidos de goiabeiras, sete foram identificados como sendo do complexo *Gloeosporioides*, um do complexo *Boninense* e um do complexo *Gigasporum*; (vi) os três isolados de videira pertenceram ao complexo *Gloeosporioides*; e (vii) dos dois isolados de bananeiras, um foi identificado como pertencente ao complexo *Gloeosporioides* e o outro, ao complexo *Boninense*.

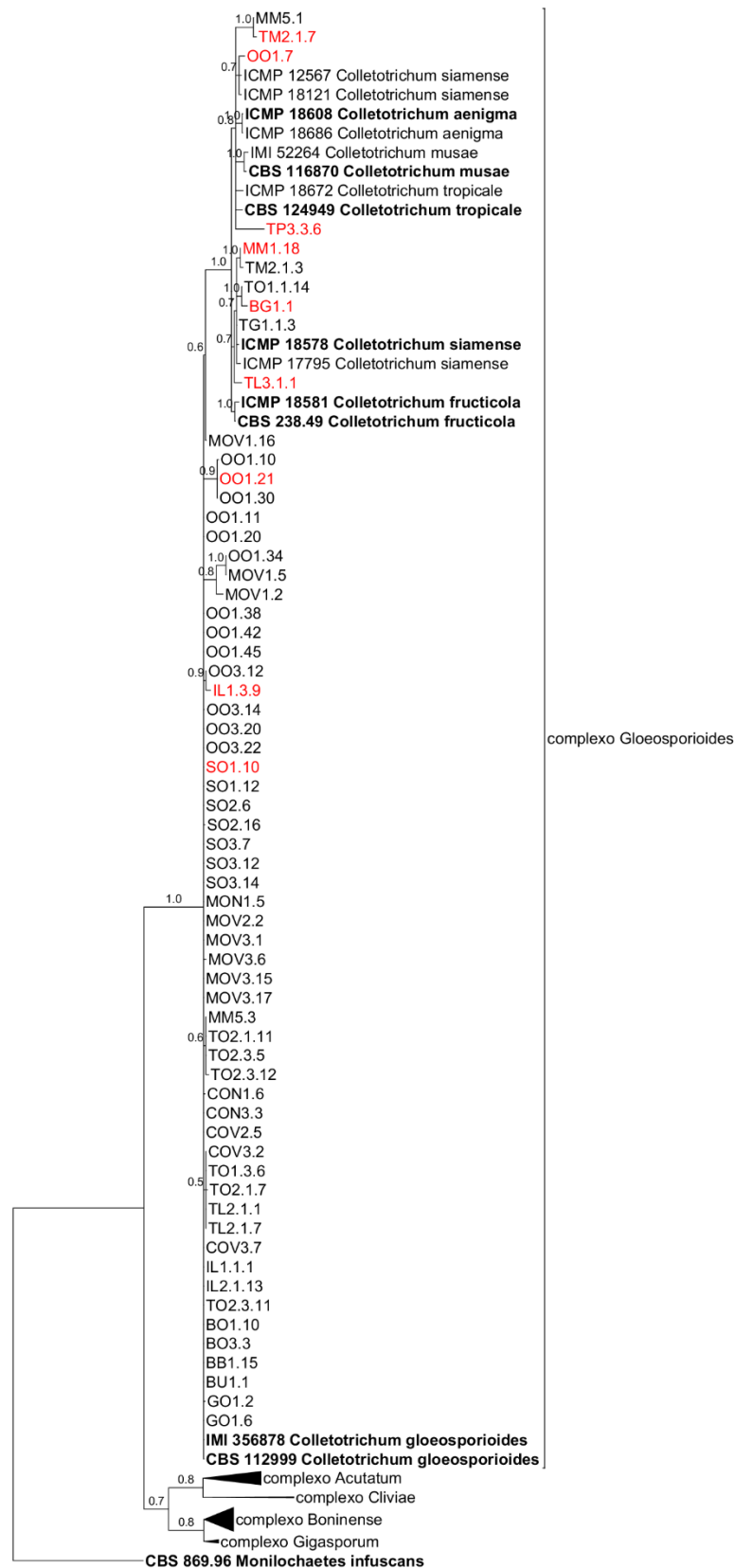


Figura 1. Filograma obtido pela análise bayesiana das sequências concatenadas da região ITS e genes GAPDH e TUB2 dos 92 isolados de *Colletotrichum* selecionados para esta análise. As espécies-tipo do banco de dados estão marcadas em negrito. Os isolados marcados em vermelho foram selecionados para análise filogenética com seis genes. Os valores na inserção dos ramos correspondem à confiabilidade do agrupamento.

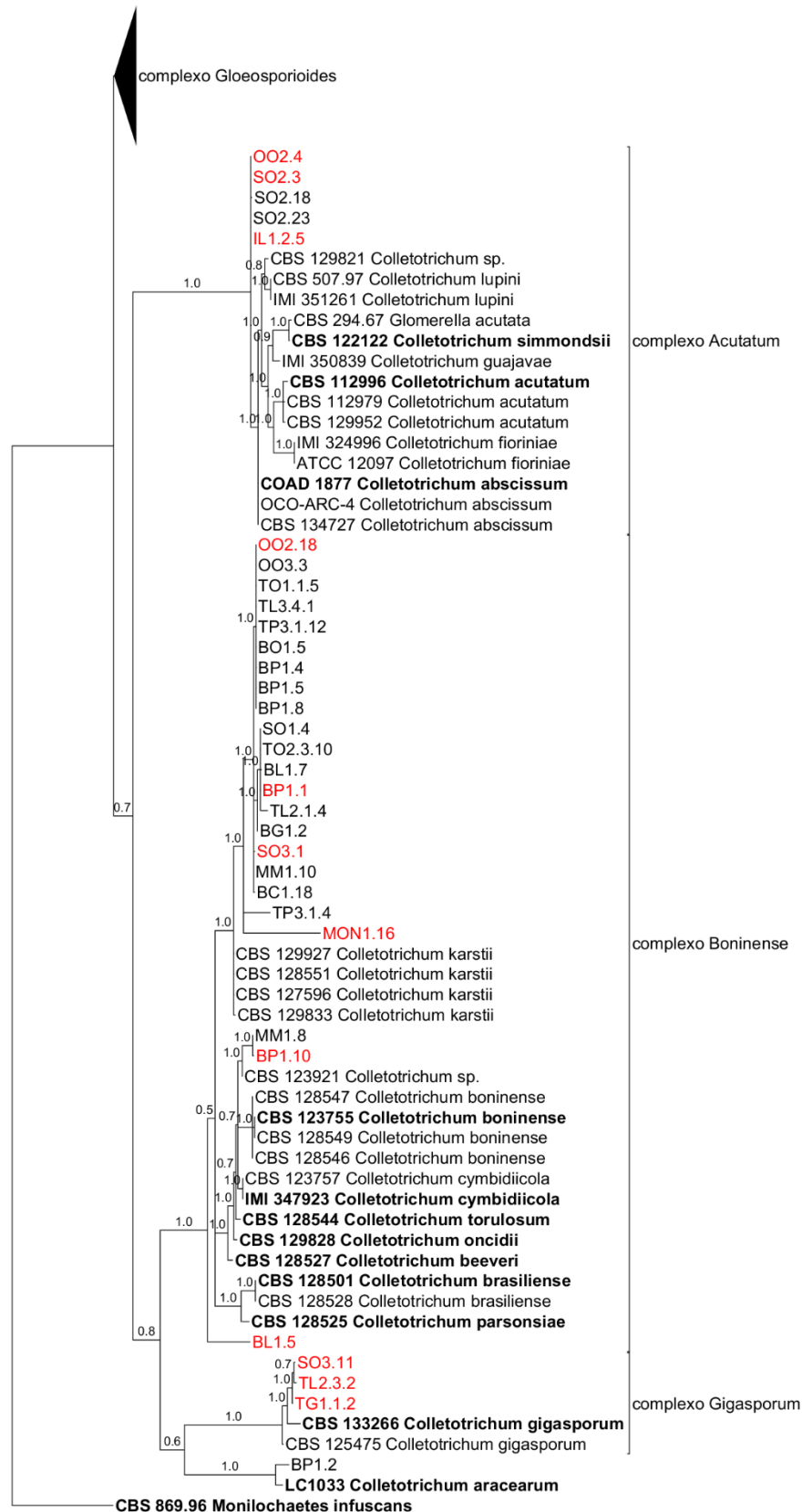


Figura 2. Filograma obtido pela análise bayesiana das sequências concatenadas da região ITS e genes GAPDH e TUB2 dos 92 isolados de *Colletotrichum* selecionados para esta análise. As espécies-tipo do banco de dados estão marcadas em negrito. Os isolados marcados em vermelho foram selecionados para análise filogenética com seis genes. Os valores na inserção dos ramos correspondem à confiabilidade do agrupamento.

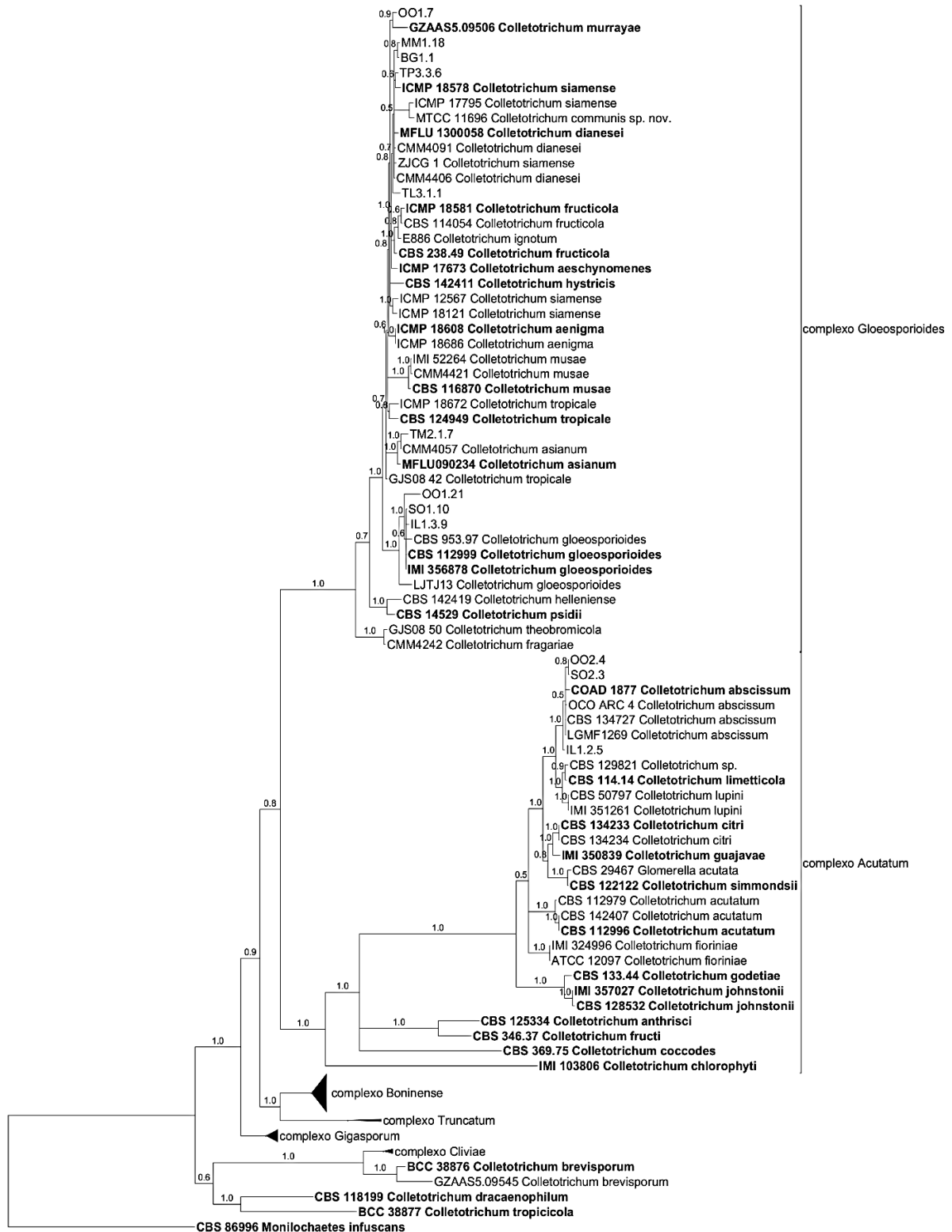


Figura 3. Filograma obtido pela análise bayesiana das sequências concatenadas da região ITS e genes GAPDH, TUB2, ACT, CHS1 e GS dos 22 isolados de *Colletotrichum* selecionados. As espécies-tipo do banco de dados estão marcadas em negrito. Os valores na inserção dos ramos correspondem à confiabilidade do agrupamento.

4.3.2. Marcadores ISSR

Baseado nas análises realizadas anteriormente, foram selecionados 148 isolados de *Colletotrichum* spp. para compor a análise de diversidade genética com cinco marcadores ISSR, visando conhecer as relações genéticas entre isolados de diferentes hospedeiros. No dendrograma, os isolados foram agrupados de acordo com os complexos de espécies aos quais pertencem: (i) o Grupo 1 foi composto por 80 isolados do complexo *Gloeosporioides*, sendo 79 da espécie *C. gloeosporioides* e um da espécie *C. asianum*; (ii) o Grupo 2 foi composto por nove isolados do complexo *Acutatum*, da espécie *C. abscissum*; (iii) o Grupo 3 foi formado por 19 isolados do complexo *Gloeosporioides*, dos quais 18 são da espécie *C. siamense* e um *C. murrayae*; (iv) no Grupo 4 agruparam-se 36 isolados do complexo *Boninense*, sendo 34 da espécie *C. karstii* e dois *Colletotrichum* sp. e, (v) o Grupo 5 foi formado pelos três isolados do complexo *Gigasporum*. No clado principal que suporta o Grupo 5, também está presente um ramo correspondente ao único isolado identificado como *C. aracearum* (Figuras 4 e 5).

No Grupo 1, os isolados foram agrupados, em sua maioria, de acordo com sua procedência, incluindo localização geográfica e hospedeiro dos quais provieram (Figura 4). Destaca-se que os isolados de laranjeiras ‘Valência’ do município de Matão, obtidos de plantas de quatro anos de idade (MON) e de 16 anos (MOV), agruparam-se em subgrupos de acordo com a idade dos pomares dos quais provieram. Tal fato também foi observado com os isolados originários do município de Conchal de laranjeiras ‘Pera’ de cinco (CON) e 15 anos de idade (COV), que também foram agrupados conforme a idade dos pomares de sua procedência, com exceção do isolado CON3.3 que se agrupou com outros dois isolados obtidos de plantas mais velhas. Neste Grupo, ainda observamos relações genéticas entre isolados obtidos de diferentes hospedeiros e municípios: (i) o isolado BP1.6, obtido de folhas de mamoeiro do município de Bebedouro, agrupou-se com isolados de laranjeiras ‘Lima Verde’ de Taquaritinga; (ii) o isolado MM5.3, de nervuras de folhas de mangueira de Matão, mostrou relação genética com isolados de laranjeiras de Conchal; (iii) os isolados BU1.1 de folhas de videira e BC1.17 de folhas de cajueiro, oriundos do mesmo pomar de Bebedouro, agruparam-se com isolados obtidos de laranjeiras ‘Pera’ de Santa Cruz

do Rio Pardo. No entanto, outros isolados de diferentes hospedeiros como IL2.3.5, BB1.15, BP3.12 e TM2.1.7, de limeiras, bananeiras, mamoeiros e mangueiras, respectivamente, não apresentaram estreita relação genética com isolados de outros hospedeiros. No Grupo 1, o valor médio da distância genética entre os isolados foi de 0,044.

No Grupo 2, os isolados de flores de limeira ácida 'Tahiti' de Itajobí (IL1.2) e de flores de laranjeiras de Santa Cruz do Rio Pardo (SO2) mostraram baixa distância genética entre si (0,013) ficando agrupados em um mesmo subgrupo, ao passo que, dois isolados obtidos de flores de laranjeiras do município de Olímpia agruparam-se separadamente destes isolados, com uma distância genética de 0,033 (Figura 5).

No Grupo 3, a média da distância genética entre os isolados foi de 0,089. Isolados de diferentes hospedeiros foram agrupados em subgrupos em comum, porém, com uma alta distância genética entre si (Figura 5). Neste grupo, observou-se que os isolados foram separados, em sua maioria, de acordo com a sua procedência geográfica, por exemplo, os isolados de Taquaritinga, tanto de laranjeiras (TO), quanto de limeiras (TL), mamoeiros (TP), mangueiras (TM) e goiabeiras (TG) foram agrupados em um subgrupo principal, com exceção de um isolado de Bebedouro (BL1.3) que também se encontra neste subgrupo. Os isolados BG1.1, BC1.2 e BU1.3, de goiabeira, cajueiro e videira, respectivamente, do município de Bebedouro, também estão presentes em um mesmo subgrupo. O único isolado da espécie *C. murrayae* (OO1.7) identificado neste estudo encontra-se neste Grupo.

No Grupo 4 foram agrupados os isolados que apresentaram a maior distância genética entre si no estudo (0,104) (Figura 5). Este grupo foi dividido de acordo com a espécie dos isolados do complexo Boninense, *C. karstii* e *Colletotrichum* sp. Os isolados da espécie *C. karstii* foram subdivididos em três clados principais, sendo o primeiro composto por isolados de diferentes localidades e hospedeiros, tais como, isolados de citros (TO e TL) e de mamoeiros (TP) do município de Taquaritinga, isolados de laranjeiras (BO) e cajueiros (BC) de Bebedouro e, isolados de laranjeiras de Santa Cruz do Rio Pardo (SO). O segundo clado principal da espécie *C. karstii* apresentou subclados formados por isolados de uma mesma localidade: (i) o primeiro subclado foi formado por isolados de Bebedouro de diferentes hospedeiros, sendo estes de limeiras (BL), mamoeiros (BP), bananeiras (BB), cajueiros (BC) e goiabeiras

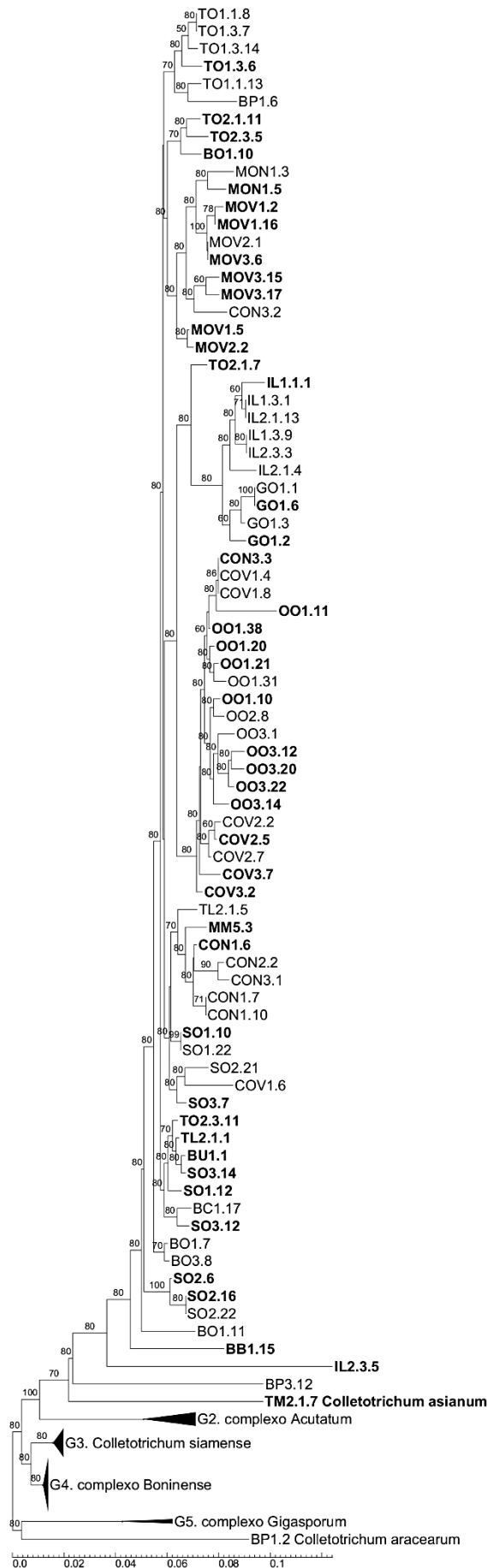
(BG); (ii) o segundo subclado foi composto apenas por isolados de plantas de laranjeiras de quatro anos de idade, de Matão (MON); (iii) no terceiro subclado encontram-se isolados de laranjeiras do município de Olímpia (OO); (iv) no quarto subclado contou-se com isolados oriundos de laranjeiras de 16 anos (MOV) e mangueiras (MM) de Matão; e o último clado foi formado por isolados de citros de Taquaritinga (TO e TL). Os isolados de *Colletotrichum* sp. deste Grupo, BL1.5 e BP1.10, são ambos provenientes de Bebedouro, porém, oriundos de diferentes hospedeiros, limeira ácida e mamoeiro.

No Grupo 5, a média da distância genética entre os três isolados da espécie *C. gigasporum*, TL2.3.2, TG1.1.2 e SO3.11, foi de 0,033. No presente estudo, esta espécie foi encontrada apenas nos municípios de Taquaritinga e Santa Cruz do Rio Pardo, advindas tanto de tecidos assintomáticos cítricos quanto de goiabeiras. Ainda neste grupo, em um ramo separado daquele formado pelos isolados de *C. gigasporum*, encontra-se o único isolado identificado como *C. aracearum*, BP1.2 (Figura 5).

A divisão dos Grupos foi coerente com a identificação dos isolados pelo sequenciamento, a exemplo dos valores das médias de distância genética que foram maiores entre-Grupos do que entre isolados pertencentes a um mesmo complexo de espécies (Tabela 4). Destaca-se que, embora na análise filogenética o subgrupo referente às espécies *C. siamense* e *C. murrayae* ainda seja considerado como pertencente ao complexo *Gloeosporioides*, na análise de diversidade genética, este Grupo (G3) se separa totalmente do Grupo formado por isolados de *C. gloeosporioides* (G1) no dendrograma, com uma distância genética de 0,156, além de apresentarem perfis genéticos distintos entre as espécies (Figura 6).

Tabela 4. Média da distância genética entre-Grupos do dendrograma obtido pela análise com cinco marcadores ISSR, correspondentes aos diferentes complexos de espécies de *Colletotrichum*, e entre isolados pertencentes a um mesmo Grupo

Média dos valores de distância genética							
Grupos de complexos de espécies de <i>Colletotrichum</i>	Intra-Grupos	Entre-Grupos					
		G1	G2	G3	G4	G5	Cliviae
G1. Gloeosporioides	0,044	-					
<i>C. gloeosporioides</i>							
G2. Acutatum	0,013	0,165					
<i>C. abscissum</i>							
G3. Gloeosporioides	0,089	0,156	0,191				
<i>C. siamense</i> e <i>C. murrayae</i>							
G4. Boninense	0,104	0,176	0,197	0,183			
<i>C. karstii</i> e <i>Colletotrichum</i> sp.							
G5. Gigasporum	0,033	0,176	0,198	0,188	0,212		
<i>C. gigasporum</i>							
Cliviae	-	0,168	0,225	0,208	0,202	0,186	-
<i>C. aracearum</i>							



G1. complexo Gloeosporioides

Figura 4. Dendrograma obtido pelo o agrupamento neighbor-joining resultante da análise de diversidade genética com cinco marcadores ISSR de 148 isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para o Grupo 1. Os isolados em negrito foram sequenciados.

Figura 5. Dendrograma obtido pelo o agrupamento neighbor-joining resultante da análise de diversidade genética com cinco marcadores ISSR de 148 isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para os Grupos 2, 3, 4 e 5. Os isolados em negrito foram sequenciados.

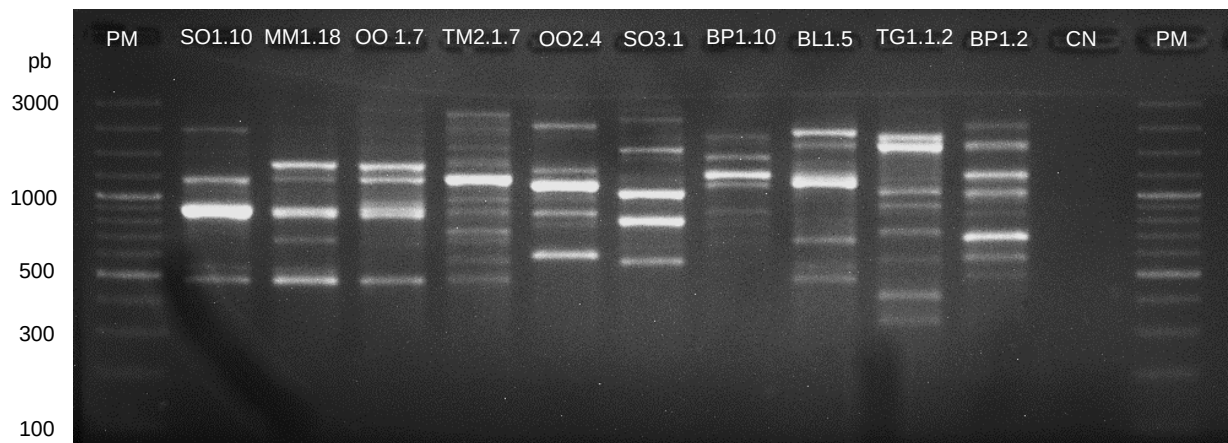


Figura 6. Eletroforese em gel dos produtos de amplificação dos isolados de *Colletotrichum* spp. com o marcador P12, mostrando os diferentes perfis genéticos de cada espécie do fungo, dentro dos seus respectivos complexos de espécies (Gloeosporioides: SO1.10, MM1.18, OO1.7, TM2.1.7; Acutatum: OO2.4; Boninense: SO3.1, BP1.10, BL1.5; Gigasporum: TG1.1.2 e Cliviae: BP1.2). PM: 100 pb Plus DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific). CN: controle negativo.

4.4. Testes de patogenicidade

Para a comprovação da patogenicidade, foram selecionados 31 isolados de cada uma das espécies identificadas em cada um dos hospedeiros amostrados. Os testes de patogenicidade em flores de laranjeiras 'Valência' estão em andamento, no entanto, os resultados obtidos, até o momento, encontram-se apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultados preliminares dos testes de patogenicidade com isolados de pertencentes a cinco espécies de *Colletotrichum*, obtidos de diferentes hospedeiros, inoculados em flores de laranjeiras 'Valência', sob condições de casa de vegetação

Isolado	Espécie	Hospedeiro/ Tecido vegetal	Patogênico	Período de Incubação (dias)
MM1.18	<i>C. siamense</i>	Mangueira/folha	sim	10
BG1.1	<i>C. siamense</i>	Goiabeira/folha	sim	11
TO1.1.14	<i>C. siamense</i>	Laranjeira/folha	sim	10
TP3.3.6	<i>C. siamense</i>	Mamoeiro/fruto	sim	9
TM2.1.7	<i>C. asianum</i>	Mangueira/folha	sim	9
OO2.4	<i>C. abscissum</i>	Laranjeira/flor	sim	8
BO1.5	<i>C. karstii</i>	Laranjeira/folha	sim	10
TG1.1.2	<i>C. gigasporum</i>	Goiabeira/folha	sim	8
TL2.3.2	<i>C. gigasporum</i>	Limeira/fruto	sim	8
BP1.2	<i>C. aracearum</i>	Mamoeiro/folha	sim	8

5. DISCUSSÃO

O sequenciamento polifásico e a análise com marcadores ISSR possibilitaram a identificação de uma coleção de isolados de *Colletotrichum* obtidos de diferentes espécies de frutíferas cultivadas no estado de São Paulo. Neste estudo, foram obtidos resultados inéditos no Brasil, tais como, a identificação dos complexos Boninense e Gigasporum associados aos citros, presença dos complexos Boninense e Gigasporum em goiabeiras, complexos Boninense e Cliviae em mamoeiros e complexo Boninense em cajueiros e bananeiras. No país, a espécie *C. gigasporum* ainda não havia sido relatada em plantas.

A triagem dos isolados por oligonucleotídeos espécie-específicos e por marcadores ISSR possibilitaram a identificação de um grande número de isolados pela seleção daqueles representativos da coleção sem perder informações relevantes. Verificou-se que os oligonucleotídeos CgInt, CaInt1/2 e Col1 utilizados em conjunto com o ITS4, são de fato específicos para os complexos Gloeosporioides, Acutatum e Boninense, respectivamente e, portanto, podem ser utilizados para triagem populacional (LIMA et al., 2012; MCGOVERN et al., 2012; UACIQUETE et al., 2013; AFANADOR-KAFURI et al., 2014; SAXENA et al., 2014). Já os oligonucleotídeos MKCgF/R não amplificaram apenas para o complexo Gloeosporioides, mas também para o complexo Boninense e, neste caso, sugere-se que todos os isolados que amplificarem apenas com estes oligonucleotídeos sejam sequenciados.

Em citros, tanto advindos de tecidos sintomáticos como assintomáticos, foram identificados quatro complexos de espécies, Gloeosporioides, Acutatum, Boninense e Gigasporum. Dos 50 isolados oriundos de flores de laranjeiras e limeiras com sintomas de PFC, 62% foram pertencentes ao complexo Acutatum, espécie *C. abscissum*, 34% ao complexo Gloeosporioides, espécie *C. gloeosporioides*, e 4% (isolados OO2.18 e TL3.4.1) ao complexo Boninense, espécie *C. karstii*. Tanto a espécie *C. abscissum* quanto *C. gloeosporioides*, encontradas no presente estudo, já foram associadas a sintomas de PFC no Brasil (LIMA et al., 2011; CROUS et al., 2015; SILVA et al., 2017). Quanto à *C. karstii*, este é o primeiro relato desta espécie associada à PFC no país. No mundo, a espécie *C. karstii* já foi relatada na China em folhas e brotos sintomáticos e assintomáticos de *Citrus* spp. (PENG et al., 2012; HUANG et al., 2013). Também,

há relatos desta espécie ocorrendo em folhas e frutos sintomáticos de laranjeiras doce na Itália (AIELLO et al., 2015) e em folhas, galhos e frutos sintomáticos de limoeiros em Portugal (RAMOS et al., 2016). Testes de patogenicidade realizados por Aiello et al. (2015) e Ramos et al. (2016) comprovaram que isolados de *C. karstii* podem ser patogênicos para flores e folhas de laranjeiras doce, tangerinas e limoeiros como também para frutos de laranjeiras doce. Desta forma, este é um indicativo do surgimento de mais uma espécie associada à PFC no Brasil.

Já dentre os 326 isolados obtidos de folhas e frutos assintomáticos de laranjeiras e limeiras, 89,6 % pertenceram ao complexo Gloeosporioides, 9,8 % ao complexo Boninense, espécie *C. karstii* e *Colletotrichum* sp., e 0,6 % ao complexo Gigasporum. Os isolados do complexo Gloeosporioides foram identificados como *C. gloeosporioides*, *C. siamense* e *C. murrayae*, espécies já associadas aos citros na África, Ásia e Europa (PENG et al., 2012; CHENG et al., 2013; HUANG et al., 2013; DOUANLA-MELI; UNGER, 2017). Tanto *C. gloeosporioides* quanto *C. karstii* são patogênicos para folhas e frutos de laranjeiras (AIELLO et al., 2015; RAMOS et al., 2016) e são comumente isolados de tais tecidos, sendo o *C. gloeosporioides* encontrado em maiores proporções (PENG et al., 2012; HUANG et al., 2013; AIELLO et al., 2015; RAMOS et al., 2016; TAHERI et al., 2016). Os isolados TL2.3.2 e SO3.11, da espécie *C. gigasporum*, foram encontrados em frutos de limeira ácida 'Tahiti' de Taquaritinga e em frutos de laranjeiras 'Pera' de Santa Cruz do Rio Pardo. Até o momento, apenas a espécie *C. citri-maximae*, deste complexo, foi relatada ocorrendo endofiticamente em frutos de *Citrus máxima*, na China (DOUANLA-MELI; UNGER, 2017). No Brasil, *C. gigasporum*, foi associado apenas a um cisto feomicótico subcutâneo em um homem (LIU et al., 2014).

Com relação aos isolados obtidos de tecidos sintomáticos e assintomáticos de mangueiras, 85% destes pertenceram ao complexo Gloeosporioides, sendo identificados como *C. gloeosporioides*, *C. siamense* e *C. asianum*. As espécies *C. gloeosporioides* e *C. siamense* também foram encontradas em mamoeiros, cajueiros, goiabeiras e videiras, enquanto que em bananeiras foi encontrada apenas a espécie *C. gloeosporioides*. Esta espécie de *Colletotrichum*, em especial, está associada a sintomas de antracnose nestas e em outras culturas (PHOULIVONG et al., 2010; FARR; ROSSMAN, 2012; WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012; UDAYANGA et al., 2013;

KRISHNAPILLAI; WIJERATNAM, 2014; SHARMA; PINNAKA; SHENOY, 2015; JAYAWARDENA et al., 2016b). Já *C. siamense* foi constatada no Brasil, até o momento, apenas em videiras (SANTOS et al., 2017), enquanto que, em mangueiras esta espécie foi encontrada na Índia e Colômbia (SHARMA et al., 2013; PARDO-DE LA HOZ et al., 2016) e, em mamoeiros na África do Sul (WEIR; JOHNSTON; DAMM, 2012). Assim, este é o primeiro relato de *C. siamense* ocorrendo em goiabeira e cajueiro no mundo e, em mangueiras e mamoeiros no Brasil. *Colletotrichum asianum*, encontrada em folhas sintomáticas e assintomáticas de mangueiras no presente estudo, é uma espécie comumente associada a sintomas de antracnose nesta frutífera, assim como também pode ser patogênica para mamoeiros, bananeiras e goiabeiras (PHOULIVONG; MCKENZIE; HYDE, 2012; LIMA et al., 2014).

Do complexo Boninense, *Colletotrichum* sp. foi encontrada apenas em folhas assintomáticas de mamoeiros, enquanto a espécie *C. karstii* foi encontrada em folhas sintomáticas de mangueiras e em folhas assintomáticas de mamoeiros, goiabeiras e bananeiras e cajueiros. *C. karstii* já foi relatada em folhas assintomáticas de mamoeiros na Índia (SHARMA; SHENOY, 2013) e está associada a sintomas de antracnose em mangueiras no Brasil (LIMA et al., 2013). Testes de patogenicidade mostraram que este fungo pode ocasionar sintomas de antracnose em frutos de goiabeiras, mamoeiros e bananeiras (LIMA et al., 2014). *C. karstii* ainda não foi descrita ocorrendo em goiabeiras, bananeiras e cajueiros, sendo este o primeiro relato desta espécie ocorrendo naturalmente nestas culturas. Testes de patogenicidade fazem-se necessários para comprovar se *Colletotrichum* sp. e *C. karstii* sobrevivem apenas endofiticamente em mamoeiros e cajueiros, respectivamente, ou se podem ocasionar doença nestas frutíferas.

Além dos citros, a espécie *C. gigasporum* foi encontrada colonizando assintomaticamente folhas de goiabeiras. Embora *C. gigasporum* seja patogênico a algumas espécies de plantas no mundo, como *Citrus maxima* (DOUANLA-MELI; UNGER, 2017), *Acacia auriculiformis*, *Centella asiatica*, *Coffea* sp., *Diospyros kaki*, *Musa* sp., *Persea americana* e *Solanum betaceum* (RAKOTONIRIANA et al., 2013; LIU et al., 2014; WIJESUNDERA et al., 2015), ainda não havia sido relatado em goiabeiras. Já com relação a *C. aracearum*, do complexo Cliviae, foi obtido apenas um isolado, oriundo de folhas assintomáticas de mamoeiros. Deste complexo, apenas

C. cliviae havia sido descrita em mamoeiros, no México (TAPIA-TUSSELL; CORTÉS-VELÁZQUEZ; VALENCIA-YAH, 2016; DOUANLA-MELI; UNGER; LANGER, 2017). Testes de patogenicidade são necessários para confirmar se *C. gigasporum* e *C. aracearum* podem ocasionar doenças nos seus respectivos hospedeiros de origem.

Os resultados obtidos com os marcadores moleculares ISSR complementaram aqueles obtidos pelo sequenciamento gênico e forneceram informações quanto à distribuição genotípica do fungo entre diferentes municípios e hospedeiros. Nesta análise, os isolados foram subdivididos de acordo com as espécies e complexos de espécies de *Colletotrichum* as quais pertencem, assim como resultados obtidos por outros pesquisadores (AFANADOR-KAFURI et al., 2014; MAHMODI; KADIR; PUTEH, 2014; SAXENA; RAGHUWANSHI; SINGH, 2014; STRACIERI et al., 2016). Isolados do complexo *Gloeosporioides* foram os únicos que se subdividiram em grupos diferentes. Os isolados das espécies *C. gloeosporioides* e *C. asianum* foram agrupados separadamente daqueles das espécies *C. siamense* e *C. murrayae*. Tal fato também já foi observado por outros pesquisadores que, inclusive, sugeriram que *C. siamense* e as espécies que se agruparam a esta na análise filogenética, como *C. murrayae*, *C. communis* sp. nov., *C. dianesei*, *C. endomangiferae*, *C. hymenocallidis* e *C. jasmini-sambac*, fossem consideradas um novo complexo, distinto do complexo *Gloeosporioides*, passando assim a ser nomeado como complexo Siamense (SHARMA; PINNAKA; SHENOY, 2015). Nosso estudo demonstrou, principalmente com relação aos resultados obtidos com os marcadores ISSR, que a sugestão destes pesquisadores tem fundamento.

Em todos os grupos do dendrograma obtido há subgrupos formados de acordo com a localização geográfica e hospedeiros dos quais os isolados provieram. Em estudos de diversidade genética com marcadores dominantes, em geral, isolados de *Colletotrichum* são mais comumente agrupados de acordo com seus hospedeiros de origem do que por procedência geográfica (SOUZA et al., 2013; MAHMODI et al., 2014; SAXENA; RAGHUWANSHI; SINGH, 2014; SILVEIRA et al., 2016). No entanto, por se tratarem de marcadores relacionados a regiões repetitivas do DNA, marcadores ISSR podem oferecer resultados mais específicos quanto à relação genética entre os indivíduos. Em estudos com isolados de *C. truncatum*, oriundos de pimenteiras cultivadas em dois estados da Malásia e nas regiões norte e sul da China, os

pesquisadores verificaram que o agrupamento dos isolados se deu de acordo com a distribuição geográfica dos seus respectivos hospedeiros (MAHMODI et al., 2014; DIAO et al., 2015).

Neste estudo, observamos diferentes relações genéticas entre os isolados. Da mesma forma que isolados de diferentes hospedeiros, provenientes de Bebedouro e Taquaritinga, equidistantes em cerca de 50 km, foram agrupados no mesmo clado, isolados de Bebedouro e Santa Cruz do Rio Pardo, distantes entre si em cerca de 250 km, também de diferentes hospedeiros, agruparam-se em clados em comum. Também observamos que isolados oriundos de laranjeiras de uma mesma propriedade foram agrupados de acordo com a idade dos pomares dos quais provieram; isolados de diferentes hospedeiros, porém oriundos de uma mesma propriedade citrícola, também se agruparam em clados em comum. Estes resultados são indicativos de que estirpes de *Colletotrichum* podem sofrer adaptações específicas em uma determinada região, microrregião ou hospedeiro até que sejam carreadas ou introduzidas em outras localidades e hospedeiros e se adaptem a estes, podendo assim continuar o seu ciclo epidemiológico. Alelos específicos ocorrendo em determinados micro-habitat podem ser úteis para analisar o carregamento das estirpes e sua distribuição geográfica (MAHMODI et al., 2014).

Embora *Colletotrichum* possua um arsenal específico para invadir e colonizar as células de hospedeiros em especial (O'CONNELL et al., 2012), este gênero de fungo tem se mostrado muito versátil, possuindo habilidades para infecção cruzada, podendo muitas vezes, atingir e infectar múltiplos hospedeiros (PHOULIVONG; MCKENZIE; HYDE, 2012; SOUZA et al., 2013; LIMA et al., 2014). Ao mudar de hospedeiro, o fungo pode adquirir novas habilidades para invasão e colonização, o que pode estar associado ao surgimento de novas espécies (PHOULIVONG; MCKENZIE; HYDE, 2012; GAN et al., 2016). Somado a isto está a habilidade desse gênero de fungo de se multiplicar por compatibilidade vegetativa entre hifas, aumentando ainda mais as chances de surgirem novas espécies e complexos de espécies, cujos relatos têm aumentado exponencialmente nos últimos anos (FRANCO et al., 2011; DIAO et al., 2015; BEHNIA et al., 2016).

Essa versatilidade de espécies do gênero *Colletotrichum* está sendo demonstrada nos testes de patogenicidade em flores de laranjeiras 'Valência' no

presente estudo. Os resultados preliminares indicaram que isolados das espécies *C. siamense* e *C. asianum*, do complexo *Gloeosporioides*, *C. karstii*, do complexo Boninense, *C. gigasporum* e *C. aracearum*, dos complexos *Gigasporum* e *Cliviae*, respectivamente, mesmo sendo oriundos de diferentes hospedeiros além dos citros, foram capazes de ocasionar sintomas de PFC em laranjeiras doces. *C. karstii* foi relatada ocasionando sintomas de antracnose em frutos, folhas e ramos de citros (AIELLO et al., 2015; RAMOS et al., 2016), entretanto, testes de patogenicidade mostraram que esta espécie é capaz de ocasionar sintomas de PFC em laranjeiras doce, tangerinas e limoeiros em Portugal (RAMOS et al., 2016). No mundo, espécies do complexo *Cliviae* ainda não foram relatadas ocasionando doenças em citros, embora, até o momento, somente a espécie *C. cliviae* tenha sido descrita em folhas assintomáticas de *Citrus limon* no Vietnã (DOUANLA-MELI; UNGER; LANGER, 2017). No Brasil, além de *C. gloeosporioides* e *C. abscissum* (LIMA et al., 2011; SOUZA et al., 2013; CROUS et al., 2015; SILVA et al., 2017), relata-se o envolvimento de quatro espécies adicionais do gênero *Colletotrichum* associados a sintomas de PFC em citros. Dada à sua inespecificidade de hospedeiros, as espécies do fungo encontradas no presente estudo podem, inclusive, ser ou virem a ser patogênicas para outras frutíferas.

6. CONCLUSÃO

Quatro complexos de espécies de *Colletotrichum* estão associados aos citros no estado de São Paulo, Brasil, sendo estes os complexos Gloeosporioides, Acutatum, Boninense e Gigasporum. Sob condições controladas, as espécies *C. siamense*, *C. asianum*, *C. karstii*, *C. gigasporum* e *C. aracearum* são patogênicas a flores de laranjeiras 'Valência'. Assim, a identificação de novas espécies associadas aos sintomas da doença explica, possivelmente, a diversidade de danos resultantes da PFC em vários cenários ambientais, muitas vezes não favoráveis aos agentes causais, e, a divergência de respostas dos níveis de controle da doença, mesmo mediante práticas de manejo diferenciadas. Assim, o entendimento sobre as demandas ambientais para a ocorrência das espécies associadas à PFC é de suma importância.

Ainda, segundo a análise com marcadores ISSR, a estreita relação genética entre isolados de *Colletotrichum* spp. oriundos de diferentes hospedeiros, além dos citros, é um indicativo do compartilhamento de hospedeiros por espécies do fungo, com a provável ocorrência de fluxo de estirpes entre diferentes culturas, além da melhor adaptabilidade entre as espécies de *Colletotrichum* aos seus hospedeiros, visto que as espécies *C. siamense*, *C. asianum*, *C. gigasporum* e *C. aracearum* são capazes de ocasionar sintomas de PFC em laranjeiras doces.

7. REFERÊNCIAS

- ABANG, M. M.; WINTER, S.; MIGNOUNA, H. D.; GREEN, K. R.; ASIEDU, R. Molecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. **African Journal of Biotechnology**, v. 2, p. 486-496, 2003.
- AFANADOR-KAFURI, L.; GONZÁLEZ, A.; GAÑÁN, L.; MEJÍA, J. F.; CARDONA, N.; ALVAREZ, E. Characterization of the *Colletotrichum* species causing anthracnose in Andean blackberry in Colombia. **Plant Disease**, v. 98, p. 1503-1513, 2014.
- AGOSTINI, J. P.; TIMMER, L. W. Population dynamics and survival of strains of *Colletotrichum gloeosporioides* on citrus in Florida. **Phytopathology**, v. 84, p. 420-425, 1994.
- AGOSTINI, J. P.; TIMMER, L. W.; MITCHELL, D. J. Morphological and pathological characteristics of strains of *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. **Phytopathology**, v. 82, p. 1377-1382, 1992.
- AIELLO, D.; CARRIERI, R.; GUARNACCIA, V.; VITALE, A.; LAHOZ, E.; POLIZZI, G.; Characterization and Pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. karstii* Causing Preharvest Disease on *Citrus sinensis* in Italy. **Journal of Phytopathology**, v. 163, p. 168-177, 2015.
- AKTARUZZAMAN, M.; AFROZ, T.; LEE, Y.; KIM, B. Post-harvest anthracnose of papaya caused by *Colletotrichum truncatum* in Korea. **European Journal of Plant Pathology**, p. 1–7, 2017. Disponível em: 10.1007/s10658-017-1265-y
- ALVAREZ, A. M.; NISHIJIMA, W. T. Postharvest diseases of papaya. **Plant Disease**, v. 71, n. 8, p. 681-686, 1987.
- ANDRADE, E.M., UESUGI, C.H., UENO, B. & FERREIRA, M.A.S.V. Caracterização morfofocultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 021-031, 2007.
- ANNE, C. Choosing the right molecular genetic markers for studying biodiversity: from molecular evolution to practical aspects. **Genetica**, v. 127, p. 101–120, 2006.
- ARAUZ, L. F. Mango anthracnose: economic impact and current options for integrated and management. **Plant Disease**, v. 84, n. 6, p. 600-611, 2000.

- ARIYAWANSA, H. A.; HAWKSWORTH, D. L.; HYDE, K. D.; JONES, E. B. G.; MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; MANAMGODA, D. S.; THAMBUGALA, K. M.; UDAYANGA, D.; CAMPORESI, E.; DARANAGAMA, A.; JAYAWARDENA, R.; LIU, J.; MCKENZIE, E. H. C.; PHOOKAMSAK, R.; SENANAYAKE, I. C.; SHIVAS, R. G.; XU, J. Epitypification and neotypification: guidelines with appropriate and inappropriate examples. **Fungal Diversity**, v. 69, p. 57–91, 2014.
- BAGHERABADI, S.; ZAFARI, D.; SOLEIMANI, M. J. Genetic diversity of *Alternaria alternata* Isolates Causing Potato Brown Leaf Spot, Using ISSR Markers in Iran. **Plant Pathology & Microbiology**, v. 6, n. 7, p. 286, 2015. DOI: 10.4172/2157-7471.1000286
- BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. ***Colletotrichum: Biology, pathology and control***. Wallingford: CAB. 1992.
- BARONCELLI, R.; SREENIVASAPRASAD, S.; LANE, C.R.; THON, M.R.; SUKNO, S.A. First report of *Colletotrichum acutatum sensu lato* (*Colletotrichum godetiae*) causing anthracnose on grapevine (*Vitis vinifera*) in the United Kingdom. **New Disease Reports**, v. 29, p. 26, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.029.026>
- BARONCELLI, R.; TALHINHAS, P.; PENSEC, F.; SUKNO, S. A.; LE FLOCH, G.; THON, M. R. The *Colletotrichum acutatum* Species Complex as a Model System to Study Evolution and Host Specialization in Plant Pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1-7, 2017.
- BEHNIA, M.; JAVAN-NIKKHAH, M.; AMINIAN, H.; RAZAVI, M.; ALIZADEH, A. Population Structure and Sexual Fertility of *Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* from Citrus in Northern Iran. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 18, p. 561-573, 2016.
- BENALI, S.; MOHAMED, B.; EDDINE, H. J.; NEEMA, C. Advances of molecular markers application in plant pathology research. **European Journal of Scientific Research**, v. 50, p. 110 - 123, 2011.
- BEREPIKI, A.; LICHIOUS, A.; READ, N. D. Actin organization and dynamics in filamentous fungi. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, p. 876–887, 2011.

- BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, L. The biology of corn anthracnose: knowledge to exploit for improved management. **Phytopathology**, v. 83, p. 596–608, 1999.
- BRAGANÇA, C. A.; DAMM, U.; BARONCELLI, R.; JÚNIOR, N. S. M.; CROUS P. W. Species of the *Colletotrichum acutatum* complex associated with anthracnose diseases of fruit in Brazil. **Fungal Biology**, v. 120, p. 547–561, 2016.
- BROWN, A. E.; SREENIVASAPRASAD, S.; TIMMER, L. W. Molecular characterization of slow-growing orange and Key lime anthracnose strains of *Colletotrichum* from citrus as *C. acutatum*. **Phytopathology**, v. 86, p. 523- 527, 1996.
- BUHR, T. L.; DICKMAN, M. B. Isolation, characterization, and expression of a second β -tubulin-encoding gene from *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 4155-4159, 1994.
- BUSSABAN, B.; LUMYONG, S.; LUMYONG, P.; MCKENZIE, E.H.C.; HYDE, K. D. Endophytic fungi from *Amomum siamense*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 1-6, 2001.
- CAI, L.; HYDE, K. D.; TAYLOR, P.W.; WEIR, B. S.; WALLER, J. M.; ABANG, M. M.; ZHANG, J. Z.; YANG, Y. L.; PHOULIVONG, S.; LIU, Z. Y.; PRIHASTUTI, H.; SHIVAS, R. G.; MCKENZIE, E. H. C.; JOHNSTON, P. R. A polyphasic approach for studying *Colletotrichum*. **Fungal Diversity**, v. 39, p.183-204, 2009.
- CANNON, P. F.; BUDDIE, A. G.; BRIDGE, P. D. The typification of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Mycotaxon**, 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**, v. 73, p. 181–213, 2012.
- CARBONE, I.; KOHN, L. M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. **Mycologia**, v. 91, p. 553-556, 1999.
- CARISSE, O.; LEFEBVRE, A. A model to estimate the amount of primary inoculum of *Elsinoë ampelina*. **Plant Disease**, v. 95, p. 1167–1171, 2011.
- CARVALHO, M.J.; JESUINO, R.S.A.; DAHER, B.S.; SILVA-PEREIRA, I.; FREITAS, S.M.; SOARES, C.M.A.; FELIPE, M.S.S. Functional and genetic characterization of calmodulin from the dimorphic and pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 39, n. 3, p. 204-210, 2003.

- CASTRO, L. G. M.; SILVA LACAZ, C.; GUARRO, J.; GENÉ, J.; HEINS-VACCARI, E. M.; DE FREITAS LEITE, R. S.; ARRIAGADA, G. L.; REGUERA, M. M.; ITO, E. M.; VALENTE, N. Y.; NUNES, R. Phaeohyphomycotic cyst caused by *Colletotrichum crassipes*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 6, p. 2321–2324, 2001.
- CIAMPI-GUILLARDI, M.; BALDAUF, C.; SOUZA, A. P.; SILVA-JUNIOR, G. J.; AMORIM, L. Recent introduction and recombination in *Colletotrichum acutatum* populations associated with citrus postbloom fruit drop epidemics in São Paulo, Brazil. **Phytopathology**, v. 104, p. 769-778, 2013.
- CONDEELIS, J. Elongation factor 1 α , translation and cytoskeleton. **TIBS**, v. 20, p. 169–170, 1995.
- CORDA, A. C. I. Die Pilze Deutschlands. In: Sturm J (ed) Deutschlands Flora in Abbildungen nach der Natur mit Beschreibungen. Sturm, Nürnberg vol. 3, Abt. 12, 33–64, tab, 21–32. 1831.
- COUTO, E.F.; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 406-412, 2004.
- CROUCH, J. A. *Colletotrichum caudatum* s.l. is a species complex. **IMA Fungus**, v. 5, p. 1–30, 2014.
- CROUCH, J. A.; BEIRN, L. A. Anthracnose of cereals and grasses. **Fungal Diversity**, v. 39, p.19–44, 2009.
- CROUCH, J. A.; CLARKE, B. B.; WHITE, J. F.; HILLMAN, B. I. Systematic analysis of the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* and a description of six new species from warm season grasses. **Mycologia**, v. 101, p. 717–732, 2009.
- CROUS, P. W.; WINGFIELD, M. J.; GUARRO, J.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; SUTTON, D. A.; ACHARYA, K.; BARBER, P. A.; BOEKHOUT, T.; DIMITROV, R. A.; DUEÑAS, M.; DUTTA, A. K.; GENÉ, J.; GOULIAMOVA, D. E.; GROENEWALD, M.; LOMBARD, L.; MOROZOVA, O. V.; SARKAR, J.; SMITH, M. T. H.; STCHIGEL, A. M.; WIEDERHOLD, N. P.; ALEXANDROVA, A. V.; ANTELM, I.; ARMENGOL, J.; BARNES, I.; CANO-LIRA, J. F.; CASTAÑEDA RUIZ, R. F.; CONTU, M.; COURTECUISSÉ, P. R. R.; DA SILVEIRA, A. L.; DECOCK, C. A.; DE GOES, A.; EDATHODU, J.; ERCOLE, E.; FIRMINO, A. C.; FOURIE, A.; FOURNIER, J.; FURTADO, E. L.; GEERING, A. D. W.;

- GERSHENZON, J.; GIRALDO, A.; GRAMAJE, D.; HAMMERBACHER, A.; HE, X.; HARYADI, D.; KHEMMUK, W.; KOVALENKO, A. E.; KRAWCZYNSKI, R.; LAICH, F.; LECHAT, C.; LOPES, U. P.; MADRID, H.; MALYSHEVA, E. F.; MARÍN-FELIX, Y.; MARTÍN, M. P.; MOSTERT, L.; NIGRO, F.; PEREIRA, O. L.; PICILLO, B.; PINHO, D. B.; POPOV, E. S.; PELÁEZ, C. A.; RODAS ROONEY-LATHAM, S.; SANDOVAL-DENIS, M.; SHIVAS, R. G.; SILVA, V.; STOILOVA-DISHEVA, M. M.; TELLERIA, M. T.; ULLAH, C.; UNSICKER, S. B.; VAN DER MERWE, N. A.; VIZZINI, A.; WAGNER, H.; WONG, P. T. W.; WOOD, A. R.; GROENEWALD, J. Z. Fungal Planet description sheets: 236-237. **Persoonia**, v. 34, p. 167-266, 2015.
- CROUS, P.W.; HAWKSWORTH, D. L.; WINGFIELD, M. J. Identifying and Naming Plant-Pathogenic Fungi: Past, Present, and Future. **Annual Review Phytopathology**, v. 53, p. 247-267, 2015.
- DAMM, U.; CANNON, P. F.; LIU, F.; BARRETO, R. W.; GUATIMOSIM, E.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum orbiculare* species complex: Important pathogens of field crops and weeds. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 29–59, 2013.
- DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDEMBERG, J. H. C, JOHNSTON, P. R.; WEIR, B.S.; TAN, Y.P.; SHIVAS, R.G.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology*, v. 73, p. 1–36, 2012b.
- DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDEMBERG, J. H. C.; CROUS, P. W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 37–113, 2012a.
- DAMM, U.; O'CONNELL, R. J.; GROENEWALD, J. Z.; 1, CROUS, P. W. The *Colletotrichum destructivum* species complex – hemibiotrophic pathogens of forage and field crops. **Studies in Mycology**, v. 79, p. 49–84, 2014.
- DAMM, U.; WOUDEMBERG, J. H. C.; CANNON, P. F.; CROUS, P. W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 45–87, 2009.
- DEAN, R.; VAN KAN, J. A. L.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G. D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414 – 430, 2012.

- DIAO, Y.; ZHANG, C.; XU, J.; LIN, D.; LIU, L.; MTUNG'E, O. G.; LIU, X. Genetic differentiation and recombination among geographic populations of the fungal pathogen *Colletotrichum truncatum* from chili peppers in China. **Evolutionary Applications**, v. 8, p. 108-118, 2015.
- DOUANLA-MELI, C.; UNGER, J. G. Phylogenetic study of the *Colletotrichum* species on imported citrus fruits uncovers a low diversity and a new species in the *Colletotrichum gigasporum* complex. **Fungal Biology**, v. 121, p. 858-868, 2017.
- DOUANLA-MELI, C.; UNGER, J.; LANGER, E. Multi-approach analysis of the diversity in *Colletotrichum cliviae* sensu lato. **Antonie van Leeuwenhoek**, p. 1-13, 2017. DOI: 10.1007/s10482-017-0965-9
- DOYLE, V. P.; OUDEMANS, P. V.; REHNER, S. A.; LITT, A. Habitat and host indicate lineage identity in *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. from wild and agricultural landscapes in North America. **PLoS One**, v. 8, p. e62394, 2013.
- DRENTH, A.; GUEST, D. I. Fungal and Oomycete Diseases of Tropical Tree Fruit Crops. **Annual Review of Phytopathology**, v. 54, p. 373–395, 2016.
- EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, p. 1792-97, 2004.
- EWING, B.; GREEN, P. Basecalling of automated sequencer traces using PHRED. II. Error probabilities. **Genome Research**, v. 8, p. 186-94, 1998.
- FAO: **Food and Agriculture Organization of The United Nations**. Citrus Fruit - Fresh and Processed Statistical Bulletin 2016. Rome, 2017.
- FARR, D. F.; ROSSMAN, A. Y. **Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory**, ARS, USDA, 2017. Acessado em 26 de outubro de 2017. <https://nt.ars-grin.gov/fungalatabases/>
- FISCHER, I. H.; SOARES-COLLETTI, A. R.; PALHARINI, M. C. A.; PARISI, M. C. M.; AMORIM, L. Temporal progress and spatial patterns of quiescent diseases in guava influenced by sanitation practices. **Scientia Agricola**, v.74, n.1, p. 68-76, 2017.
- FRANCO, C. C. S.; SANT' ANNA, J. R.; ROSADA, L. J.; KANESHIMA, E. N.; STANGARLIN, J. R.; CASTRO-PRADO, M. A. A. Vegetative compatibility groups and parasexual segregation in *Colletotrichum acutatum* isolates infecting different hosts. **Phytopathology**, v. 101, p. 923-928, 2011.

- FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E. “**Doenças do cajueiro,**” in Doenças De Fruteiras Tropicais De Interesse Agroindustrial, eds Freire F. C. O., Cardoso J. E., Viana F. M. P., editors. (Brasília: Embrapa, Informação Técnica), p. 192–225. 2003.
- FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; DOS SANTOS, A. A.; VIANA, F. M. P. Diseases of cashew nut plants (*Anacardium occidentale* L.) in Brazil. **Crop Protection**, v. 21, p. 489–494, 2002.
- GAN, P.; NARUSAKA, M.; KUMAKURA, N.; TSUSHIMA, A.; TAKANO, Y.; NARUSAKA, Y.; SHIRASU, K. Genus-Wide Comparative Genome Analyses of *Colletotrichum* Species Reveal Specific Gene Family Losses and Gains during Adaptation to Specific Infection Lifestyles. **Genome Biology and Evolution**, v. 8, n. 5, p. 1467–1481, 2016.
- GOES A.; KUPPER K.C. Controle das doenças causadas por fungos e bactérias na cultura dos citros L. Zambolim (Ed.), Manejo Integrado: Fruteiras Tropicais - Doenças e Pragas, Viçosa, Brasil (2002), pp. 353-412.
- GOES, A; GARRIDO, R.B.O.; REIS, R.F.; BALDASSARI, R.B.; SOARES, M.A. Evaluation of fungicide applications to sweet orange at different flowering stages for control of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum*. **Crop Protection**, v. 27, n. 1, p. 71-76, 2008.
- GOODWIN, P. H. A molecular weed-mycoherbicide interaction: *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* and round-leaved mallow, *Malva pusilla*. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 23, p. 28 – 35, 2001.
- GORDON, D.; ABAJIAN, C.; GREEN, P. CONSED: a graphical tool for sequence finishing. **Genome Research**, v. 8, p. 195-202, 1998.
- GRAMAJE, D.; LEÓN, M.; SANTANA, M.; CROUS, P. W.; ARMENGOL, J. Multilocus ISSR Markers Reveal Two Major Genetic Groups in Spanish and South African Populations of the Grapevine Fungal Pathogen *Cadophora luteo-olivacea*. **PLoS ONE**, v. 9, n.10, p. 1-13, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0110417
- GUARNACCIA, V.; GROENEWALD, J. Z.; POLIZZI, G.; CROUS, P.W. High species diversity in *Colletotrichum* associated with citrus diseases in Europe. **Persoonia**, v. 39, p. 32–50, 2017.

- HAN, Y. C.; ZENG, X. G.; XIANG, F. Y., REN, L.; CHEN, F. Y.; GU, Y. C. Distribution and Characteristics of *Colletotrichum* spp. Associated with Anthracnose of Strawberry in Hubei, China. **Plant Disease**, v. 100, n. 5, p. 996 – 1006, 2016.
- HAWKSWORTH, D. L.; CROUS, P. W.; REDHEAD, S. A.; REYNOLDS, D. R.; SAMSON, R. A.; SEIFERT, K. A.; TAYLOR, J. W.; WINGFIELD, M. J.; ABACI, Ö.; AIME, C.; ASAN, A.; BAI, F.; BEER, Z. W.; BEGEROW, D.; BERIKTEN, D.; BOEKHOUT, T.; BUCHANAN, P. K.; BURGESS, T.; BUZINA, W.; CAI, L.; CANNON, P. F.; CRANE, J. L.; DAMM, U.; DANIEL H.; VAN DIEPENINGEN, A. D.; DRUZHININA, I.; DYER, P. S.; EBERHARDT, U.; FELL, J. W.; FRISVAD, J. C.; GEISER, D. M.; GEML, J.; GLIENKE, C.; GRÄFENHAN, T.; GROENEWALD, J. Z.; GROENEWALD, M.; GRUYTER, J.; GUÉHO-KELLERMANN, E.; GUO, L.; HIBBETT, D. S.; HONG, S.; HOOG, G. S.; HOUBRAKEN, J.; HUHNDORF, S. M.; HYDE, K. D.; ISMAIL, A.; JOHNSTON, P. R.; KADAIFCILER, D. G.; KIRK, P. M.; KÖLJALG, U.; KURTZMAN, C. P.; LAGNEAU, P.; LÉVESQUE, C. A.; LIU, X.; LOMBARD, L.; MEYER, W.; MILLER, A.; MINTER, D. W.; NAJAFZADEH, M. J.; NORVELL, L.; OZERSKAYA, S. M.; ÖZİÇ, R.; PENNYCOOK, S. R.; PETERSON, S. W.; PETTERSSON, O. V.; QUAEDVLIEG, W.; ROBERT, V. A.; RUIBAL, C.; SCHNÜRER, J.; SCHROERS, H.; SHIVAS, R.; SLIPPERS, B.; SPIERENBURG, H.; TAKASHIMA, M.; TAŞKIN E.; THINES, M.; THRANE, U.; UZTAN, A. H.; VAN RAAK, M.; VARGA, J.; VASCO, A.; VERKLEY, G.; VIDEIRA, S. I.R.; VRIES, R. P.; WEIR, B. S.; YILMAZ, N.; YURKOV, A.; ZHANG, N. The Amsterdam declaration on fungal nomenclature. **IMA Fungus**, v. 2, p. 105–112, 2011.
- HIBBETT, D. S.; BINDER, M.; BISCHOFF, J. F.; BLACKWELL, M.; CANNON, P. F.; ERIKSSON, O. E.; HUHNDORF, S.; JAMES, T.; KIRK, P. M.; LUCKING, R.; LUMBSCH, H. T.; LUTZONI, F.; MATHENY, P. B.; MCLAUGHLIN, D. J.; POWELL, M. J.; REDHEAD, S.; SCHOCH, C. L.; SPATAFORA, J. W.; STALPERS, J. A.; VILGALYS, R.; AIME, M. C.; APTROOT, A.; BAUER, R.; BEGEROW, D.; BENNY, G. L.; CASTLEBURY, L. A.; CROUS, P. W.; DAI, Y. C.; GAMS, W.; GEISER, D. M.; GRIFFITH, G. W.; GUEIDAN, C.; HAWKSWORTH, D. L.; HESTMARK, G.; HOSAKA, K.; HUMBER, R. A.; HYDE, K. D.; AIRONSIDE, J. E.; KOLJALG, U.; KURTZMAN, C. P.; LARSSON, K. H.; LICHTWARDT, R.;

- LONGCORE, J.; MIADLIKOWSKA, J.; MILLER, A.; MONCALVO, J. M.; MOZLEY-STANDRIDGE, S.; OBERWINKLER, F.; PARMASTO, E.; REEB, V.; ROGERS, J. D.; ROUX, C.; RYVARDEN, L.; SAMPAIO, J. P.; SCHUSSLER, A.; SUGIYAMA, J.; THORN, R. G.; TIBELL, L.; UNTEREINER, W. A.; WALKER, C.; WANG, Z.; WEIR, A.; WEISS, M.; WHITE, M. M.; WINKA, K.; YAO, Y. J.; ZHANG, N. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, v. 111, p. 509–547, 2007.
- HONG, S. K.; WAN, G. K.; YUN, H. K.; CHOI, K. J. Morphological Variations, Genetic Diversity and Pathogenicity of *Colletotrichum* species Causing Grape Ripe Rot in Korea. **Plant Pathology Journal**, v. 24, p. 269–278, 2008.
- HSIAO, Y.; CHENG, M. J.; CHANG, H. S.; WU, M. D.; HSIEH, S. Y.; LIU, T. W.; LIN, C. H.; YUAN, G. F.; CHEN, I. S. Six new metabolites produced by *Colletotrichum aotearoa* 09F0161, an endophytic fungus isolated from *Bredia oldhamii*. **Natural Product Research**, v. 30, p. 251–258, 2016.
- HUANG, F., CHEN, G. Q., HOU, X., FU, Y. S., CAI, L., HYDE, K. D., & LI, H. Y. *Colletotrichum* species associated with cultivated citrus in China. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 61–74, 2013.
- HUNUPOLAGAMA, D. M.; WIJESUNDERA, R. L. C.; CHANDRASEKHARAN, N. V.; WIJESUNDERA, W. S. S.; KATHRIARACHCHI, H. S.; FERNANDO, T. H. P. S. Characterization of *Colletotrichum* isolates causing avocado anthracnose and first report of *C. gigasporum* infecting avocado in Sri Lanka. **Plant Pathology & Quarantine**, v. 5, n. 2, p. 132–143, 2015.
- HYDE, K. D., NILSSON, R. H., ALIAS, S. A., ARIYAWANSA, H. A., BLAIR, J. E., CAI, L., DE COCK, A. W. A. M., DISSANAYAKE, A. J., GLOCKLING, S. L., GOONASEKARA, I. D., GORCZAK, M., HAHN, M., JAYAWARDENA, R. S., VAN KAN, J. A. L., LAURENCE, M. H., LÉVESQUE, C. A., LI, X., LIU, J. K., MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N., MANAMGODA, D. S., MARTIN, F. N., MCKENZIE, E. H. C., MCTAGGART, A. R., MORTIMER, P. E., NAIR, P. V. R., PAWŁOWSKA, J., RINTOUL, T. L., SHIVAS, R. G., SPIES, C. F. J., SUMMERELL, B. A., TAYLOR, P. W. J., TERHEM, R. B., UDAYANGA, D., VAGHEFI, N., WALTHER, G., WILK, M., WRZOSEK, M., XU, J. C., YAN, J. Y.,

- & ZHOU, N. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I. **Fungal Diversity**, v. 67, p. 21–125, 2014.
- 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**, v.39, p. 147–182, 2009b.
- HYDE, K. D.; CAI, L.; MCKENZIE, E. H. C.; YANG, Y. L.; ZHANG, J. Z.; PRIHASTUTI, H. *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. **Fungal Diversity**, v.39, p. 1–17, 2009a.
- IBGE: **INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA**. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. v.29, n.12 p.1-88, 2015.
- ISMAIL, A.M.; CIRVILLERI, G.; YASEEN, T.; EPIFANI, F.; PERRONE, G.; POLIZZI, G. Characterisation of *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of mango in Italy. **Journal of Plant Pathology**, v. 97, n. 1, p. 167-171, 2015.
- JAYAWARDENA, R. S.; HYDE, K. D.; DAMM, U.; CAI, L.; LIU, M.; LI, X. H., et al. Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. **Mycosphere**, v. 7, p. 1192–1260, 2016b.
- JAYAWARDENA, R. S.; HYDE, K. D.; JEEWON, R.; LIU, X. H.; LIU, M.; YAN, J. Y. Why it is important to correctly name *Colletotrichum* species? **Mycosphere**, v. 7, p. 1076–1092, 2016a.
- JOHNSON, M.; ZARETSKAYA, I.; RAYTSELIS, Y.; MERZHUH, Y.; MCGINNIS, S.; MADDEN, T. L. NCBI BLAST: a better web interface. **Nucleic Acids Research**, v. 36, p. W5-W9, 2008.
- JOHNSTON, P. R.; PENNYCOOK, S. R.; MANNING, M. A. Taxonomy of fruit-rotting fungal pathogens: what's really out there? **New Zealand Plant Protection**, v. 58, p. 42–46, 2005.
- KAMLE, M.; PANDEY, B. K.; KUMAR, P.; KUMAR, M. M. A Species-Specific PCR Based Assay for Rapid Detection of Mango Anthracnose Pathogen *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. and Sacc. **Journal of Plant Pathology and Microbiology**, v. 4, p. 1-6, 2013.

- KISS, L. Limits of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences as species barcodes for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 27, E1811, 2012.
- KRISHNAPILLAI, N.; WILSON-WIJERATNAM, R. S. First report of *Colletotrichum asianum* causing anthracnose on Willard mangoes Sri Lanka. **New Disease Reports**, v. 29, p. 1, 2014.
- KUMAR, S.; THIRD, T. S.; MOHAN, C. Occurrence of *Gloeosporium ampelophagum* and *Colletotrichum gloeosporioides*, the incitants of grape anthracnose, during different months in Punjab. **Plant Disease Research**, v. 9, p. 222–224, 1994.
- KUMMUANG, N.; DIEHL, S. V.; SMITH, B. J.; JR GRAVES, C. H. Muscadine grape berry rot disease in Mississippi: disease epidemiology and crop reduction. **Plant Disease**, v. 80, p. 244–247, 1996.
- KUNTA, M.; PARK, J-W.; VEDASHARAN, P.; DAGRACA, J.; TERRY, M. D. First Report of *Colletotrichum queenslandicum* on Persian lime causing leaf anthracnose in the USA. **Plant Disease**, <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1382-PDN>, 2017.
- KURAMAE-IZIOKA, E. E. A rapid, easy and high yield protocol for total genomic DNA isolation of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum*. **Revista Unimar**, v. 19, p. 683-689, 1997.
- LEI, Y.; TANG, X. B.; JAYAWARDENA, R. S.; YAN, J. Y.; WANG, X. D.; LIU, M.; CHEN, T.; LIU, X. M.; WANG, J. C.; CHEN, Q. X. Identification and characterization of *Colletotrichum* species causing grape ripe rot in southern China. **Mycosphere**, v. 7, n.8, p. 1177–1191, 2016.
- LENARDON, M. D.; MUNRO, C. A.; GOW, N. A. Chitin synthesis and fungal pathogenesis. **Current Opinion in Microbiology**, v. 13, n. 4, p. 416 - 423, 2010. <http://doi.org/10.1016/j.mib.2010.05.002>
- LIM, T. K.; MANICOM, B. Q. **Diseases of guava**. In: Ploetz RC. (ed) Diseases of Tropical Fruit Crops. Homestead, CABI Publishing, pp 275–289. 2003.
- 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, 2013a.

- LIMA, N. B.; LIMA, W. G.; TOVAR-PEDRAZA, J. M.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, p. 2-12, 2014. DOI: 10.1007/s10658-014-0570-y
- LIMA, N. B.; MARQUES, M. W.; MICHEREFF, S. J.; MORAES JR., M. A.; BARBOSA, M. A. G.; CÂMARA, M. P. S. First report of mango anthracnose caused by *Colletotrichum karstii* in Brazil. **Plant Disease**, v. 97, n. 3, p. 1248, 2013b.
- LIMA, W. G.; SPÓSITO, M. B.; AMORIM, L.; GONÇALVES, F. P.; DE FILHO, P. A. M. *Colletotrichum gloeosporioides*, a new causal agent of citrus post-bloom fruit drop. **European Journal of Plant Pathology**, v. 131, p. 157-165, 2011.
- LIU F.; TANG, G.; ZHENG, X.; LI, Y.; SUN, X.; QI, X.; ZHOU, Y.; XU, J.; CHEN, H.; CHANG, X.; ZHANG, S.; GONG, G. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. **Scientific Reports**, v. 6, n. 32761, p. 1-17, 2016a.
- LIU, F.; CAI, L.; CROUS, P. W.; DAMM, U. The *Colletotrichum gigasporum* species complex. **Persoonia**, v. 33, p. 83 - 97, 2014.
- LIU, F.; WANG, M.; DAMM, U.; CROUS, P. W.; CAI, L. Species boundaries in plant pathogenic fungi: a *Colletotrichum* case study. **BMC Evolutionary Biology**, v. 16, n. 81, p. 1-14, 2016b.
- LIU, F.; WEIR, B.S.; DAMM, U.; CROUS, P. W.; WANG, Y.; LIU, B.; WANG, M.; ZHANG, M.; CAI, L. Unravelling *Colletotrichum* species associated with Camellia: employing ApMat and GS loci to resolve species in the *C. gloeosporioides* complex. **Persoonia**, v. 35, p. 63–86, 2015.
- LIU, X.; XIE, X.; DUAN, J. *Colletotrichum yunnanense* sp. nov., a new endophytic species from *Buxus* sp. **Mycotaxon**, v. 100, p. 137–144, 2007.
- LOPEZ, A. M. Q.; LUCAS, J. A. *Colletotrichum* Isolates Related to Anthracnose of Cashew Trees in Brazil: Morphological and Molecular Description Using LSU rDNA Sequences. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, p. 741-752, 2010.
- LU, D. S.; WANG, J. P.; WU, X. Q.; YE, J. R. The species and distribution of endophytic fungi in tea trees. **Journal of Henan Agricultural Sciences**, v. 10, p. 54-56, 2007.

- MACKENZIE, S. J.; PERES, N. A.; BARQUERO, M. P.; ARAUZ, L. F.; TIMMER, L. W. Host range and genetic relatedness of *Colletotrichum acutatum* isolates from fruit crops and leatherleaf fern in Florida. **Phytopathology**, v. 99, p. 620-631, 2009.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; HYDE, K. D.; JONES, E. B. G.; MCKENZIE, E. H. C.; BHAT, J. D.; DAYARATHNE, M. C.; HUANG, S. K.; NORPHANPHOUN, C.; SENANAYAKE, I. C.; PERERA, R. H.; SHANG, Q. J.; XIAO, Y.; D'SOUZA, M. J.; HONGSANAN, S.; JAYAWARDENA, R. S.; DARANAGAMA, D. A.; KONTA, S.; GOONASEKARA, I. D.; ZHUANG, W. Y.; JEEWON, R.; PHILLIPS, A. J. L.; ABDEL-WAHAB, M. A.; AL-SADI, A. M.; BAHKALI, A. H.; BOONMEE, S.; BOONYUEN, N.; CHEEWANGKON, R.; DISSANAYAKE, A. J.; KANG, J.; LI, Q. R.; LIU, J. K.; LIU, X. Z.; LIU, Z. Y.; LUANGSA-ARD, J. J.; PANG, K. L.; PHOOKAMSAK, R.; PROMPUTTHA, I.; SUETRONG, S.; STADLER, M.; WEN, T.; WIJAYAWARDENE, N. N. Families of Sordariomycetes. **Fungal Diversity**, v. 79, p. 1–317, 2016.
- MAHARACHCHIKUMBURA, S. S. N.; HYDE, K. D.; JONES, E. B. G.; MCKENZIE, E. H. C.; HUANG, S.; ABDEL-WAHAB, M. A.; DARANAGAMA, D. A.; DAYARATHNE, M.; D'SOUZA, M. J.; GOONASEKARA, I. D.; HONGSANAN, S.; JAYAWARDENA, R. S.; KIRK, P. M.; KONTA, S.; LIU, J.; LIU, Z.; NORPHANPHOUN, C.; SHENOY, B. D.; XIAO, Y.; BAHKALI, A. H.; KANG, J.; SOMROTHIPOL, S.; SUETRONG, S.; WEN, T.; XU, J. Towards a natural classification and backbone tree for Sordariomycetes. **Fungal Diversity**, v. 72, p. 199–301, 2015.
- MAHARAJ, A.; RAMPERSAD, S. N. Genetic differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. truncatum* associated with Anthracnose disease of papaya (*Carica papaya* L.) and bell pepper (*Capsium annuum* L.) based on ITS PCR-RFLP fingerprinting. **Molecular Biotechnology**, v. 50, n. 3, p. 237-249, 2012.
- MAHMODI, F.; KADIR, J. B.; PUTEH, A.; POURDAD, S. S.; NASEHI, A.; SOLEIMANI, N. Genetic Diversity and Differentiation of *Colletotrichum* spp. Isolates Associated with Leguminosae Using Multigene Loci, RAPD and ISSR. **Plant Pathology**, v. 30, p. 10-24, 2014.

- MANAMGODA, D. S.; UDAYANGA, D.; CAI, L.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. Endophytic *Colletotrichum* from tropical grasses with a new species *C. endophytica*. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 107–115, 2013.
- MANIRE, C. A.; RHINEHART, H. L.; SUTTON, D. A.; THOMSON, E. H.; RINALDI, M. G.; BUCK, J. D.; JACOBSON, E. Disseminated mycotic infection caused by *Colletotrichum acutatum* in a Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 4273–4280, 2002.
- MARIN-FELIX, Y.; GROENEWALD, J. Z.; CAI, L.; CHEN, Q.; MARINCOWITZ, S.; BARNES, I.; BENSCH, K.; BRAUN, U.; CAMPORESI, E.; DAMM, U.; DE BEER, Z. W.; DISSANAYAKE, A.; EDWARDS, J.; GIRALDO, A.; HERNÁNDEZ-RESTREPO, M.; HYDE, K. D.; JAYAWARDENA, R.S.; LOMBARD, L.; LUANGSA-ARD, J.; MCTAGGART, A. R.; ROSSMAN, A. Y.; 17, SANDOVAL-DENIS, M.; SHEN, M.; SHIVAS, R.G.; TAN, Y. P.; VAN DER LINDE, E. J.; WINGFIELD, M. J.; WOOD, A. R.; ZHANG, J. Q.; ZHANG, Y.; CROUS, P. W. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. *Studies in Mycology*, v. 86, p. 99–216, 2017.
- MARQUES, J. P. R.; AMORIM, L.; SPÓSITO, M. B.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Histopathology of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum* in citrus flowers. **European Journal of Plant Pathology**, v. 135, p. 783-790, 2013.
- MASCARIN, G. M.; GUARÍN-MOLINA, J. H.; ARTHURS, S. P.; HUMBER, R. A.; MORAL, R. A.; DEMÉTRIO, C. G.; DELALIBERA JR, I. Seasonal prevalence of the insect pathogenic fungus *Colletotrichum nymphaeae* in Brazilian citrus groves under different chemical pesticide regimes. **Fungal Ecology**, v. 22, p. 43–51, 2016.
- MCGOVERN, R. J.; SEIJO, T. E.; HENDRICKS, K.; ROBERTS, P. D. New report of *Colletotrichum gloeosporioides* causing postbloom fruit drop on citrus in Bermuda. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 34, p. 187-194, 2012.
- MCNEIL, J.; BARRIE, F. R.; BURDET, H. M.; DEMOULIN, V.; HAWKSWORTH, D. J.; MARHOLD, K.; NICOLSON, D. H.; PRADO, J.; SILVA, P. C.; SKOG, J. E.; WIERSEMA, J. H.; TURLANE, N. J. International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code). In: INTERNATIONAL BOTANICAL CONGRESS,

- 17., 2005, Vienna. **Abstracts....** Ruggel: ARG Gantner Verlag, Ruggell, 2012. p.1- 568.
- MELKSHAM, K. J.; WECKERT, M. A.; STEEL, C. C. An unusual bunch rot of grapes in sub-tropical regions of Australia caused by *Colletotrichum acutatum*. **Australasian Plant Pathology**, v. 31, p. 193–194, 2002.
- MEREDITH, D. S. Studies on *Gloeosporium musarum* Cke. & Masee causing storage rots of Jamaican bananas. I. Anthracnose and its chemical control. **Annals of Applied Biology**, v. 48, p. 279-290, 1960.
- MILLS, P. R.; SREENIVASAPRASAD, S.; BROWN, A. E. Detection and differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates using PCR. **FEMS Microbiology Letters**, v. 98, p. 137-143, 1992.
- MOLINA-CHAVES, A.; GÓMEZ-ALPÍZAR, L.; UMAÑA-ROJAS, G. Identificación de especies del género *Colletotrichum* asociadas a la antracnosis en papaya (*Carica papaya* L.) em Costa Rica. **Agronomía Costarricense**, v. 41, n. 1, p. 69-80, 2017.
- MORENO-MORAN, M.; BURBANO-FIGUERO, O. Dynamics of cotton ramulosis epidemics caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* in Colombia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 149, n. 2, p. 443-454, 2017.
- MORTON, J. F. **Papaya**. In: Morton, J. F. (ed). Fruits of Warm Climates. Miami, FL. pp: 336-346. 1987.
- MOSCA, S.; NICOSIA, L. D. M. G.; CACCIOLA, S. O.; SCHENA, L. Molecular Analysis of *Colletotrichum* Species in the Carposphere and Phyllosphere of Olive. **PLoS ONE**, v. 9, p. 1-21, 2014.
- MÜNCH, S.; LINGNERB, U.; FLOSSA, D. S.; LUDWIGA, N.; SAUERB, N.; DEISINGA, H. B. The hemibiotrophic lifestyle of *Colletotrichum* species. **Journal of Plant Physiology**, v. 165, p. 41-51, 2008.
- NAMIKOSHI M., AKANO K., KOBAYASHI H., KOIKE Y., KITAZAWA A., RONDONUWU A. B.; PRATASIK, S. B. Distribution of marine filamentous fungi associated with marine sponges in coral reefs of Palau and Bunaken Island, Indonesia. **Journal of the Tokyo University of Fisheries**, v. 88, p. 15 - 20, 2002.
- NASCIMENTO, R. J.; MIZUBUTI, E. S. G.; CÂMARA, M. P. S.; FERREIRA, M. F.; MAYMON, M.; FREEMAN, S., MICHEREFF, S. J. First Report of Papaya Fruit

- Rot Caused by *Colletotrichum magna* in Brazil. **Plant Disease**, v. 94, n. 12, p. 1506, 2010. DOI: 10.1094/PDIS-08-10-0555
- NATARAJAN, S. V.; REKHA, N. S.; SHARDA, R. D.; MAHALINGAM N. *Colletotrichum keratitis*: A Rare but Definite Clinical Entity. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 7, n. 7, p.1430-1433, 2013.
- NAZRIYA, M. N. F.; DE COSTA, D. M.; AZHAAR, A. S. Genomic variation of *Colletotrichum musae* morphotypes infecting banana varieties of Sri Lanka. **Proceedings, Peradeniya University International Research Sessions**, v. 12, p. 1-2, 2007.
- NG, W. L.; TAN, S.G. Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers: Are We Doing It Right? **ASM Science Journal**, v. 9, n. 1, p. 30–39, 2015.
- NGUYEN, P. T. H.; PETTERSSON, O. V.; OLSSON, P.; LILJEROTH, E. Identification of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of coffee in Vietnam. **European Journal of Plant Pathology**, v. 127, p. 73-87, 2010.
- O'CONNELL, R. J.; THON, M. R.; HACQUARD, S.; AMYOTET, S. G.; KLEEMANN, J.; TORRES, M. F.; DAMM, U.; BUIATE, E. A.; EPSTEIN, L.; ALKAN, N.; ALTMÜLLER, J.; ALVARADO-BALDERRAMA, L.; BAUSER, C. A.; BECKER, C.; BIRREN, B. W.; CHEN, Z.; CHOI, J.; CROUCH, J. A.; DUVICK, J. P.; FARMAN, M. A.; GAN, P.; HEIMAN, D.; HENRISSAT, B.; HOWARD, R. J.; KABBAGE, M.; KOCH, C.; KRACHER, B.; KUBO, Y.; LAW, A. D.; LEBRUN, M. H.; LEE, Y. H.; MIYARA, I.; MOORE, N.; NEUMANN, U.; NORDSTRÖM, K.; PANACCIONE, D. G.; PANSTRUGA, R.; PLACE, M.; PROCTOR, R. H.; PRUSKY, D.; RECH, G.; REINHARDT, R.; ROLLINS, J. A.; ROUNSLEY, S.; SCHARDL, C. L.; SCHWARTZ, D. C.; SHENOY, N.; SHIRASU, K.; SIKHAKOLLI, U. R.; STÜBER, K.; SUKNO, S. A.; SWEIGARD, J. A.; TAKANO, Y.; TAKAHARA, H.; TRAIL, F.; H VAN DER DOES, C.; VOLL, L. M.; WILL, I.; YOUNG, S.; ZENG, Q.; ZHANG, J.; ZHOU, S.; DICKMAN, M. B.; SCHULZE-LEFERT, P.; VER LOREN VAN THEMAAT, E.; MA, L. J.; VAILLANCOURT, L. J. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. **Nature Genetics**, v. 44, p. 1060-1065, 2012.
- PAN, F. Y.; HUANG, Y.; LIN, L.; ZHOU, Y. M.; WEI, R. F.; GUO, W. F.; YIN, L.; LU, J. First Report of *Colletotrichum capsici* Causing Grape Ripe Rot in Guangxi, China.

- Plant Disease**, v. 100, n. 12, p. 2531, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-16-0691-PDN>
- PARDO-DE LA HOZ, C. J.; CALDERON, C.; RINCON, A. M.; CÁRDENAS, M.; DANIESA, G.; LÓPEZ-KLEINEB, L.; RESTREPOA, S.; JIMÉNEZ, P. Species from the *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum boninense* and *Colletotrichum gloeosporioides* species complexes associated with tree tomato and mango crops in Colombia. **Plant Pathology**, v. 65, p. 227-237, 2016.
- PAULL, R. E.; NISHIJIMA, W.; REYES, M.; CAVALETTO, C. C. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 11, p. 165-179, 1997.
- PEDRO JÚNIOR, M. J.; PEZZOPANE, J. R. M.; MARTINS, F. P. Uso da precipitação pluvial para previsão de épocas de pulverização visando controle de doenças fúngicas na videira 'Niagara Rosada'. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 7, p. 107–11, 1999.
- PENG, L.; SUN, T.; YANG, Y.; CAI, L.; HYDE, K. D.; BAHKALI, A. H.; LIU, Z. *Colletotrichum* species on grape in Guizhou and Yunnan provinces, China. **Mycoscience**, v. 54, p. 29 - 41, 2013.
- PENG, L.; YANG, Y. L.; HYDE, K. D.; BAHKALI, A. H.; LIU, Z. Y. *Colletotrichum* species on Citrus leaves in Guizhou and Yunnan provinces, China. **Cryptogamie Mycologie**, v. 33, p. 267–283, 2012.
- PENZIG, A. G. O. Fungi agrumicoli. Contribuzione allo studio dei funghi parassiti degli agrumi. **Michelia**, v. 2, p. 385–508, 1882.
- 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**, v. 150, p. 128-134, 2002.
- PERES, N. A., MACKENZIE, S. J., PEEVER, T. L., TIMMER, L. W. Postbloom fruit drop of citrus and Key lime anthracnose are caused by distinct phylogenetic lineages of *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology**, v. 98, p. 345-352, 2008.
- PERES, N. A.; TIMMER, L. W.; ADASKAVEG, J. E.; CORRELL, J. C. Life styles of *Colletotrichum acutatum*. **Plant Disease**, v. 89, p. 784–796, 2005.

- 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**, v. 27, p. 186 - 198, 1999.
- PERRONE, G.; MAGISTÀ, D.; ISMAIL, A. M. First report of *Colletotrichum kahawae* subsp. *ciggaro* on mandarin in Italy. **Journal of Plant Pathology**, v. 98, p. 12, 2016.
- PHOTITA, W.; TAYLOR, P. W. J.; FORD, R.; HYDE, K. D.; LUMYONG, S.– Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. **Fungal Diversity**, v. 18, p. 117–133, 2005.
- PHOULIVONG, S.; CAI, L.; CHEN, H.; MCKENZIE, E. H. C.; ABDELSALAM, K.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. *Colletotrichum gloeosporioides* in not a common pathogen on tropical fruits. **Fungal Diversity**, v. 44: p. 33 – 43, 2010.
- PHOULIVONG, S.; MCKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D. Cross infection of *Colletotrichum* species; a case study with tropical fruits. **Current Research in Environmental & Applied Mycology**, v. 2, n.2, p. 99-111, 2012.
- PILEGGI, S. A. V.; OLIVEIRA, S. F. V.; WACULICZ-ANDRADE, C. E.; VICENTE, V. A.; DALZOTO, P. R.; CRUZ, G. K.; GABARDO, J.; MASSOLA JR, N. S.; TORRES, H. J. Jr.; PILEGGI, M.; KAVA-CORDEIRO, V.; GALLI-TERESAWA, L. V.; PIMENTEL, I. C.; GLIENKE, C. Molecular and Morphological Identification of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum boninense* isolated from *Maytenus ilicifolia*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 55, p. 1076-1088, 2009.
- PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P. The Postharvest of Tropical Fruits in Brazil. **Food Quality, Safety and Technology**, p. 77-87, 2013. DOI: 10.1007/978-3-7091-1640-1_6
- POOLSAWAT, O.; THARAPREUKSAPONG, A.; WONGKAEW, S.; REISCH, B.; TANTASAWAT, P. Genetic diversity and pathogenicity analysis of *Sphaceloma ampelinum* causing grape anthracnose in Thailand. **Journal of Phytopathology**, v. 158, p. 837–840, 2010.
- POSADA, D.; BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike Information Criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests. **Systematic Biology**, v. 53, p. 793-808.,2004.

- PRUSKY, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, p. 413-434, 1996.
- PRUSKY, D.; ALKAN, N.; MENGISTE, T.; FLUHR, R. Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. **Annual Review of Phytopathology**, v. 51, p. 155–176, 2013.
- RAJA, H. A.; MILLER, A. N.; PEARCE, C. J.; OBERLIES, N. H. Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. **Journal of Natural Products**, v. 80, p. 756–770, 2017.
- RAKOTONIRIANA, E. F.; SCAUFLAIRE, J.; RABEMANANTSOA, C.; URVEG-RATSIMAMANGA, S.; CORBISIER, A. M.; QUETIN-LECLERCQ, J.; DECLERCK, S.; MUNAUT, F. *Colletotrichum gigasporum* sp. nov., a new species of *Colletotrichum* producing long straight conidia. **Mycological Progress**, v. 12, p. 403 - 412, 2013.
- RAMOS, A. P.; TALHINHAS, P.; SREENIVASAPRASAD, S.; OLIVEIRA, H. Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides*, as the main causal agent of citrus anthracnose, and *C. karstii* as species preferentially associated with lemon twig dieback in Portugal. **Phytoparasitica**, v. 44, p. 549-561, 2016.
- RAMPERSAD, S. N. Genetic Structure of *Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* Isolates Infecting Papaya Inferred by Multilocus ISSR Markers. **Phytopathology**, v. 103, p. 182-189, 2013.
- RAMPERSAD, S. N. Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of papaya in Trinidad. **Plant Disease**, v. 95, p. 1244-1254, 2011.
- RATANACHERDCHAI, K.; WANG, H. K.; LIN, F. C.; SOYTONG, K. ISSR for comparison of cross-inoculation potential of *Colletotrichum capsici* causing chilli anthracnose. **African Journal of Microbiology Research**, v. 4, p. 76-83, 2010.
- RHAIEM, A.; TAYLOR, P. W. J. *Colletotrichum gloeosporioides* associated with anthracnose symptoms on citrus, a new report for Tunisia. **European Journal of Plant Pathology**, v. 146, n. 1, p. 219–224, 2016.
- RIBEIRO, I. J. A. **Doenças da mangueira**. In: Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (eds) Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4th edn. Ceres, São Paulo, pp 457–465. 2005.

- RIVERA-VARGAS, L. I.; LUGO-NOEL, Y.; MCGOVERN, R. J.; SEIJO, T.; DAVIS, M. J. Occurrence and distribution of *Colletotrichum* spp. on mango (*Mangifera indica* L.) in Puerto Rico and Florida, USA. **Plant Pathology Journal**, Faisalabad, v.5, n.2, p.191-198, 2006.
- ROGÉRIO, F.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; BARBIERI, M. C.; BRAGANÇA, C. A.; SEIXAS, C. D.; ALMEIDA, A. M.; MASSOLA JR, N. S. Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 2, p. 402-415, 2017.
- ROJO-BÁEZ, I.; 2, GARCÍA-ESTRADA, R. S.; SAÑUDO-BARAJAS, A. J.; LEÓN-FÉLIX, J.; ALLENDE-MOLAR, R. Proceso de infección de antracnosis por *Colletotrichum truncatum* en papaya Maradol. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, p. 1-5, 2016.
- RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, p. 1572-1574, 2003.
- SAINI, T. J.; GUPTA, S. G.; ANANDALAKSHMI, R. First report of papaya anthracnose caused by *Colletotrichum fructicola* in India. **New Disease Reports**, v. 34, p. 27, 2016. DOI: 10.5197/j.2044-0588.2016.034.027
- SAINI, T. J.; GUPTA, S. G.; ANANDALAKSHMI, R. First report of papaya anthracnose caused by *Colletotrichum salsolae* in India. **New Disease Reports**, v. 35, p. 27, 2017. DOI: 10.5197/j.2044-0588.2017.035.027
- SAKINAH, M. A. I.; SUZianti, I. V.; LATIFFAH, Z. Phenotypic and molecular characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose of banana (*Musa* spp.) in Malaysia. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 3627-3637, 2014.
- SAMBROOK, J.; RUSSELL, D.W. **Molecular cloning**: a laboratory manual. 3rd ed. Londres: CSHL Press, 2001. p. 1448.
- SANTOS FILHO, H. P.; MATOS, A. P. **Doenças da mangueira**. In: Freire FCO, Cardoso JE, Viana FMP (eds) Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, pp 435–491. 2003.
- SANTOS, R. F.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; AMORIM, L.; MASSOLA JÚNIOR, N. S.; SPÓSITO, M. B. Aetiology of anthracnose on grapevine shoots in Brazil. **Plant Pathology**, 2017. DOI: 10.1111/ppa.12756

- SAWANT, I. S.; NARKAR, S. P.; SHETTY, D. S.; UPADHYAY, A.; SAWANT, S. D. Emergence of *Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* as the dominant pathogen of anthracnose disease of grapes in India as evidenced by cultural, morphological and molecular data. **Australasian Plant Pathology**, v. 41, p. 493–504, 2012a.
- SAWANT, I. S.; NARKAR, S. P.; SHETTY, D. S.; UPADHYAY, A.; SAWANT, S. D. First report of *Colletotrichum capsici* causing anthracnose on grapes in Maharashtra, India. **New Disease Reports**, v. 25, p. 2, 2012b.
- SAXENA, A.; RAGHUWANSHI, R.; SINGH, H. B. Molecular, phenotypic and pathogenic variability in *Colletotrichum* isolates of subtropical region in north-eastern India, causing fruit rot of chillies. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, p. 1422-1434, 2014.
- SCHAAD, N. W.; FREDERICK, R. D.; SHAW, J.; SCHNEIDER, W. L.; HICKSON, R.; PETRILLO, M. D.; LUSTER, D. G. Advances in molecular based diagnostics in meeting crop biosecurity and phytosanitary issues. **Annual Review of Phytopathology**, v. 2003, n. 41, p. 305 – 324, 2003.
- SCHENA, L.; MOSCA, S.; CACCIOLAB, S. O.; FAEDDAB, R.; SANZANIC, S. M.; AGOSTEO, G. E.; SERGEEVAD, A. V.; MAGNANO DI SAN LIOA, G. Species of the *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. boninense* complexes associated with olive anthracnose. **Plant Pathology**, v. 63, p. 437–446, 2014.
- SEIDLER, N. W. **GAPDH, as a Virulence Factor**. In: GAPDH: Biological Properties and Diversity. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 985. Springer, Dordrecht, 2013.
- SEPIAH, M. **Efficacy of propiconazole against fungi causing postharvest disease on Eksotika papaya**. International Conference, Chaing Mai (Thailand), 19th July, 1993. Australian Center for International Agricultural Research, Canberra, A.C.T. Australia. 1994.
- SERFLING, A.; WOHLRAB, J.; DEISING, H. B. Treatment of a clinically relevant plant-pathogenic fungus with an agricultural azole causes cross-resistance to medical azoles and potentiates caspofungin efficacy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 10, p. 3672-3676, 2007.

- SERRA, I. M. R. S.; MENEZES, M.; COELHO, R. S. B.; FERRAZ, G. M. G.; MONTARROYOS, A. VI. V.; MARTINS, L. S. S. Molecular Analysis in the Differentiation of *Colletotrichum gloeosporioides* Isolates from the Cashew and Mango Trees. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.54, n. 6, p. 1099-1108, 2011.
- SHARMA, G.; GRYZENHOUT, M.; HYDE, K. D.; PINNAKA, A. K.; SHENOY, B. D. First report of *Colletotrichum asianum* causing mango anthracnose in South Africa. **Plant Disease**, v. 99, p. 725, 2015.
- SHARMA, G.; KUMAR, N.; WEIR, B. S.; HYDE, K. D.; SHENOY, B. D. The ApMat marker can resolve *Colletotrichum* species: a case study with *Mangifera indica*. **Fungal Diversity**, v. 61, p.117–138, 2013.
- SHARMA, G.; PINNAKA, A. K.; SHENOY, B. D. Resolving the *Colletotrichum siamense* species complex using ApMat marker. **Fungal Diversity**, v. 71, p. 247–264. 2015.
- SHARMA, G.; SHENOY, B. D. *Colletotrichum* systematics: Past, present and prospects. **Mycosphere**, v. 7, n. 8, p. 1093 - 1102, 2016.
- SHARMA, G.; SHENOY, B. D. Multigene sequence-based identification of *Colletotrichum cymbidiicola*, *C. karstii* and *C. phyllanthi* from India. **Czech Mycology**, p. 65, n. 1, p. 79–88, 2013.
- SHIVAPRAKASH, M. R.; APPANNANAVAR, S. B.; DHALIWAL, M.; GUPTA, A.; GUPTA, S.; GUPTA, A.; CHAKRABARTI, A. *Colletotrichum truncatum*: an Unusual Pathogen Causing Mycotic Keratitis and Endophthalmitis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 8, p. 2894–2898, 2011.
- SILVA, A. O.; SAVI, D. C.; GOMES, F. B.; GOS, F. M. W. R.; SILVA JR, G. J.; GLIENKE, C. Identification of *Colletotrichum* species associated with postbloom fruit drop in Brazil through GAPDH sequencing analysis and multiplex PCR. **European Journal Plant Pathology**, v. 147, p. 731–748, 2017. DOI: 10.1007/s10658-016-1038-z
- SILVA-JUNIOR, G. J.; SPÓSITO, M. B.; MARIN, D. R.; AMORIM, L. Efficacy and timing of application of fungicides for control of citrus Postbloom fruit drop. **Crop Protection**, v. 59, p. 51-56, 2014.

- SILVEIRA, A. L.; STRACIERI, J.; PEREIRA, F. D.; SOUZA, A.; GOES, A. Caracterização molecular de isolados de *Colletotrichum* spp. associados a podridão floral dos citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.38, n. 1, p. 64-71, 2016.
- SIMMONDS, J. H. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Science**, v. 22, p. 437–459, 1965.
- SIMMONDS, J. H. Type specimens of *Colletotrichum gloeosporioides* var. minor and *Colletotrichum acutatum*. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, v. 25, n. 3, p. 178, 1968.
- SOARES-COLLETTI, A. R.; ALVARES, C. A.; SENTELHAS, P. C. An agro-climatic approach to determine citrus postbloom fruit drop risk in Southern Brazil. **International Journal of Biometeorology**, v. 60, n. 6, p. 891-905, 2016.
- SOUZA, A.; CARBONI, R. C. D.; WICKERT, E.; LEMOS, E. G. M.; GOES, A. Lack of host specificity of *Colletotrichum* spp. isolates associated with anthracnose symptoms on mango in Brazil. **Plant Pathology**, v. 62, p. 1038-1047, 2013.
- SQUISSATO, V.; YUCEL, Y. H.; RICHARDSON, S. E.; ALKHOTANI, A.; WONG, D. T.; NIJHAWAN, N.; CHAN, C. C. *Colletotrichum truncatum* species complex: Treatment considerations and review of the literature for an unusual pathogen causing fungal keratitis and endophthalmitis. **Medical Mycology Case Reports**, v. 9, p. 1 - 6, 2015.
- SREENIVASAPRASAD, S.; SHARADA, K.; BROWN, A. E.; MILLS, P. R. PCR-based detection of *Colletotrichum acutatum* on strawberry. **Plant Pathology**, v. 45, p. 650-655, 1996.
- STEPHENSON, S. A.; GREEN, J. R.; MANNERS, J. M.; MACLEAN, D. J. Cloning and characterisation of glutamine synthetase from *Colletotrichum gloeosporioides* and demonstration of elevated expression during pathogenesis on *Stylosanthes guianensis*. **Current Genetics**, v. 31, p. 5, p. 447-54, 1997.
- STÖVER, B. C.; MÜLLER, K. F. TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. **BMC Bioinformatics**, v. 11, p. 7, 2010.

- STRACIERI, J.; PEREIRA, F. D.; SILVEIRA, A. L.; MAGALHÃES, H. M.; GOES, A. Morphocultural and molecular characterization of papaya tree *Colletotrichum* spp. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, p. 1755-1764, 2016.
- SU, Y. Y.; NOIREUNG, P.; LIU, F.; HYDE, K. D.; MOSLEM, M. A.; BAHKALI, A. H.; ABD-ELSALAM, K. A.; CAI, L. Epitypification of *Colletotrichum musae*, the causative agent of banana anthracnose. **Mycoscience**, v. 52, p. 376-382, 2011.
- SUTTON, B. C. **The Coelomycetes**. Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, p. 1–696. 1980.
- SUTTON, B. C. **The genus Glomerella and its anamorph Colletotrichum**. In: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control* (Bailey JA, Jeger MJ, eds). CABI, Wallingford, UK: 1–26. 1992.
- SWOFFORD, D. L. PAUP: **Phylogenetic Analysis Using Parsimony**, version 4.0b10. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 2002.
- TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R.; LE FLOCH, G. Anthracnose of lupins caused by *Colletotrichum lupini*: a recent disease and a successful worldwide pathogen. **Journal of Plant Pathology**, v. 98, p. 5 – 14, 2016.
- TAO, G.; LIU, Z.; LIU, F.; GAO, Y.; CAI, L. Endophytic *Colletotrichum* species from *Bletilla ochracea* (Orchidaceae), with descriptions of seven new species. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 139–164, 2013.
- TAPIA-TUSSELL, R.; CORTÉS-VELÁZQUEZ, A.; VALENCIA-YAH, T. First Report of *Colletotrichum magnum* Causing Anthracnose in Papaya in Mexico. **Plant Disease**, v. 100, n. 11, p. 2323, 2016. DOI: 10.1094/PDIS-03-16-0324-PDN
- TAPIA-TUSSELL, R.; QUIJANO-RAMAYO, A.; CORTES-VELAZQUEZ, A.; LAPPE, P.; LARQUE-SAAVEDRA, A.; PEREZ-BRITO D. PCR-based detection and characterization of the fungal pathogens *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum capsici* causing anthracnose in papaya (*Carica papaya* L.) in the Yucatan peninsula. **Molecular Biotechnology**, v. 40, n. 3, p. 293-298, 2008.
- TARNOWSKI, T. B. L.; PLOETZ, R. C. First report of *Colletotrichum capsici* causing postharvest anthracnose on papaya in South Florida. **Plant Disease**, v. 94, p. 1065, 2010.

- TAUTZ, D.; RENZ, M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 12, p. 4127 – 4138, 1984.
- TEMPLETON, M. D.; RIKKERINK, E. H.; SOLON, S. L.; CROWHURST, R. N. Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. **Gene**, v. 122, p. 225-230, 1992.
- THAN, P. P.; PRIHASTUTI, H.; PHOULIVONG, S.; TAYLOR, P. W.; HYDE, K. D. Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 9, n.10, p. 764–778, 2008.
- THIND, T. **Anthracnose**. In: Wilcox W, Gubler W, Uyemoto J, eds. Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests. St Paul, MN, USA: APS Press, 17–9. 2015.
- TIMMER, L. W.; AGOSTINI, J. P.; ZITKO, S. E.; ZULFIQAR, M. Postbloom fruit drop of citrus, an increasingly prevalent disease of citrus in the Americas. **Plant Disease**, v. 78, p. 329-334, 1994.
- TIMMER, L. W.; BROWN, G. E. (2000). Biology and control of anthracnose diseases of citrus. In D. Prusky, S. Freeman, & M. B. Dickman (Eds.), *Colletotrichum*. Host Specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction (pp. 300–316). Saint Paul: APS.
- TIMMER, L. W.; PERES, N. A. Where have all the flowers gone? Postbloom fruit drop of citrus in the Americas. **Journal of Citrus Pathology**, p. 1 – 6, 2015. Disponível em: iocv_journalcitruspathology_28302.
- TRUJILLO, E. E.; OBRERO, F. P. Anthracnose of papaya leaves caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Disease**, v. 53, p. 323-325, 1969.
- UACIQUETE, A.; KORSTEN, L.; VAN DER WAALS, J. E. Epidemiology of cashew anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) in Mozambique. **Crop Protection**, v. 49, p. 66-72, 2013.
- UCHIDA, J. Y.; KADOOKA, C. Y.; ARAGAKI, M.; MANSHARDT, R. Papaya seedling blight and damping off caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in Hawaii. **Plant Disease**, v. 80, p. 712, 1996.

- UDAYANGA, D.; MANAMGODA, D. S.; LIU, X.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits? **Fungal Diversity**, v. 61, n. 1, p.165 - 179, 2013.
- USDA: **United States Department of Agriculture**. Citrus: World Markets and Trade, 2017, p. 1-12.
- VARGAS, W. A.; SANZ MARTÍN, J. M.; RECH, G. E.; RIVERA, L. P.; BENITO, E. P.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M.; THON, M. R.; SUKNO, S. A. Plant Defense Mechanisms Are Activated during Biotrophic and Necrotrophic Development of *Colletotrichum graminicola* in Maize. **Plant Physiology**, v. 158, p. 1342–1358, 2012.
- VIEIRA, W. A. S.; MICHEREFF, S. J.; MORAIS JR, M. A.; HYDE, K. D.; CÂMARA, M. P. S. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with mango in northeastern Brazil. **Fungal Diversity**, p. 2-23, 2014. DOI: 10.1007/s13225-014-0293-6
- VIEIRA, W. A. S.; NASCIMENTO, R. J.; MICHEREFF, S. J. First Report of Papaya Fruit Anthracnose Caused by *Colletotrichum brevisporum* in Brazil. **Plant Disease**, v. 97, n. 12, p. 1659, 2013. DOI: 10.1094/PDIS-05-13-0520-PDN
- VON ARX, J. A. Die Arten der Gattung *Colletotrichum*. **Phytopathologische Zeitschrift**, v. 29, n. 4, p. 413-468, 1957.
- WAGNER, D.; WIEMANN, P.; HUß, K.; BRANDT, U.; FLEIßNER, A.; TUDZYNSKI, B. A sensing role of the glutamine synthetase in the nitrogen regulation network in *Fusarium fujikuroi*. **Plos One**, v. 8, n. 11, e80740, 2013.
- WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, n. 1, p. 115 - 180, 2012.
- WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics**. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. M. A. Innis, D. H. Gelfand, and J. J. Sninsky, eds. Academic Press, San Diego, CA. 1990. p. 315-322.
- WHITELAW-WECKERTAB, M. A.; CURTINAC, S. J.; HUANGAC, R. C.; STEELAC, C.; BLANCHARDC, C. L.; ROFFEYD, P. E. Publishing Ltd Phylogenetic relationships and pathogenicity of *Colletotrichum acutatum* isolates from grape in subtropical Australia. **Plant Pathology**, v. 56, p. 448 – 463, 2007.

- WIJESUNDERA, R. L. C.; CHANDRASEKHARAN, N. V.; WIJESUNDERA, W. S. S.; KATHRIARACHCHI, H. S.; FERNANDO, T. H. P. S. Characterization of *Colletotrichum* isolates causing avocado anthracnose and first report of *C. gigasporum* infecting avocado in Sri Lanka. **Plant Pathology & Quarantine**, v. 5, p. 132–143, 2015.
- WIKKEE, S.; CAI, L.; PAIRIN, N.; MCKENZIE, E. H. C.; SU, Y.; CHUKEATIROTE, E.; THI, H. N.; BAHKALI, A. H.; MOSLEM, M. A.; ABDELSALAM, K.; HYDE, K. D. *Colletotrichum* species from Jasmine (*Jasminum sambac*). **Fungal Diversity**, v. 46, p. 171-182, 2011.
- YAGUCHI, Y.; NAKANISHI, Y.; SAITO, T.; NAKAMURA, S. Anthracnose of *Carica papaya* L. caused by *Colletotrichum capsici*. **Annals of Phytopathological Society of Japan**, v. 61, p. 222, 1995.
- YAN, J.; JAYAWARDENA, M. M. R. S.; GOONASEKARA, I. D.; WANG, Y.; ZHANG, W.; LIU, M.; HUANG, J.; WANG, Z.; SHANG, J.; PENG, Y.; BAHKALI, A.; HYDE, K. D.; LI, X. Diverse species of *Colletotrichum* associated with grapevine anthracnose in China. **Fungal Diversity**, v. 71, p. 233–246, 2015.
- YANG, Y.L.; CAI, L.; YU, Z.N.; LIU, Z.Y.; HYDE, K.D. *Colletotrichum* species on Orchidaceae in southwest China. **Cryptogamie Mycologie**, v. 32, n. 3, p. 229-253, 2011.
- YONGTAO, Y.; TAK-WAH, L.; HING-FUNG, T. PnpProbs: a better multiple sequence alignment tool by better handling of guide trees. **BMC Bioinformatics**, v. 17, p. 633-643, 2016.
- ZAKARIA, L.; JUHARI, N. Z.; VIJAYA, S. I.; ANUAR, I. S. M. Molecular Characterization of *Colletotrichum* Isolates Associated with Anthracnose of Mango Fruit. **Sains Malaysiana**, v. 44, n. 5, p. 651–656, 2015.
- ZAKARIA, L.; SAHAK, S.; ZAKARIA, M.; SALLEH, B. Characterisation of *Colletotrichum* Species Associated with Anthracnose of Banana. **Tropical Life Sciences Research**, v. 20, n. 2, p. 119–125, 2009.
- ZAPPARATA, A.; DA LIO, D.; SARROCCO, S.; VANNACCI, G.; BARONCELLI, R. First Report of *Colletotrichum godetiae* Causing Grape (*Vitis vinifera*) Berry Rot in Italy. **Plant Disease**, v. 101, n. 6, p. 1051, 2017.

- ZHAO, Z.; LIU, H.; LUO, Y.; ZHOU, S.; NA, L.; WANG, C.; JIN, Q.; ZHOU, M.; XU, J-R. Molecular evolution and functional divergence of tubulin superfamily in the fungal tree of life. **Scientific Reports**, v. 4, p. 6746, 2014.
- ZHOU, Y.; HUANG, J. S.; YANG, L. Y.; WANG, G. F.; LI, J. Q. First Report of Banana Anthracnose Caused by *Colletotrichum scovillei* in China. **Plant Disease**, v. 101, n. 2, p. 381, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-16-1135-PDN>
- ZULFIQAR, M.; BRLANSKY, R. H.; TIMMER, L. W. Infection of flower and vegetative tissues of citrus by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides*. **Mycologia**, v. 88, p. 121-128, 1996.

Anexo 1. Códigos de acesso dos isolados de *Colletotrichum* e *Glomerella* presentes no banco de dados GenBank. Estas sequências de DNA foram alinhadas às sequências de DNA dos isolados obtidos neste estudo

Espécie	Código ¹	Hospedeiro	País	Gene e número de Acesso do GenBank ²					
				ITS	GAPDH	TUB2	ACT	CHS-1	GS
<i>Colletotrichum abscissum</i>	CBS 134727	<i>Psidium guajava</i>	Brasil	KC204988	KC205022	-	KC205073	KC205039	-
	OCO-ARC-4, RB196	<i>Citrus sinensis</i>	EUA	KT153559	KT153549	-	KT153539	KT153544	-
	COAD 1877, CBS 134727	<i>Citrus sinensis</i>	Brasil	KP843126	KP843129	-	KP843141	KP843132	-
	LGMF1269	<i>Citrus sinensis</i>	Brasil	KX059302	KX059039	-	KX059263	KX059276	-
<i>C. acutatum</i>	CBS 112996	<i>Carica papaya</i>	Austrália	JQ005776	JQ948677	-	JQ005839	JQ005797	-
	CBS 112979	<i>Pinus radiata</i>	África do Sul	JQ948355	JQ948686	-	JQ949676	JQ949016	-
	CBS 142407	<i>Citrus sinensis</i>	Ítalia	KY856397	KY856221	-	KY855968	KY856133	-
<i>C. aenigma</i>	ICMP 18686	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Japão	JX010243	JX009913	-	JX009519	JX009789	JX010079
	ICMP 18608	<i>Persea americana</i>	Israel	JX010244	JX010044	-	JX009443	JX009774	JX010078
<i>C. aeschynomenes</i>	ICMP 17673	<i>Aeschynomene virginica</i>	EUA	JX010176	JX009930	-	JX009483	JX009799	JX010081
<i>C. annellatum</i>	CBS 129826	<i>Hevea brasiliensis</i>	Colômbia	JQ005222	JQ005309	-	JQ005570	JQ005396	-
<i>C. anthrisci</i>	CBS 125334	<i>Anthriscus sylvestris</i>	Países Baixos	GU227845	GU228237	-	GU227943	GU228335	-
<i>C. aracearum</i>	LC1033	<i>Monstera deliciosa</i>	China	KX853166	KX893585	-	KX893577	-	-
	LC1041	<i>Philodendron selloum</i>	China	KX853167	KX893586	-	KX893578	-	-
<i>C. arxii</i>	CBS 132511	<i>Paphiopedilum sp.</i>	Alemanha	KF687716	KF687756	-	KF687802	KF687780	KF687756
<i>C. asianum</i>	MFLU 090234	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	FJ972615	FJ972573	-	FJ907421	-	FJ972598
	CMM 4057	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KC329792	KC517168	-	KC533747	-	KC430897

Continuação do anexo 1

Espécie	Código ¹	Hospedeiro	País	Gene e número de Acesso do GenBank ²					
				ITS	GAPDH	TUB2	ACT	CHS-1	GS
<i>C. beeveri</i>	CBS 128527	<i>Brachyglottis repanda</i>	Nova Zelândia	JQ005171	JQ005258	-	JQ005519	JQ005345	-
<i>C. boninense</i>	CBS 123755	<i>Crinum asiaticum</i>	Japão	JQ005153	JQ005240	-	JQ005501	JQ005327	-
	CBS 128549	<i>Solanum betaceum</i>	Nova Zelândia	JQ005156	JQ005243	-	JQ005504	JQ005330	-
	GZAAS5.09505	<i>Citrus medica</i>	China	JQ247622	JQ247598	-	JQ247646	-	-
	CBS 128547	<i>Camellia</i> sp.	Nova Zelândia	JQ005159	JQ005246	JQ005593	JQ005507	JQ005333	-
<i>C. brasiliense</i>	CBS 128501	<i>Passiflora edulis</i>	Brasil	JQ005235	JQ005322	-	JQ005583	JQ005409	-
	CBS 128528	<i>Passiflora edulis</i>	Brasil	JQ005234	JQ005321	-	JQ005582	JQ005408	-
<i>C. brassicicola</i>	CBS 101059	<i>Brassica oleracea</i>	Nova Zelândia	JQ005172	JQ005259	-	JQ005520	JQ005346	-
<i>C. brevisporum</i>	BCC 38876	<i>Neoregalia</i> sp.	Tailândia	JN050238	JN050227	-	JN050216	KF687760	-
	GZAAS5.09545	<i>Citrus medica</i>	China	JQ247623	JQ247599	-	JQ247647	-	-
<i>C. camelliae-japonicae</i>	LC6415	<i>Camellia japonica</i>	Japão	KX853164	KX893583	-	KX893575	-	-
<i>C. catinaense</i>	CBS 142417	<i>Citrus reticulata</i>	Itália	KY856400	KY856224	-	KY855971	KY856136	-
	CBS 142416	<i>Citrus sinensis</i>	Portugal	KY856399	KY856223	-	KY855970	KY856135	-
<i>C. chlorophyti</i>	IMI 103806	<i>Chlorophytum</i> sp.	Índia	GU227894	JN050227	-	GU227992	GU228384	-
<i>C. citri</i>	CBS 134233	<i>Citrus aurantiifolia</i>	China	KC293581	KC293741	-	KY855973	KY856138	-
	CBS 134234	<i>Citrus aurantiifolia</i>	China	KC293582	KC293742	-	KY855974	KY856139	-
<i>C. citri-maximae</i>	AGMy0254 (DSM 105133)	<i>Citrus maximum</i>	China	KX943582	KX943578	-	KX943567	KX943571	-
	AGMy0102b	<i>Citrus maximum</i>	China	KX943580	KX943576	-	KX943565	KX943569	-
<i>C. citricola</i>	CBS 134228	<i>Citrus unshiu</i>	China	KC293576	KC293736	-	KC293616	KY856140	-
	CBS 134229	<i>Citrus unshiu</i>	China	KC293577	KC293737	-	KC293617	KY856141	KC293777
<i>C. cliviae</i>	CBS 125375	<i>Clivia miniata</i>	China	JX519223	JX546611	-	JX519240	GQ856722	-

Continuação do anexo 1

Espécie	Código ¹	Hospedeiro	País	Gene e número de Acesso do GenBank ²					
				ITS	GAPDH	TUB2	ACT	CHS-1	GS
<i>C. coccodes</i>	CBS 369.75	<i>Solanum tuberosum</i>	Países Baixos	HM171679	HM171673	-	HM171667	JX546681	-
<i>C. colombiense</i>	CBS 129818	<i>Passiflora edulis</i>	Colômbia	JQ005174	JQ005261	-	JQ005522	JQ005348	-
<i>C. communis</i> <i>sp. nov.</i>	MTCC 11696	<i>Citrus sp.</i>	Chandigarh	KC790977	KF452016	KF452029	KF451940	KF451988	-
<i>C. constrictum</i>	CBS 128504	<i>Citrus limon</i>	Nova Zelândia	JQ005238	JQ005325	-	JQ005586	JQ005412	-
<i>C. cymbidiicola</i>	IMI 347923	<i>Cymbidium sp.</i>	Austrália	JQ005166	JQ005253	-	JQ005514	JQ005340	-
	CBS 123757	<i>Cymbidium sp.</i>	Japão	JQ005168	JQ005255	-	JQ005516	JQ005342	-
<i>C. dacrycarpi</i>	CBS 130241	<i>Dacrycarpus dacrydioides</i>	Nova Zelândia	JQ005236	JQ005323	-	JQ005584	JQ005410	-
<i>C. dianesei</i>	MFLU 1300058	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KC329779	KC517194	-	KC517298	-	KC430894
	CMM4091	<i>Mangifera indica</i>	Brasil	KC329804	KC517180	-	KC533737	-	KC430908
	CMM4406	<i>Musa sp.</i>	Brasil	KX094257	-	KX094263	KX093989	KX094088	KX094211
<i>C. dracaenophilum</i>	CBS 118199	<i>Dracaena sanderana</i>	China	JX519222	JX546707	-	JX519238	JX519230	-
<i>C. fiorinae</i>	IMI 324996	<i>Malus pumila</i>	EUA	JQ948301	JQ948631	-	JQ949622	JQ948962	-
	ATCC 12097	<i>Rhododendron sp.</i>	EUA	JQ948307	JQ948637	-	JQ949628	JQ948968	-
<i>C. fragariae</i>	CMM4242	<i>Musa sp.</i>	Brasil	KX094238	-	KX094278	KX093971	KX094069	KX094197
<i>C. fructicola</i>	ICMP 18581	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	JX010165	JX010033	-	FJ907426	JX009866	JX010095
	CBS 238.49	<i>Ficus edulis</i>	Alemanha	JX010181	JX009923	-	JX009495	JX009839	JX010090
	CBS 114054	Desconhecido	Brasil	KC566782	KC566636	DQ522504	KC566928	KC566349	-
<i>C. fructi</i>	CBS 346.37	<i>Malus sylvestris</i>	EUA	GU227844	GU228236	-	GU227942	GU228334	-
<i>C. gigasporum</i>	CBS 125475	<i>Coffea sp.</i>	Vietnã	KF687723	KF687836	-	KF687789	KF687766	KF687750
	CBS 133266	<i>Centella asiatica</i>	Madagascar	KF687715	KF687822	-	-	KF687761	-
	CBS 101881	<i>Solanum betaceum</i>	Nova Zelândia	KF687736	KF687841	-	KF687797	KF687777	KF687745
<i>C. gloeosporioides</i>	CBS 112999	<i>Citrus sinensis</i>	Itália	JQ005152	JQ005239	-	JX009531	JX009818	JX010085

Continuação do anexo 1

Espécie	Código ¹	Hospedeiro	País	Gene e número de Acesso do GenBank ²					
				ITS	GAPDH	TUB2	ACT	CHS-1	GS
<i>C. gloeosporioides</i>	CBS 953.97	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	FJ972609	FJ972582	-	FJ907430	GQ856733	FJ972589
	IMI 356878	<i>Citrus sinensis</i>	Itália	JX010152	JX010056	GU994474	JX009531	JX009818	JX010085
	LJTJ13	<i>Capsicum annuum</i>	China	KP748204	KP823783	-	KP823751	-	-
<i>C. godetiae</i>	CBS 133.44	<i>Clarkia hybrida</i>	Dinamarca	JQ948402	JQ948733	-	JQ949723	JQ949063	-
<i>C. guajavae</i>	IMI 350839	<i>Psidium guajava</i>	Índia	JQ948270	JQ948600	-	JQ949591	JQ948931	-
<i>C. helleniense</i>	CBS 142419	<i>Citrus reticulata</i>	Grécia	KY856447	KY856271	-	KY856020	KY856187	-
<i>C. hippeastri</i>	CBS 125376	<i>Hippeastrum vittatum</i>	China	JQ005231	JQ005318	-	JQ005579	JQ005405	-
<i>C. hystrix</i>	CBS 142411	<i>Citrus hystrix</i>	Itália	KY856450	KY856274	-	KY856023	KY856190	-
<i>C. ignotum</i>	E886	<i>Tetragastris panamensis</i>	Panamá	GU994372	-	GU994470	-	-	-
<i>C. johnstonii</i>	IMI 357027	<i>Citrus</i> sp.	Nova Zelândia	JQ948443	JQ948774	-	JQ949764	JQ949104	-
	CBS 128532	<i>Solanum lycopersicum</i>	Nova Zelândia	JQ948444	JQ948775	-	JQ949765	JQ949105	-
<i>C. karstii</i>	CBS 129833	<i>Musa</i> sp.	México	JQ005175	JQ005262	-	JQ005523	JQ005349	-
	CBS 127596	<i>Mangifera indica</i>	Austrália	JQ005203	JQ005290	-	JQ005551	JQ005377	-
	CBS 129927	<i>Anthurium</i> sp.	Tailândia	JQ005206	JQ005293	-	JQ005554	JQ005380	-
	CBS 128551	<i>Citrus</i> sp.	Nova Zelândia	JQ005208	JQ005295	-	JQ005556	JQ005382	-
<i>C. limetticola</i>	CBS 114.14	<i>Citrus aurantifolia</i> ,	EUA	JQ948193	JQ948523	-	JQ949514	JQ948854	-
<i>C. limonicola</i>	CBS 142410	<i>Citrus limon</i>	Malta	KY856472	KY856296	-	KY856045	KY856213	-
	CPC 27862	<i>Citrus limon</i>	Malta	KY856473	KY856297	-	KY856046	KY856214	-
<i>C. lupini</i>	CBS 507.97	<i>Lupinus albus</i>	França	JQ948166	JQ948496	-	JQ949487	JQ948827	-
	IMI 351261	<i>Camellia</i> sp.	Reino Unido	JQ948177	JQ948507	-	JQ949498	JQ948838	-
<i>C. murrayae</i>	GZAAS5.09506	<i>Murraya</i> sp.	China	JQ247633	JQ247609	-	JQ247657	-	JQ247621

Continuação do anexo 1

Espécie	Código ¹	Hospedeiro	País	Gene e número de Acesso do GenBank ²					
				ITS	GAPDH	TUB2	ACT	CHS-1	GS
<i>C. musae</i>	IMI 52264	<i>Musa sapientum</i>	Quênia	JX010142	JX010015	-	JX009432	JX009815	JX010084
	CBS 116870	<i>Musa</i> sp.	EUA	JX010146	JX010050	HQ596280	JX009433	JX009896	JX010103
	CMM4421	<i>Musa</i> sp.	Brasil	KX094259	-	KX094297	KX093970	KX094090	KX094237
<i>C. novae-zelandiae</i>	CBS 128505	<i>Capsicum annuum</i>	Nova Zelândia	JQ005228	JQ005315	-	JQ005576	JQ005402	-
	CBS 130240	<i>Citrus grapefruit</i>	Nova Zelândia	JQ005229	JQ005316	-	JQ005577	JQ005403	-
<i>C. oncidii</i>	CBS 129828	<i>Oncidium</i> sp.	Alemanha	JQ005169	JQ005256	-	JQ005517	JQ005343	-
<i>C. parsonsiae</i>	CBS 128525	<i>Parsonsia capsularis</i>	Nova Zelândia	JQ005233	JQ005320	-	JQ005581	JQ005407	-
<i>C. petchii</i>	CBS 378.94	<i>Dracaena marginata</i>	Ítalia	JQ005223	JQ005310	-	JQ005571	JQ005397	-
<i>C. phyllanthi</i>	CBS 175.67	<i>Phyllanthus acidus</i>	Índia	JQ005221	JQ005308	-	JQ005569	JQ005395	-
<i>C. psidii</i>	CBS 145.29	<i>Psidium</i> sp.	Ítalia	JX010219	JX009967	-	JX009515	JX009901	JX010133
<i>Colletotrichum</i> sp.	CBS 123921	<i>Dendrobium kingianum</i>	Japão	JQ005163	JQ005250	-	JQ005511	JQ005337	-
	CBS 129821	<i>Passiflora edulis</i>	Colômbia	JQ948182	JQ948512	-	JQ949503	JQ948843	-
<i>C. siamense</i>	ICMP 17795	<i>Malus domestica</i>	EUA	JX010162	JX010051	JX010393	JX009506	JX009805	JX010082
	ICMP 18578	<i>Coffea arabica</i>	Tailândia	JX010171	JX009924	JX010404	FJ907423	JX009865	JX010094
	ICMP 18121	<i>Dioscorea rotundata</i>	Nigéria	JX010245	JX009942	JX010402	JX009460	JX009845	JX010092
	ICMP 12567	<i>Persea americana</i>	Austrália	JX010250	JX009940	JX010387	JX009541	JX009761	JX010076
	ZJCG-1	<i>Ctenanthe oppenheimiana</i>	China	KP635210	-	KP635212	-	-	-
<i>C. simmondsii</i>	CBS 122122	<i>Carica papaya</i>	Austrália	JQ948276	JQ948606	-	JQ949597	JQ948937	-
<i>C. theobromicola</i>	GJS08-50	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	GU994360.2	-	GU994477	-	-	-

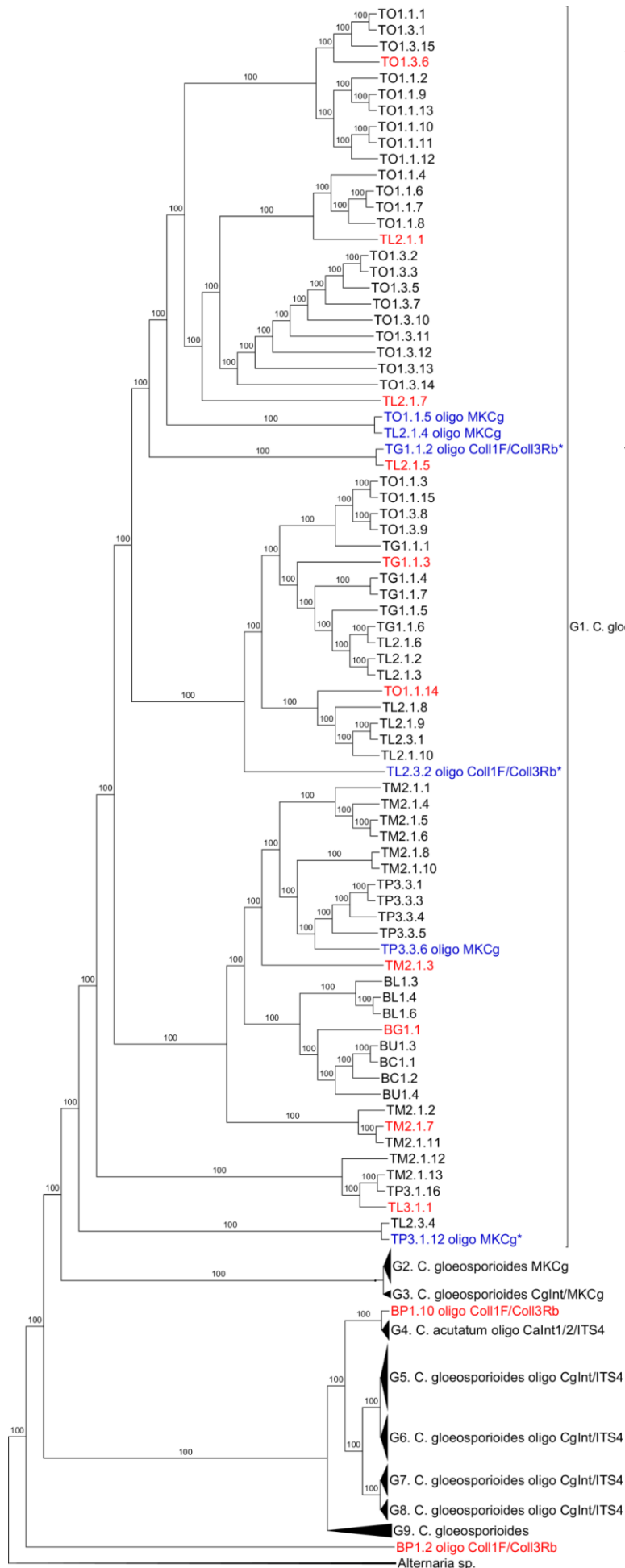
Continuação do anexo 1

Espécie	Código ¹	Hospedeiro	País	Gene e número de Acesso do GenBank ²					
				ITS	GAPDH	TUB2	ACT	CHS-1	GS
<i>C. torulosum</i>	CBS 128544	<i>Solanum melongena</i>	Nova Zelândia	JQ005164	JQ005251	-	JQ005512	JQ005338	-
<i>C. tropicale</i>	CBS 124949	<i>Theobroma cacao</i>	Panamá	JX010264	JX010007	JX010407	JX009489	JX009870	JX010097
<i>C. tropicale</i>	ICMP 18672	<i>Litchi chinensis</i>	Japão	JX010275	JX010020	-	JX009480	JX009826	JX010086
	GJS08-42	<i>Annona muricata</i>	Panamá	GU994340	-	GU994460	-	-	-
<i>C. tropicicola</i>	BCC 38877	<i>Citrus maxima</i>	Tailândia	JN050240	JN050229	-	JN050218	-	JN050234
<i>C. truncatum</i>	CBS 151.35	<i>Phaseolus lunatus</i>	EUA	GU227862	GU228254	-	GU227960	GU228352	-
	CBS 134232	<i>Citrus limon</i>	China	KC293580	KC293740	-	KC293620	KY856220	
<i>Glomerella acutata</i>	CBS 29467	<i>Carica papaya</i>	Austrália	FJ972610	FJ972581	-	FJ907429	-	FJ972590
<i>Monilochaetes infuscans</i>	CBS 869.96	<i>Ipomoea batatas</i>	África do Sul	JQ005780	JX546612	-	JQ005843	JQ005801	-

¹ATCC: American Type Culture Collection, Virgínia, EUA; BCC: Culture Collection, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), Khlong Luang, Pathumthani, Thailand; CBS: Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Países Baixos; COAD: Coleção Octávio Almeida Drummond, Viçosa, Brazil; CMM Culture Collection of Phytopathogenic Fung "Prof. Maria Menezes", Recife, Brazil; CPC: Working collection of Pedro W. Crous, housed at CBS, Utrecht, The Netherlands; IMI: Instituto Microbiológico Internacional, CABI-Bioscience, Egham, Basingstoke, Reino Unido; GZAAS: Guizhou Academy of Agricultural Science herbarium, Guizhou Province, China; ICMP International Collection of Microorganisms from Plants, Landcare Research, Auckland, Nova Zelândia; LC: Working collection of Lei Cai, housed at CAS, China; LGMF: collection from the Fundecitrus Fungi Collection, Araraquara, Brazil; MFLU Mae Fah Luang University Herbarium, Thailand; MTCC Microbial Type Culture Collection and Gene Bank, Chandigarh, India; RB: Coleção pessoal de Riccardo Baroncelli, Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa, Pisa, Italy.

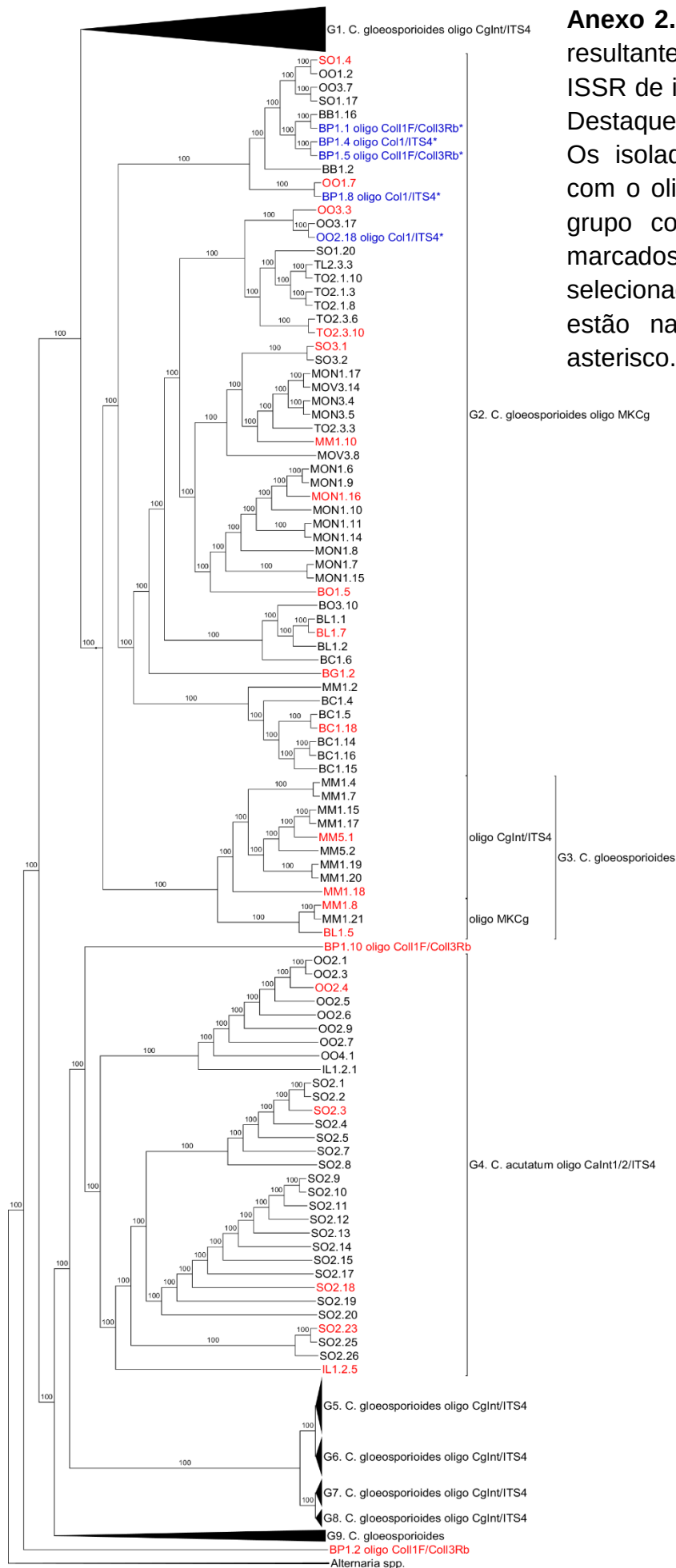
² ITS: espaços intergênicos de unidades repetidas do DNA ribossômico; GAPDH: sequência parcial do gene codificador do gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase; TUB2: sequência parcial do gene codificador da β -tubulina.

Culturas espécie-tipo estão enfatizadas em negrito.

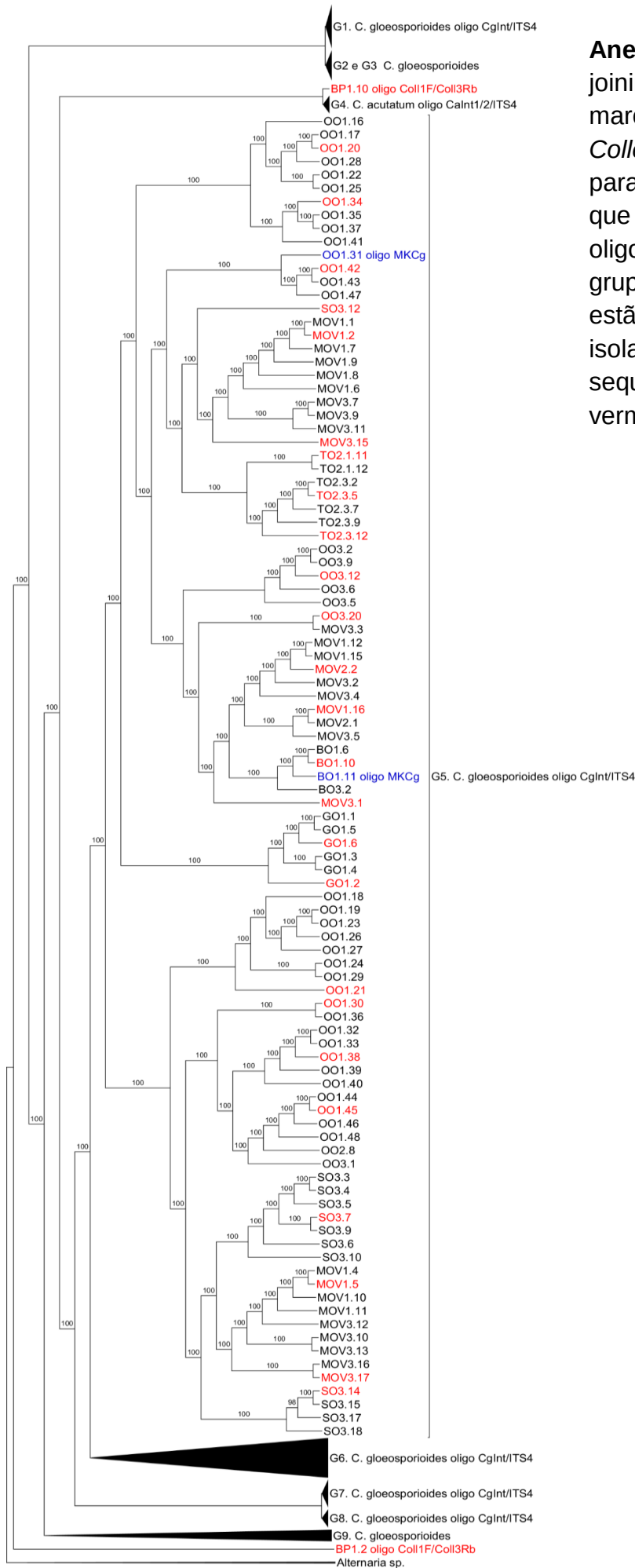


Anexo 2. Agrupamento neighbor-joining resultante da análise com marcadores ISSR de isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para o grupo G1. Os isolados de que não amplificaram com o oligonucleotídeo principal para o grupo constituíram exceções e estão marcados na cor azul. Os isolados selecionados para o sequenciamento estão na cor vermelha e azul com asterisco.

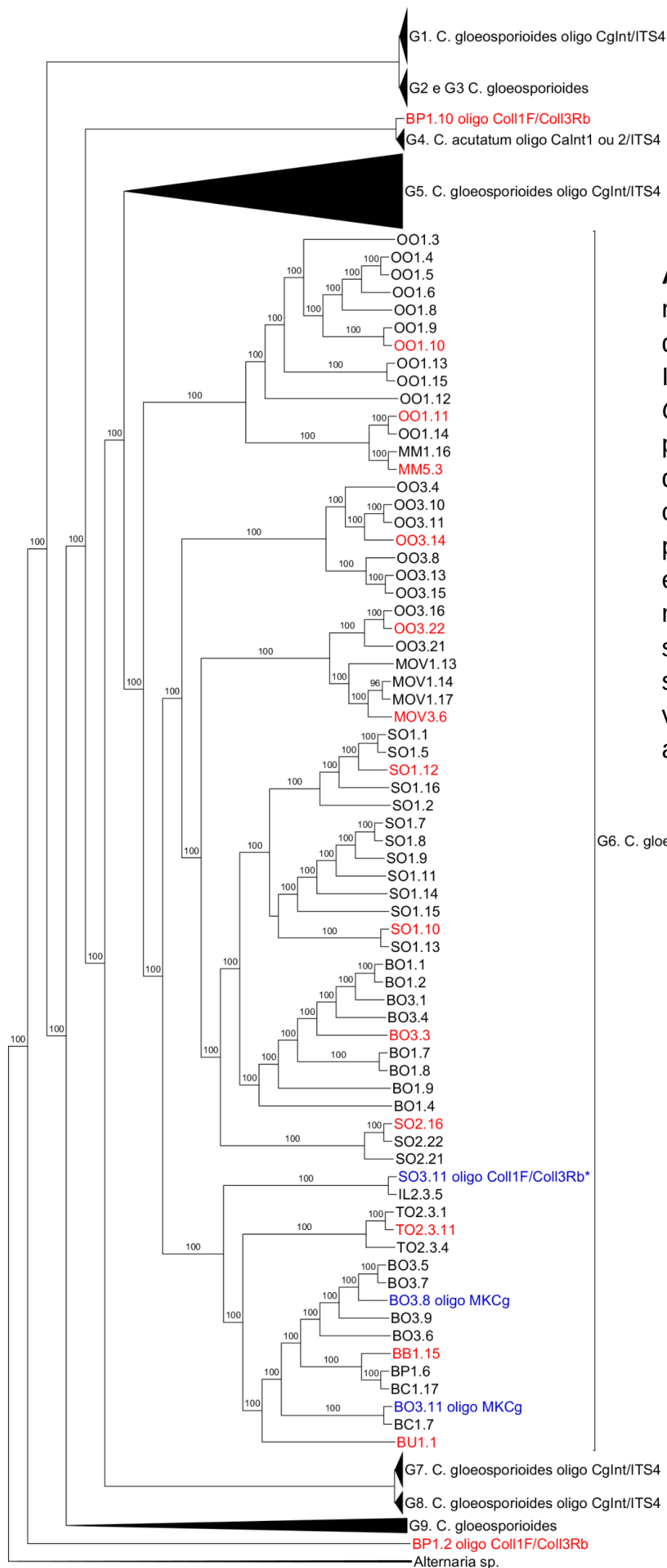
G1. *C. gloeosporioides* oligo CgInt/ITS4



Anexo 2. Agrupamento neighbor-joining resultante da análise com marcadores ISSR de isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para os grupos G2, G3 e G4. Os isolados de que não amplificaram com o oligonucleotídeo principal para o grupo constituíram exceções e estão marcados na cor azul. Os isolados selecionados para o sequenciamento estão na cor vermelha e azul com asterisco.

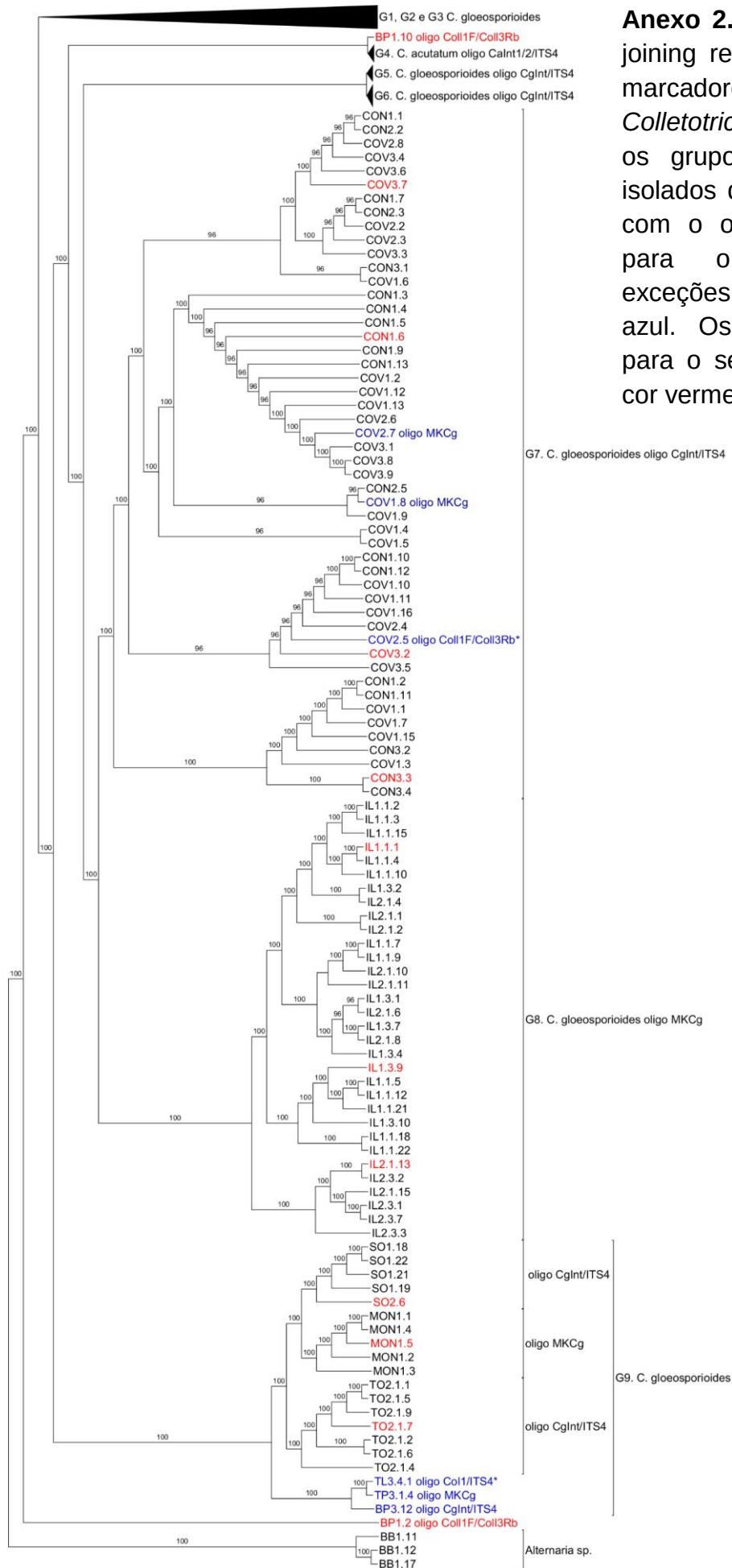


Anexo 2. Agrupamento neighbor-joining resultante da análise com marcadores ISSR de isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para o grupo G5. Os isolados de que não amplificaram com o oligonucleotídeo principal para o grupo constituíram exceções e estão marcados na cor azul. Os isolados selecionados para o sequenciamento estão na cor vermelha e azul com asterisco.



Anexo 2. Agrupamento neighbor-joining resultante da análise com marcadores ISSR de isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para o grupo G6. Os isolados de que não amplificaram com o oligonucleotídeo principal para o grupo constituíram exceções e estão marcados na cor azul. Os isolados selecionados para o sequenciamento estão na cor vermelha e azul com asterisco.

G6. *C. gloeosporioides* oligo CgInt/ITS4



Anexo 2. Agrupamento neighbor-joining resultante da análise com marcadores ISSR de isolados de *Colletotrichum* spp. Destaque para os grupos G7, G8 e G9. Os isolados de que não amplificaram com o oligonucleotídeo principal para o grupo constituíram exceções e estão marcados na cor azul. Os isolados selecionados para o sequenciamento estão na cor vermelha e azul com asterisco.