

# RESSALVA

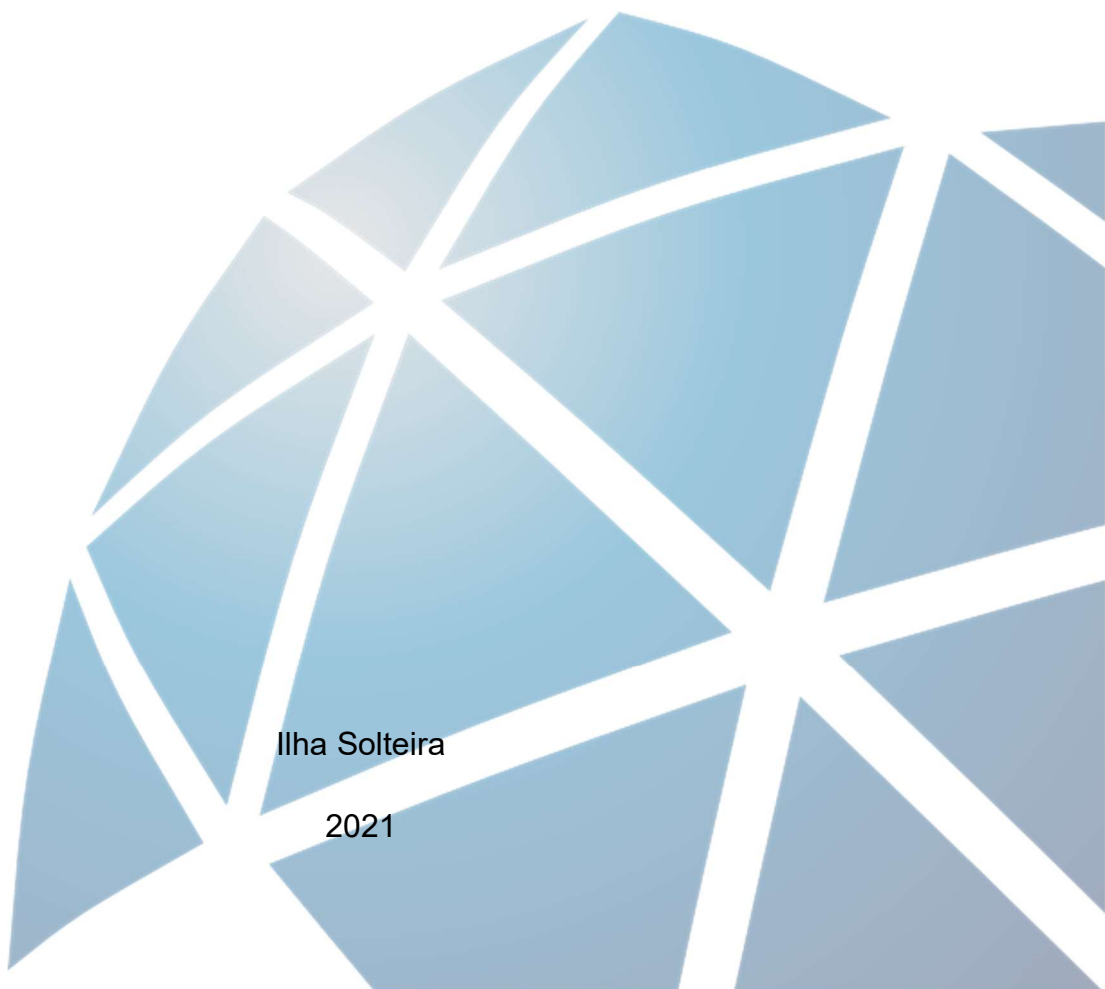
Atendendo a solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 07/12/2022.

**MARCELA PAGOTI BERGAMINI LOPES**

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Colletotrichum***  
**DE SERINGUEIRA E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA UTILIZANDO**  
**MICROORGANISMOS SAPRÓBIOS**

Ilha Solteira

2021



**MARCELA PAGOTI BERGAMINI LOPES**

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Colletotrichum* DE  
SERINGUEIRA E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA UTILIZANDO ORGANISMOS  
SAPRÓBIOS**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Carolina Firmino

Co-Orientador: Prof. Dr. Paulo César Ceresini

Ilha Solteira

2021

FICHA CATALOGRÁFICA  
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

P139i Pagoti, Marcela Bergamini Lopes.  
Identificação e caracterização molecular de colletotrichum de seringueira e indução de resistência utilizando microrganismos sapróbios / Marcela Bergamini Lopes Pagoti. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2021  
71 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2021

Orientador: Ana Carolina Firmino  
Coorientador: Paulo César Ceresini  
Inclui bibliografia

1. Identificação e caracterização de colletotrichum spp. 2. Indução de resistência . 3. Biologia molecular.

*Raiane da Silva Santos*  
Raiane da Silva Santos



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA TESE: IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Colletotrichum* DE SERINGUEIRA E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA UTILIZANDO MICRORGANISMOS SAPRÓBIOS

**AUTORA: MARCELA PAGOTI BERGAMINI LOPES**

**ORIENTADORA: ANA CAROLINA FIRMINO**

**COORIENTADORA: ANA CAROLINA FIRMINO**

**COORIENTADOR: PAULO CEZAR CERESINI**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA, área: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> ANA CAROLINA FIRMINO (Participação Virtual)  
Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Unesp - Dracena

Prof. Dr. EVANDRO PEREIRA PRADO (Participação Virtual)  
Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Profa. Dra. CAROLINA DOS SANTOS BATISTA BONINI (Participação Virtual)  
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Prof. Dr. EDSON LUIZ FURTADO (Participação Virtual)  
Proteção de Plantas / Universidade Estadual Paulista - câmpus Botucatu

Pesquisador Dr. IVAN HERMAN FISCHER (Participação Virtual)  
Pesquisa e Desenvolvimento / Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - Pólo Regional Centro Oeste

Ilha Solteira, 07 de dezembro de 2021

Dedico ao meu porto seguro, **minha família**

Se eu tenho forças para continuar a minha jornada ela se deve a vocês!  
Obrigada pelo amor, carinho, cuidado e pelos momentos felizes que não tem  
preço.

## AGRADECIMENTOS

---

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado força, persistência e sabedoria na realização desse trabalho.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Ana Carolina Firmino que desde o mestrado contribuiu para a minha formação profissional e também pessoal. Seu incentivo, paciência e compreensão me fizeram uma pessoa melhor e mais corajosa.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Paulo Ceresini pelos dias em que passei no seu laboratório que foi um aprendizado constante.

Ao Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn pela compreensão e colaboração ao longo do meu processo de formação.

Ao CNPq pelo apoio financeiro por meio da bolsa concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, campus Ilha Solteira pela oportunidade.

Aos técnicos de laboratório da FCAT. Em especial a Andreia, Heloísa e Ariane.

A todos os meus amigos de laboratório pelos conhecimentos e angústias compartilhadas durante todo o processo (Isabela, Gabriel, Gustavo e Rodney).

A Marcela Eloi, minha companheira de todas as horas e que sempre me ajudou sem hesitar independente do dia ou do horário e hoje se tornou muito mais que uma colega de trabalho mas uma amiga para toda a vida.

Aos meus amigos de Dracena que fazem os meus dias mais alegres e animados na cidade.

Aos meus familiares por todo amor, carinho e saudades que vivencio todos os dias da minha vida, vocês são a minha fortaleza e, se hoje eu termino essa etapa é porque vocês sempre me apoiaram.

Ao meu pai Ailton D. Bergamini, meu exemplo de pessoa e referência de inteligência. Se um dia eu for a metade do que você é para mim, já serei realizada.

À minha mãe Maria José Pagoti Bergamini, minha fortaleza, minha companheira de todas as horas, minha confidente. Me apego muito na sua força e coragem para viver a vida.

Ao meu 'irmãozinho' Marco Aurélio, que hoje se tornou um homem, uma pessoa incrível e que eu me orgulho todos os dias.

Aos meus sogros Renato e Edna, eu sou muito grata por Deus ter colocado vocês no meu caminho, pessoas maravilhosas que tenho como meus segundos pais.

Ao meu marido Paulo Renato Matos Lopes, meu amor, meu parceiro e meu amigo. Por todos os conselhos e ajuda no dia a dia. Muito obrigada pela paciência, pelos finais de semana na Unesp e estar sempre disponível mesmo quando os seus dias são caóticos.

Ao Rui, meu maravilhoso. Você deixa a minha vida mais colorida a todos os momentos.

.



*[...] o período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período  
mais difícil na vida de alguém  
(Dalai Lama)*

## RESUMO

---

A seringueira (*Hevea brasiliensis* Müell. Arg.) é uma espécie oriunda da região amazônica cultivada no Brasil. Com a ampliação de áreas plantadas dessa cultura, muitas doenças que antes não eram expressivas vêm ganhando importância, como a antracnose, causada por fungos do gênero *Colletotrichum*, que ataca folhas, causando queda prematura. Desta forma, estudos que visem determinar quais espécies de *Colletotrichum* ocorrem e quais prevalecem nas principais regiões produtoras de seringueira e, que caracterizem as populações do patógeno são importantes para o país. Este trabalho tem como objetivo identificar e caracterizar espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose da seringueira no Estado de São Paulo. Para isso, foram realizadas análises filogenéticas, utilizando sequências parciais dos genes ITS, TUB2, CAL e GAPDH. Também foram realizados testes de indução de resistência de seringueira ao *Colletotrichum* utilizando fungos sapróbios do semiárido nordestino, identificados pelo projeto BIOTA de 2012. As análises filogenéticas se mostraram eficientes na separação das espécies dentro de 3 complexos do gênero *Colletotrichum*: *C. acutatum*, *C. boninense* e *C. gloesporioides*. Além disso foram relatadas duas novas espécies, *C. fructicola* e *C. scovillei*, associados a seringueira no Brasil. Na indução de resistência de seringueira dois fungos foram elencados como potenciais agentes de biocontrole da antracnose: *Curvularia eragrostidis* que teve o melhor desempenho no controle da antracnose quando aplicado de modo preventivo e *Phialomyces macrosporus* que controlou a doença quando aplicado de modo curativo. Os resultados obtidos permitirão a melhor compreensão de aspectos etiológicos e epidemiológicos da doença, fornecendo subsídios para o desenvolvimento e a adoção de métodos de controle adequados para as espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose da seringueira no Brasil.

**Palavras-chave:** heveicultura; identificação de espécies de *Colletotrichum*, controle biológico, antracnose

## ABSTRACT

---

The rubber tree (*Hevea brasiliensis* Müell. Arg.) is a species from the Amazon region, cultivated in Brazil. With the expansion of planted areas of this crop, many diseases that were not expressive before are gaining importance, such as anthracnose, caused by fungi of the *Colletotrichum* genus, which attacks leaves, causing their premature fall. Thus, studies aimed at determining which *Colletotrichum* species occur and which prevail in the main rubber tree-producing regions and which characterize the pathogen populations are important for the country. This work aims to identify and characterize *Colletotrichum* species associated with rubber tree anthracnose in São Paulo state. For this, phylogenetic analyzes will be carried out, using partial sequences of the ITS, TUB2, CAL, and GAPDH genes. The isolates will also be characterized pathogenically through inoculation in different clones of rubber trees. Allied to the clone differential reaction experiment, rubber tree resistance induction tests to *Colletotrichum* will be carried out using saprobic fungi from the northeastern semiarid region, identified by the 2012 BIOTA project. Phylogenetic analyzes differ from species separation within 3 comprehensive ranges of the *Colletotrichum* genus: *C. acutatum*, *C. boninense* and *C. gloesporioides*. In addition, two new species, *C. fructicola* and *C. scovillei*, associated with rubber trees in Brazil were reported. In rubber tree resistance induction, two fungi were listed as potential agents for anthracnose biocontrol: *Curvularia eragrostidis*, which had the best performance in anthracnose control when preventively requested, and *Phialomyces macrosporus*, which controls a disease when it is curative. The results will allow a better understanding of the etiological and epidemiological aspects of the disease, providing support for the development and adoption of adequate control methods for *Colletotrichum* species associated with anthracnose of rubber trees in Brazil.

**Keywords:** rubber plantation; identification of species, biological control.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 3.1.</b> Sintomas de antracnose em folhas de seringueira. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 28 |
| <b>Figura 4.1.</b> Pontos de coleta de material com antracnose .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 40 |
| <b>Figura 4.2.</b> Árvore filogenética dos isolados do gênero <i>Colletotrichum</i> identificados a nível de espécie. ....                                                                                                                                                                                                                                                  | 45 |
| <b>Figura 5.1.</b> Área foliar afetada pela antracnose nos tratamentos preventivos: com água (A), somente com o <i>Colletotrichum</i> (B), com o fungo <i>P. macrosporus</i> - Isolado 37/06 (C), com o fungo <i>C. eragrostidi</i> - isolado 47/06 (D), com o fungo <i>M. levispora</i> - Isolado 33/08 (E) e com o fungo <i>M. roridum</i> - Isolado 03/10 (F). ....      | 62 |
| <b>Figura 5.2.</b> Mudanças de seringueira do clone RIMM600 nos tratamentos preventivos: com água (A), somente com o <i>Colletotrichum</i> (B), com o fungo <i>P. macrosporus</i> - Isolado 37/06 (C), com o fungo <i>C. eragrostidi</i> - isolado 47/06 (D), com o fungo <i>M. levispora</i> - Isolado 33/08 (E) e com o fungo <i>M. roridum</i> - Isolado 03/10 (F). .... | 62 |
| <b>Figura 5.3.</b> Área foliar afetada pela antracnose nos tratamentos curativos: com água (A), somente com o <i>Colletotrichum</i> (B), com o fungo <i>P. macrosporus</i> - Isolado 37/06 (C), com o fungo <i>C. eragrostidi</i> - isolado 47/06 (D), com o fungo <i>M. levispora</i> - Isolado 33/08 (E) e com o fungo <i>M. roridum</i> - Isolado 03/10 (F). ....        | 63 |
| <b>Figura 5.4.</b> Mudanças de seringueira do clone RIMM 600 nos tratamentos curativos: com água (A), somente com o <i>Colletotrichum</i> (B), com o fungo <i>P. macrosporus</i> - Isolado 37/06 (C), com o fungo <i>C. eragrostidi</i> - isolado 47/06 (D), com o fungo <i>M. levispora</i> - Isolado 33/08 (E) e com o fungo <i>M. roridum</i> - Isolado 03/10 (F). ....  | 63 |
| <b>Figura 5.5.</b> Atividade da enzima peroxidase [A] e da enzima FAL (ng/mL de ácido trans-cinâmico. grama de proteína <sup>-1</sup> . h <sup>-1</sup> ) [B] em mudas de seringueira nos tratamentos preventivos .....                                                                                                                                                     | 65 |
| <b>Figura 5.6.</b> Atividade da enzima peroxidase (mmol.min <sup>-1</sup> .mg <sup>-1</sup> protein) [A] e da enzima FAL (ng/mL de ácido trans-cinâmico. grama de proteína <sup>-1</sup> . h <sup>-1</sup> ) [B] em mudas de seringueira nos tratamentos curativos.....                                                                                                     | 66 |

## LISTA DE TABELAS

---

|                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 4.1.</b> Regiões gênicas e oligonucleotídeos nas reações de PCR realizadas nos isolados .....                                   | 42 |
| <b>Tabela 4.2.</b> Colônias de <i>Colletotrichum</i> spp. isoladas conforme a cidade de origem. ....                                      | 43 |
| <b>Tabela 4.3.</b> Isolados obtidos de <i>Colletotrichum</i> spp. em folhas e identificados conforme a espécie. ....                      | 44 |
| <b>Tabela 5.1.</b> Porcentagem de área foliar doente, de morte de enxertos e morte da gema apical de mudas no tratamento preventivo. .... | 61 |
| <b>Tabela 5.2.</b> Porcentagem de área foliar doente, de morte de enxertos e morte da gema apical de mudas no tratamento curativo. ....   | 61 |

## SUMÁRIO

|           |                                                                                        |           |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.</b> | <b>INTRODUÇÃO</b>                                                                      | <b>16</b> |
| 1.1.      | REFERÊNCIAS                                                                            | 19        |
| <b>2.</b> | <b>OBJETIVOS</b>                                                                       | <b>22</b> |
| 2.1.      | GERAL                                                                                  | 22        |
| 2.2.      | ESPECÍFICOS                                                                            | 22        |
| <b>3.</b> | <b>CAPÍTULO 1</b>                                                                      | <b>23</b> |
| 3.1.      | O GÊNERO <i>HEVEA</i>                                                                  | 23        |
| 3.1.1.    | A IMPORTÂNCIA DA SERINGUEIRA                                                           | 24        |
| 3.2.      | DIVERSIDADE DE FUNGOS EM SERINGAIS                                                     | 25        |
| 3.3.      | O GÊNERO <i>COLLETOTRICHUM</i>                                                         | 26        |
| 3.4.      | A ANTRACNOSE                                                                           | 27        |
| 3.5.      | SINTOMAS E EPIDEMIOLOGIA                                                               | 27        |
| 3.6.      | CONTROLE DE DOENÇAS                                                                    | 28        |
| 3.7.      | IDENTIFICAÇÃO DOS ISOLADOS DE <i>COLLETOTRICHUM</i> SPP.                               | 29        |
| 3.8.      | REFERÊNCIAS                                                                            | 30        |
| <b>4.</b> | <b>CAPÍTULO 2</b>                                                                      | <b>36</b> |
| 4.1.      | RESUMO                                                                                 | 36        |
| 4.2.      | INTRODUÇÃO                                                                             | 37        |
| 4.3.      | MATERIAL E MÉTODOS                                                                     | 39        |
| 4.3.1.    | OBTENÇÃO DE MATERIAL COM ANTRACNOSE                                                    | 39        |
| 4.3.2.    | ISOLAMENTO DO FUNGO <i>COLLETOTRICHUM</i> SPP.                                         | 40        |
| 4.3.3.    | CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR: SEQUENCIAMENTO DE REGIÕES ESPECÍFICAS E ANÁLISE FILOGENÉTICA | 41        |
| 4.4.      | RESULTADOS                                                                             | 42        |
| 4.4.1.    | ISOLAMENTO DE <i>COLLETOTRICHUM</i> SPP. A PARTIR DOS MATERIAIS INFECTADOS.            | 42        |
| 4.4.2.    | IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR: SEQUENCIAMENTO DE REGIÕES ESPECÍFICAS E ANÁLISE FILOGENÉTICA  | 43        |
| 4.5.      | DISCUSSÃO                                                                              | 46        |
| 4.6.      | CONCLUSÕES                                                                             | 48        |
| 4.7.      | REFERÊNCIAS                                                                            | 49        |
| <b>5.</b> | <b>CAPÍTULO 3</b>                                                                      | <b>53</b> |
| 5.1.      | RESUMO                                                                                 | 53        |
| 5.2.      | INTRODUÇÃO                                                                             | 54        |
| 5.3.      | MATERIAL E MÉTODOS                                                                     | 56        |

|           |                                                                                                      |           |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.3.1.    | ISOLADO DOS FUNGOS USADOS E CLONES DE SERINGUEIRAS USADOS NO TRABALHO                                | 56        |
| 5.3.2.    | CONTROLE DE <i>COLLETOTRICHUM</i> EM SERINGUEIRA UTILIZANDO FUNGOS SAPRÓBIOS DO SEMIÁRIDO NORDESTINO | 56        |
| 5.3.3.    | QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE DAS ENZIMAS PEROXIDASE E FENILALANINA AMÔNIALIASE (FAL)                   | 57        |
| 5.4.      | RESULTADOS E DISCUSSÃO                                                                               | 58        |
| 5.5.      | CONCLUSÕES                                                                                           | 66        |
| 5.6.      | REFERÊNCIAS                                                                                          | 67        |
| <b>6.</b> | <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>                                                                          | <b>70</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

---

A seringueira (*Hevea brasiliensis* Müell. Arg.) é uma espécie pertencente à família Euphorbiaceae que possui grande importância econômica devido à produção de látex, fonte de borracha natural (ALVARENGA; CARMO, 2008).

Apesar da importância da borracha natural como matéria prima para a indústria, em diversos segmentos, por exemplo, a indústria automobilística, de calçados, adesivos e da área médica (SIERRA-HAYER, 2014), a produção brasileira de borracha natural representa apenas um terço da demanda nacional se tornando necessária a importação do produto para o país.

Dentre as dificuldades para o aumento da produtividade da cultura no Brasil, se encontram os problemas fitossanitários, a exemplo dos ocasionados pela antracnose. A antracnose é uma doença causada por fungos do gênero *Colletotrichum*, considerado economicamente um dos mais importantes gêneros de fitopatógenos no mundo, devido aos elevados danos causados, em uma ampla gama de espécies vegetais, em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (SUTTON, 1992).

Diferentes tecidos da seringueira são afetados pela antracnose. Nas folhas, ramos e pecíolos os sintomas se manifestam nas brotações novas, causando pequenas lesões arredondadas de coloração marrom-avermelhada que podem coalescer. Nos pecíolos e ramos, provocam lesões escuras, necróticas e deprimidas. Em condições de ataque severo, ocorre desfolhamento, morte da gema apical e seca descendentes dos ramos. Em todos os órgãos afetados há grande produção de esporos, envoltos em massa de coloração alaranjada (FURTADO; TRINDADE, 2005).

No painel de sangria os sintomas se caracterizam pela presença de lesões secas e deprimidas, com forma elíptica, localizadas acima do corte de sangria (SILVEIRA *et al.*, 1992), podendo coalescer e danificar grande parte do painel (FURTADO; TRINDADE, 2005).

Em condições de campo as infecções são ocasionadas por conídios produzidos em massas a partir dos acérvulos, embora os ascósporos do fungo, produzidos em peritécios, formados nas folhas velhas ou outros órgãos mortos, também possam causar infecções. Os conídios são disseminados por meio de respingos de chuva e pelo vento. Condições de umidade relativa do ar superior a 90% durante 13 horas por dia favorecem a ocorrência severa da doença (GASPAROTTO *et al.*, 2012).



De acordo com Wastie (1972), a temperatura ótima para o crescimento e esporulação de *C. gloeosporioides* de *Hevea brasiliensis* ocorre entre 26 e 32 °C, com germinação de esporos superior a 90% entre 21,5 e 30,5 °C, sendo a viabilidade e germinação de esporos sensíveis à umidade atmosférica, decrescendo significativamente abaixo de 100% de umidade relativa do ar. Entretanto, o comportamento das espécies de *Colletotrichum* pode ser distinto. Esse fato foi constatado por Adaskaveg e Hartin (1997), que analisando o desenvolvimento de colônias em meio de cultura, distinguiram isolados de *C. gloeosporioides*, que se desenvolveram melhor a 30 °C, de *C. acutatum* cujo crescimento da colônia foi mais intenso a temperatura de 25 °C.

Smith e Black (1990) também diferenciaram isolados de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, pelo fato desta última espécie apresentar o menor desenvolvimento sob a temperatura de 32°C. Entre os agentes causais da antracnose já relatados no Brasil estão *C. gloeosporioides* (SILVEIRA; CARDOSO, 1987) e *C. acutatum* (SIERRA-HAYER, 2010).

Sarmiento (2013) caracterizou isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de seringais dos estados de Minas Gerais, Bahia, Mato Grosso e Manaus, utilizando análises morfológicas e moleculares e constatou que os mesmos pertencem a diferentes complexos de espécies (*C. acutatum*, *C. gloeosporioides* e *C. boninense*), embora não tenha sido possível identificá-las precisamente.

Além disso, existe a possibilidade de ocorrência de duas ou mais espécies de *Colletotrichum* parasitando um mesmo hospedeiro, fator que pode dificultar o controle da antracnose, tornando-a uma doença ainda mais importante. Isto se deve pelo comportamento diferenciado entre espécies, as quais apresentam sensibilidade distinta a diferentes fungicidas (TOZZE JÚNIOR, 2007).

Sendo assim, para o desenvolvimento ou adoção de um método eficaz ao controle da antracnose da seringueira, é imprescindível o conhecimento sobre quais espécies do patógeno ocorrem e quais prevalecem, bem como qual a variabilidade da população do patógeno associada à antracnose da seringueira em uma determinada região (KATAN, 2000).

Entretanto, devido à plasticidade fenotípica apresentada pelas espécies do gênero *Colletotrichum*, esforços devem ser aumentados para o uso integrado de métodos morfológicos e bioquímicos, visando estudos taxonômicos desse importante grupo de fungos (MENEZES, 2006). Desta forma, evitando a identificação imprecisa

do agente causal baseada apenas em critérios fenotípicos, o que poderia comprometer a compreensão da relação entre patógeno e hospedeiro, o diagnóstico e o controle da doença (HYDE *et al.*, 2009).

Com os avanços nos estudos moleculares associados aos métodos baseados em critérios fenotípicos, a taxonomia do gênero *Colletotrichum* tem sido melhor compreendida e, novas espécies são propostas (DAMM *et al.*, 2012a; DAMM *et al.*, 2012b; WEIR *et al.*, 2012). A análise de sequências de ácidos nucleicos é considerada a técnica mais confiável para a classificação de espécies de *Colletotrichum* (CAI *et al.*, 2009; CROUCH *et al.*, 2009; DAMM *et al.*, 2009; PRIHASTUTI *et al.*, 2009; CANNON *et al.*, 2012).

Dentre as regiões do genoma já estudadas para este gênero, a ITS é a que possui maior número de sequências depositadas. A análise filogenética utilizando dados desta região é uma ferramenta útil para uma identificação preliminar da espécie de *Colletotrichum* ou para colocá-lo em um complexo de espécie (CAI *et al.* 2009). Existem várias regiões do genoma de fungos do gênero *Colletotrichum* têm sido analisadas em conjunto com a ITS, entre as quais a  $\beta$ -tubulina, Calmodulina, Glutamina sintetase e Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (PRIHASTUTI *et al.*, 2009).

Dentre as regiões do genoma já estudadas para este gênero, a ITS é a que possui maior número de sequências depositadas. A análise filogenética utilizando dados desta região é uma ferramenta útil para uma identificação preliminar da espécie de *Colletotrichum* ou para colocá-lo em um complexo de espécie (CAI *et al.* 2009). Existem várias regiões do genoma de fungos do gênero *Colletotrichum* que têm sido analisadas em conjunto com a ITS, entre as quais a  $\beta$ -tubulina, Calmodulina, Glutamina sintetase e Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (PRIHASTUTI *et al.*, 2009). Tais estudos demonstram que a análise multigênica é a técnica mais adequada para identificação de espécies de *Colletotrichum*.

Uma maior compreensão sobre a etiologia e epidemiologia da antracnose da seringueira possibilita estudos direcionados, visando minimizar os danos causados pela doença, contribuindo com a maior produtividade dos seringais e melhor atendimento às demandas pela borracha natural no mercado brasileiro.

Neste sentido, esta tese está dividida em três capítulos que compreendem uma revisão de literatura no Capítulo 1 e os resultados dos ensaios experimentais, em

formato de artigo para potencial publicação em periódico científico especializado, nos Capítulos 2 e 3

### 1.1. Referências

ADASKAVEG, J. E.; HARTIN, R. J. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 87, n. 9, p. 979-987, 1997.

ALVARENGA, A. A.; CARMO, C. A. F. **Seringueira**. Viçosa: EPAMIG, 2008. 894 p.

CAI, L.; HYDE, K.D.; TAYLOR, P.W.J.; WEIR, B.S.; WALLER, J.; 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**, Chiang Mai, v. 39, p. 183-204, 2009.

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

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 of the fungus from warm season grasses. **Mycologia**, New York, v. 101, p. 717-732, 2009.

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

DAMM, U.; CANNON, P. F.; WOUDEBERG, 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**, Utrecht, v. 73, p. 1-36, 2012b.

FURTADO, E. L.; TRINDADE, D. R. Doenças da seringueira. In: KIMATI, H. *et al.* **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 559-569.

GASPAROTTO, L.; FERREIRA, F. A.; SANTOS, A. F.; PEREIRA, J. C. R.; FURTADO, E. L. Doenças das folhas. In: GASPAROTTO, L.; REZENDE PEREIRA, J. C. **Doenças da seringueira no Brasil**. 2. ed. rev. atual. Brasília: Ed. Embrapa, 2012. Cap. 3, p. 35 – 176.

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

KATAN, T. Vegetative compatibility in *Colletotrichum*. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S. E.; DICKMAN, M. B. **Colletotrichum: host specificity, pathology and host-pathogen Interaction**. Saint Paul: APS Press, 2000. p. 45-56.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 3, p.170-179, 2006.

PRIHASTUTI, H.; CAI, L.; CHEN, H.; MCKENZIE, E. H. C.; HYDE, K. D. Characterization of *Colletotrichum* species associated with coffee berries in Chiang Mai, Thailand. **Fungal Diversity**, Chiang Mai, v. 39, p. 89-109, 2009.

SARMIENTO, S. S. **Identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose foliar da seringueira**. 2013. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2013.

SIERRA-HAYER, J.F. **Caracterização e controle de *Colletotrichum* spp. em seringueira (*Hevea brasiliensis*)**. 2010. 68 f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

SIERRA-HAYER, J. F. **Variabilidade genética de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum acutatum* em seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Brasil**. 2014. 55 f. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

SILVEIRA, A. P.; CARDOSO, R. M. G. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 13, n1-2, p. 19, 1987.

SMITH, B. J.; BLACK, L. L. Morphological, cultural and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 74, n. 1, p. 69- 76, 1990.

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

TAO, G.; HYDE, K. D.; CAI, L. Species-specific real-time PCR detection of *Colletotrichum kahawae*. **Journal of Applied Microbiology**, Chichester, v. 114, p. 135-138, 2012.

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

WASTIE, R. L. Secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis*: factors affecting the production, germination and viability of spores of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 72, n. 3, p. 273–282, 1972.

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 73, p. 115-180, 2012

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

A caracterização molecular possibilitou a identificação sete espécies pertencentes a três complexos: complexo *C. gloeosporioides* (*C. siamense*, *C. gloeosporioides*, *C. fructicola*, *C. theobromicola*), complexo *C. boninense* (*C. karsti*) e complexo *C. acutatum* (*C. acutatum*, e *C. scovillei*).

Dentre os fungos sapróbios do semiárido nordestino para indução de resistência de seringueira a *Colletotrichum* spp., *Curvularia eragrostidis* teve melhor desempenho no controle da antracnose quando aplicado de modo preventivo e *Phialomyces macrosporus* controlou a doença quando aplicado de modo curativo

---

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp.  
DE SERINGUEIRA E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DA PLANTA A ESTE FUNGO  
UTILIZANDO ORGANISMOS SAPRÓBIOS DO SEMIÁRIDO NORDESTINO**

---

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Carolina Firmino

---

**Aluno:** Marcela Pagoti Bergamini Lopes

Ilha Solteira  
Estado de São Paulo – Brasil  
Dezembro/2021