

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**SENSIBILIDADE *in vitro* DE *Colletotrichum* spp.
ASSOCIADOS A *Citrus sinensis* A FUNGICIDAS TRIAZOIS
(DMI) E SUAS COMBINAÇÕES ÀS ESTROBILURINAS (QoI)**

**Gabriel Henrique dos Santos Silva Salgado
Engenheiro Agrônomo**

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

**SENSIBILIDADE *in vitro* DE *Colletotrichum* spp.
ASSOCIADOS A *Citrus sinensis* A FUNGICIDAS TRIAZOIS
(DMI) E SUAS COMBINAÇÕES ÀS ESTROBILURINAS (QoI)**

Discente: Gabriel Henrique dos Santos Silva Salgado

Orientador: Prof. Dr. Antonio de Goes

Coorientadora: Dra. Fernanda Dias Pereira

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

S164

Salgado, Gabriel Henrique dos Santos Silva

Sensibilidade in vitro de *Colletotrichum* spp. associados a *Citrus sinensis* a fungicidas triazois (DMI) e suas combinações às estrobilurinas (QoI) / Gabriel Henrique dos Santos Silva Salgado. -- Jaboticabal, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Antonio de Goes

Coorientadora: Fernanda Dias Pereira

1. Podridão floral dos citros. 2. Fungitoxicidade. 3. Inibidores da desmetilação. 4. Inibidores da quinona oxidase. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

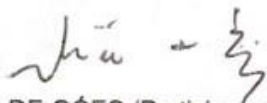
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: SENSIBILIDADE *in vitro* DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS A *Citrus sinensis* A FUNGICIDAS TRIAZOIS (DMI) E SUAS COMBINAÇÕES ÀS ESTROBILURINAS (QoI)

AUTOR: GABRIEL HENRIQUE DOS SANTOS SILVA SALGADO

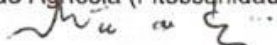
ORIENTADOR: ANTONIO DE GÓES

COORIENTADORA: FERNANDA DIAS PEREIRA

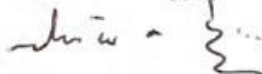
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ANTONIO DE GÓES (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora Dra. LAÍS BARBOSA PRAZERES MENDONÇA (Participação Virtual)
Inova Genética LTDA / Cristalina/GO



Profa. Dra. GABRIELLA SOUZA CINTRA (Participação Virtual)
Centro Universitário de Rio Preto/UNIRP / São José do Rio Preto/SP

Jaboticabal, 23 de fevereiro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GABRIEL HENRIQUE DOS SANTOS SILVA SALGADO – nascido em 21 de julho de 1993 no município de Araçatuba, interior do estado de São Paulo. Em 2012, ingressou no curso de Engenharia Agrônômica (Bacharelado) na Universidade Estadual Paulista - UNESP, campus de Registro. Durante a graduação foi bolsista PROEX (Pro-Reitoria de Extensão) com o projeto “Museu da Mata Atlântica”, bolsista do projeto “Monitoramento da Arborização da cidade de Registro” em parceria com a Prefeitura Municipal de Registro, foi aluno de Iniciação Científica, com o projeto “Desenvolvimento vegetativo e rendimento do palmito de pupunheira de acordo com população de plantas e a alturas de corte”, foi representante discente no Conselho de Graduação por duas gestões, 2014 e 2015, foi membro do Centro Acadêmico “4 de Agosto” na gestão de 2015, atuando como vice-presidente, foi membro do Empresa de Consultoria Agropecuária Junior (ECAP Jr.), nas gestões 2015 e 2016, na gestão de 2015, atuou como trainee, e na gestão 2016 como vice-presidente, foi membro da Associação Atlética Acadêmica Rayel Nunes, nas gestões 2015 e 2016, sendo diretor de eventos na gestão de 2015 e posteriormente diretor sócio cultural na gestão seguinte. Realizou estágios durante a graduação em genética e biologia molecular por cinco semestres, em agricultura por dois semestres e em arborização e paisagismo também por dois semestres. Em 2017 estagiou no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) – Centro de Cana, nos departamentos de fisiologia vegetal e biotecnologia e posteriormente iniciou o seu treinamento técnico, sendo bolsista no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) – Centro de Cana. Em 2018 ingressou no curso de Pós-graduação, Mestrado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas), na Universidade Estadual Paulista - UNESP, campus de Jaboticabal, sendo bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). Durante o mestrado atuou como membro do Grupo de Estudo em Genética e Melhoramento de Plantas (GEMP) como membro da comissão social, constituído por estudantes de pós-graduação da instituição.

Suba o primeiro degrau com fé.
Não é necessário que você veja toda a escada.
Apenas dê o primeiro passo.

Martin Luther King Jr.

Ofereço e dedico este trabalho à minha mãe, por ser pai, mãe e amiga,
pelo total apoio, amor, carinho e dedicação, em todos os momentos da minha vida.

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus a quem devo minha vida, pela força nos momentos difíceis e por abençoar meu caminho, por ter me conservado em pé até o presente momento, tornando possível esta grande conquista.

À minha família pelo apoio e incentivo aos meus estudos, em especial a minha querida mãe Geruza dos Santos Silva Souza, por ser um exemplo de pessoa e profissional.

Ao Professor Dr. Antonio de Goes, pela oportunidade concedida, pela excelente receptividade, paciência, incentivo, orientação durante a realização do mestrado e pelo exemplo de conduta acadêmica.

À Dra. Fernanda Dias Pereira, por ser uma amiga acima de tudo, por me orientar e incentivar em todos os momentos durante o mestrado.

As componentes da banca do exame geral de qualificação: Dra. Laís Barbosa Prazeres Mendonça e a Dra. Nadia Maria Poloni, agradeço pelas preciosas dicas, participação e contribuição.

Aos componentes da comissão examinadora: Dra. Laís Barbosa Prazeres Mendonça e Dra. Gabriella Souza Cintra, agradeço pela contribuição, disponibilidade e participação.

A todos do Laboratório de Fitopatologia, por todo apoio e ensinamentos durante esse processo.

À Alice Pereira Silva, por se tornar uma grande amiga nessa jornada, por dividir muitos desses momentos, obrigado estar presente no que fosse preciso, você foi de extrema importância nesse processo, muito obrigado amiga!

Aos meus queridos amigos da pós-graduação, Alyce Carla Moitinho, Barbara Balisa, Carol Fregonesi, Dardania Cristeli, Igor Kniphoff, Joice Firmino, Lucélia Santos, Maria Heloisa Julião, Marina Vitória, Nadia Maria Poloni, Paula Klotz, Raquel Oliveira, Saulo Dantas e Thayna Garcia, por dividir experiências e ensinamentos.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP) pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos - Código de Financiamento 001.

Por fim, a todos que de alguma forma torceram para que eu conseguisse chegar até aqui, meus sinceros agradecimentos.

Gratidão a todos!

SUMÁRIO

RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Citros: sua importância.....	3
2.2. O gênero <i>Colletotrichum</i>	4
2.3. Podridão Floral do Citros (PFC)	5
2.4. Métodos de Controle	8
2.4.1. Triazóis.....	10
2.4.2. Estrobilurinas.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1. Obtenção dos isolados.....	14
3.2. Avaliação da inibição micelial das espécies de <i>Colletotrichum</i> a fungicidas ..	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5. CONCLUSÃO	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
APÊNDICE	42

SENSIBILIDADE *in vitro* DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADOS A *Citrus sinensis* A FUNGICIDAS TRIAZOIS (DMI) E SUAS COMBINAÇÕES ÀS ESTROBILURINAS (QoI)

RESUMO

Espécies de *Colletotrichum* coexistem na forma patogênica, endofítica e como saprófita em centenas de espécies de plantas frutíferas, cereais, grãos, hortaliças e ornamentais. Em citro, são responsáveis por perdas em pós-colheita e principalmente durante o florescimento de laranjeiras doces, que sob ambiente favorável pode causar enormes queda na produção. No Brasil, *Colletotrichum abscissum* e *C. gloeosporioides* sensu stricto são responsáveis pela doença podridão floral dos citros (PFC). Há indicações de outras espécies também associadas à doença, especialmente *C. karstii*. O controle da doença é feito por meio de aplicações dos fungicidas tebuconazol e difenoconazol (DMIs), ou sua combinação às estrobilurinas (QoI), especialmente trifloxistrobina e azoxistrobina. Neste trabalho foi avaliada a sensibilidade *in vitro* de espécies de *Colletotrichum* associadas a laranjeiras doces no Estado de São Paulo. Os fungicidas avaliados foram tebuconazole, difenoconazole, e formulações comerciais destes fungicidas associados a azoxistrobina e trifloxistrobina, nas concentrações 0,01, 0,1, 1, 10 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A avaliação consistiu na determinação da inibição do crescimento das colônias, a partir da qual foi determinado a porcentagem de inibição do crescimento das colônias (PIC), e concentração inibitória efetiva (CE₅₀). Para interpretação dos resultados foi também aplicado análise de regressão dos dados. Constatou-se que todas as espécies de *Colletotrichum* avaliadas foram altamente sensíveis aos fungicidas avaliados, sendo demonstrado sua sensibilidade *in vitro*. Todas as espécies de *Colletotrichum* avaliadas mostraram-se mais sensíveis às combinações de trifloxistrobina e tebuconazole que aos trizóis isoladamente. Tais resultados indicaram que, em que pese o uso recorrente e sistemático de fungicidas DMI e QoI no controle das diversas doenças associadas aos citros, no Estado de São Paulo, como PFC e Pinta preta (*Phyllosticta citricarpa*), a eficiência dos mesmos mantém-se inalterada no manejo das espécies de *Colletotrichum* associadas a *Citrus sinensis*.

Palavras-chave: Podridão floral dos citros, fungitoxicidade, inibidores da desmetilação, inibidores da quinona oxidase.

***In vitro* SENSITIVITY OF *Colletotrichum* spp. ASSOCIATED WITH *Citrus sinensis* TO TRIAZOIS FUNGICIDES (DMI) AND THEIR COMBINATIONS WITH STROBILURINS (QoI)**

ABSTRACT

Colletotrichum species coexist in pathogenic, endophytic and saprophytic forms on hundreds of species of fruit, cereal, grain, vegetable and ornamental plants. In citrus it is responsible for postharvest losses and especially during the flowering of sweet orange trees, which under favorable environment can cause huge yield decreases. In Brazil, *Colletotrichum abscissum* and *C. gloeosporioides sensu stricto* are responsible for the prostbloom fruit drop (PFD). There are indications of other species also associated with the disease, especially *C. karstii*. The control of the disease is done by applications of the fungicides tebuconazole and difenoconazole (DMIs), or their combination to strobilurins (QoI), especially trifloxystrobin and azoxystrobin. In this work, the *in vitro* sensitivity of *Colletotrichum* species associated with sweet orange trees in São Paulo State was evaluated. The fungicides evaluated were tebuconazole, difenoconazole, and commercial formulations of these fungicides associated with azoxystrobin and trifloxystrobin, at concentrations of 0.01, 0.1, 1, 10 and 100 µg mL⁻¹. The evaluation consisted in determining the growth inhibition of colonies, from which the percentage of growth inhibition of colonies, and effective inhibitory concentration were determined. Regression analysis of the data was also applied to interpret the results. It was found that all *Colletotrichum* species evaluated were highly sensitive to the fungicides evaluated, proving their efficiency *in vitro*. All *Colletotrichum* species were more sensitive to the combinations of trifloxystrobin and tebuconazole than to the trizoles alone. These results indicate that, despite the recurrent and systematic use of DMI and QoI fungicides in the control of several citrus-associated diseases in São Paulo State, such as PFD and Citrus black spot (*Phyllosticta citricarpa*), their efficiency remains unchanged in the management of *Colletotrichum* species associated with *Citrus sinensis*.

Keywords: Prostbloom fruit drop, fungitoxicity, demethylation inhibitors, quinone oxidase inhibitors.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Localidade, hospedeiro, variedade de laranja doce, tecido vegetal, sintoma e identificação dos isolados de <i>Colletotrichum</i> utilizados neste estudo.	14
Tabela 2. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de isolados <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Colletotrichum abscissum</i> e <i>Colletotrichum karstii</i> em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do fungicida tebuconazol <i>in vitro</i>	19
Tabela 3. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de isolados <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Colletotrichum abscissum</i> e <i>Colletotrichum karstii</i> em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do fungicida difenoconazol <i>in vitro</i>	19
Tabela 4. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de isolados <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Colletotrichum abscissum</i> e <i>Colletotrichum karstii</i> em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do fungicida trifloxistrobina + tebuconazol <i>in vitro</i>	20
Tabela 5. Equações de regressão, R^2 , CE_{50} e sensibilidade de isolados <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> , <i>Colletotrichum abscissum</i> e <i>Colletotrichum karstii</i> associados à sintomas de podridão floral dos citros expostos a diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos fungicida.	22

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Índice de crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum karstii* e *Colletotrichum abscissum*.18
- Figura 2.** Inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum abscissum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida tebuconazol com os isolados OO2.9 (*C. abscissum*) (A), OO3.20 (*C. gloeosporioides*) (B) e BO1.5 (*C. karstii*) (C).23
- Figura 3.** Inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum abscissum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida difenoconazol com os isolados OO2.9 (*C. abscissum*) (A), OO3.20 (*C. gloeosporioides*) (B) e BO1 (*C. karstii*) (C).24
- Figura 4.** Inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum abscissum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida trifloxistrobina + tebuconazol com os isolados OO2.9 (*C. abscissum*) (A), OO3.20 (*C. gloeosporioides*) (B) e BO1.5 (*C. karstii*) (C).25
- Figura 5.** Inibição micelial dos isolados de *C. gloeosporioides* e *C. karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida tebuconazol, com os isolados OO1.11 (*C. gloeosporioides*) (A), SO2.6 (*C. gloeosporioides*) (B), MON1.5 (*C. gloeosporioides*) (C), TO1.3.6 (*C. gloeosporioides*) (D), TO2.3.10 (*C. karstii*) (E) e TO2.3.11 (*C. gloeosporioides*) (F).42
- Figura 6.** Inibição micelial dos isolados de *C. gloeosporioides* e *C. karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida difeconazol, com os isolados OO1.11 (*C. gloeosporioides*) (A), SO2.6 (*C. gloeosporioides*) (B), MON1.5 (*C. gloeosporioides*) (C), TO1.3.6 (*C. gloeosporioides*) (D), TO2.3.10 (*C. karstii*) (E) e TO2.3.11 (*C. gloeosporioides*) (F).43
- Figura 7.** Inibição micelial dos isolados de *C. gloeosporioides* e *C. karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida trifloxistrobina + tebuconazol, com os isolados OO1.11 (*C. gloeosporioides*) (A), SO2.6 (*C. gloeosporioides*) (B), MON1.5 (*C. gloeosporioides*) (C), TO1.3.6 (*C. gloeosporioides*) (D), TO2.3.10 (*C. karstii*) (E) e TO2.3.11 (*C. gloeosporioides*) (F).43

1. INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador de suco de laranja do mundo (Pinto e Jacomino, 2013; USDA, 2017; Citrusbr, 2019). A safra de citros para o cinturão citrícola do Estado de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro foi reestimada em 269,01 milhões de caixas (Fundecitrus, 2021).

Embora pujante, a cultura do citros é afetada por diversos patógenos como fungos, bactérias e vírus. Dentre as principais doenças fúngicas destaca-se a Podridão floral do citros (PFC), responsável por perdas de até 80% de produção quando de condições climáticas muito favoráveis ao patógeno (Goes et al., 2008).

No Brasil, a podridão floral do citros é causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Lima et al., 2011) e *Colletotrichum abscissum* (Crous et al., 2015). No mundo, especialmente na China e em alguns países da União europeia, tem-se reportado a presença de 20 espécies de *Colletotrichum* pertencentes a seis complexos, sendo: (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 *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 et al., 2012; Huang et al., 2013; Sharma et al., 2015; Perrone et al., 2016; Liu et al., 2016; Guarnaccia et al., 2017); (v) Gigasporum, espécie *C. citri-maximae* (Douanla-Meli e Unger, 2017); e (vi) Cliviae, espécie *C. cliviae* (Douanla-Meli e Unger, 2017). Outras três espécies de *Colletotrichum*, *C. brevisporum*, *C. tropicicola* e *C. queenslandicum*, também já foram relatadas em citros (Huang et al., 2013; Kunta et al., 2017).

Testes de patogenicidade realizados em plantas cítricas, em Portugal, comprovaram que, mesmo advindo de outros órgãos da planta, *Colletotrichum karstii* pode ser patogênico para flores e folhas de laranjeiras doce, tangerinas e limoeiros (Ramos et al., 2016). Carboni (2018), no Brasil, também reportou a associação de *C. asianum*, *C. karstii*, *C. gigasporum* e *C. aracearum* em plantas cítricas, e também

constatou que, sob condições controladas, tais espécies de fungos mostraram-se patogênicas quando inoculadas em flores de laranja doce 'Valência', sendo os sintomas típicos aos da PFC

Os fungicidas recomendados para o manejo da PFC são pertencentes aos grupos dos triazóis (inibidores da desmetilação de esteróis, - DMI) e das estrobilurinas (inibidores de quinona externa, - QoI). As misturas formuladas dos dois grupos de fungicidas são as mais eficientes e empregadas no controle da doença (Silva-Junior et al., 2014). Nos últimos anos, por decorrência da falta de opções técnicas e dado a dessincronização de floradas, esses fungicidas são massivamente utilizados no controle da doença. Associado a este fato, ingredientes ativos correspondentes às estrobilurinas, e que integram tais formulações, são praticamente os únicos registrados e indicados para o controle de uma outra doença das plantas cítricas, a pinta preta, causada por *Phyllosticta citricarpa*. Dessa feita, pela elevada distribuição geográfica dos patógenos causais, tais fungicidas mencionados são empregados muito repetidamente, elevando desta forma a sua vulnerabilidade quanto às possibilidades de seleção de estirpes resistentes ou insensíveis aos fungicidas de ambos grupos químicos.

O presente trabalho tem o objetivo avaliar a sensibilidade *in vitro* de *C. abscissum*, *C. gloeosporioides* e *C. karstii* oriundos de laranjeiras doces aos fungicidas triazóis, tebuconazol e difenoconazol (DMI), e às formulações comerciais constituídas pelas combinações tebuconazol e trifloxistrobina, e difenoconazol combinado com azoxistrobina.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Citros: sua importância

A citricultura representa um importante segmento econômico para o Brasil. O setor tem grande impacto na geração de empregos, de forma direta e indireta, contribui para a balança comercial nacional, refletindo significativamente na geração de capital e no desenvolvimento social (Zulian et al., 2013).

O Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador de suco de laranja do mundo (Pinto e Jacomino, 2013; USDA, 2017). Cerca de 81% do suco de laranja comercializado no mundo é originário do Brasil (Citrusbr, 2019).

No setor citrícola, há basicamente dois mercados consumidores distintos: laranja produzida para consumo *in natura* (laranja de mesa), e como matéria-prima para processamento e produção de suco e produtos secundários. O destino final da produção influencia os indicadores de rentabilidade, pois para cada consumo específico existem restrições e/ou demandas relativa aos produtos gerados. Por exemplo, para o consumo *in natura*, é importante o maior cuidado com o aspecto visual da fruta, primando-se pela sua qualidade visual e em conformidade às exigências do mercado. Por outro lado, para o processamento industrial há exigências específicas quanto aos indicadores técnicos relativos à sua qualidade industrial, sendo também, de forma semelhante à aplicada à fruta de mesa, excelentes padrões no processo produtivo, e em conformidade aos indicadores fundamentais narastreabilidade (Erpen et al., 2018).

No Brasil, em que pese a pujança do setor citrícola e os grandes avanços alcançados em produtividade e qualidade, existem grandes desafios de ordem fitossanitária, com destaque às pragas e doenças que dificultam grandemente o processo produtivo. Dentre as doenças, um grande desafio é representado pelo Greening/ Huanglongbing (HLB), a mais importante, causada por *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Ca. Li americanus*, e as causadas por fungos, como a podridão floral dos citros, causada por diversas espécies de *Colletotrichum*, e a pinta preta (*Phyllosticta citricarpa*).

2.2. O gênero *Colletotrichum*

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). Espécies de *Colletotrichum* podem infectar mais de 30 gêneros de plantas (Perfect et al., 1999; Damm et al., 2012a, b; Farr e 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), como: inhame (Abang et al., 2003), pimenta (Than et al., 2008), banana (Zakaria et al., 2009), gramíneas (Crouch e Beirn, 2009), milho (Crouch e Beirn, 2009), caju (Lopez e Lucas, 2010), orquídeas (Yang et al., 2011), mamão (Maharaj e 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 e Burbano-Figueroa, 2017).

O gênero *Colletotrichum* é muito abrangente, e até recentemente contava com 189 espécies reconhecidas, subdivididas em 11 complexos, e 23 espécies únicas (Jayawardena et al., 2016b). No entanto, com os avanços alcançados mediante à aplicação de diversas técnicas modernas, tem-se constatado que o universo que contempla o gênero é muito mais amplo e diverso, sendo gradativamente descritas novas espécies, 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 e Unger, 2017), *C. catinaense*, *C. limoncola*, *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 e Unger (2017).

Taxonomicamente, pela existência de descrições de *Colletotrichum gloeosporioides* como membro integrante de um táxon, adota-se quando do

conhecimento específico os termos latinos *sensu stricto*, e quando de uma abordagem ampla, *latu sensu*.

2.3. Podridão Floral do Citros (PFC)

A Podridão Floral do Citros, também descrita como Queda Prematura dos Frutos Jovens, ou ainda como Blossom Blight, foi reportada pela primeira vez por Fagan (1979). Inicialmente, a PFC foi atribuída a *C. gloeosporioides*, posteriormente, à espécie associada à doença foi taxonomicamente revista e, após reanálise segundo caracteres morfológicos, fisiológicos e moleculares, a espécie foi classificada como *C. acutatum* (Brown et al., 1996). Baseado em estudos taxonômicos e moleculares, *C. acutatum* foi reclassificado, sendo descrito como *C. abscissum* (Crous et al., 2015).

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 e Unger, 2017), teve sua patogenicidade comprovada, e também passou a ser considerada como um agente causal adicional da doença (Lima et al., 2011; Souza et al., 2013; Silva-Junior et al., 2014).

Atualmente, há dezenas de espécies de *Colletotrichum* descritas em associação com as plantas cítricas. Dentre tais complexos incluem-se: (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 et al., 2012; Huang et al., 2013; Sharma et al., 2015; Perrone et al., 2016; Liu et al., 2016; Guarnaccia et al., 2017); (v) Gigasporum, espécie *C. citri-maximae* (Douanla-Meli et al., 2017); e (vi) Cliviae, espécie *C. cliviae* (Douanla-Meli et al., 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).

No Brasil, a PFC causada por *Colletotrichum acutatum*, foi relatado desde a década de 1970, primeiro nos pomares do estado do Rio Grande do Sul e mais tarde no estado de São Paulo (Porto et al., 1979). Estudos posteriores, indicaram o envolvimento exclusivo de *C. gloeosporioides* e *C. abscissum* como os agentes causais da PFC no estado de São Paulo (Silva et al., 2017). Entretanto, em trabalho publicado por Carboni (2018) foi demonstrado a patogenicidade em flores de laranja 'Valência', em casa de vegetação, de quatro espécies adicionais: *C. asianum*, *C. karstii*, *C. gigasporum* e *C. aracearum*, comprovando a complexidade e diversidades de espécies de *Colletotrichum* associados a *Citrus sinensis*, conforme evidenciado por Ramos et al. (2016) e Guarnaccia et al. (2017), na Europa, em plantas cítricas de pomares na China (Huang et al., 2013), dentre outros. De acordo com a literatura, o complexo de espécies encontra-se associadas às condições saprofíticas, endofíticas e patogênicas em folhas, ramos e frutos, especialmente em pós-colheita.

Uma pesquisa de *Colletotrichum* associados a sintomas de PFC no estado de São Paulo mostraram que a presença de *Colletotrichum gloeosporioides* além de *C. acutatum* (Lima et al., 2011). No o estado de São Paulo, a PFC causou danos principalmente nas épocas de cultivo de 1977/78 (Rossetti et al., 1981), 1990/91 (Feichtenberger, 1991), 1993 (Feichtenberger, 1994), 1996/ 1998 (Peres et al., 2000) e 2009 (Silva-Junior et al., 2014). A região mais afetada pela doença foi a sudoeste, embora tenha sido observado em outras regiões (Feichtenberger, 1991; Feichtenberger, 1994).

No Brasil, sob condições favoráveis, a PFC pode ocasionar perdas de até 80% na produção de frutos (Goes e Kupper, 2002; Goes et al., 2008), ou até 100% quando as medidas de controle de fungicidas não são tomadas convenientemente, o que coincide com o apontado em otros países (Timmer e Zitko, 1996). 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 et al., 2016).

Todas as variedades de laranjeiras doces cultivadas no estado de São Paulo são suscetíveis às espécies de *Colletotrichum* que ocasionam a 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 umidade e temperatura (Timmer e Brown, 2000; Timmer e Peres, 2015). O desenvolvimento e penetração das hifas nas pétalas pode ocorrer intra e intercelularmente (Marques et al., 2013). Grupos inteiros de flores podem ser atacados deixando toda a inflorescência com pétalas de coloração laranja a amarronzada (Timmer e Peres, 2015). Após a queda das pétalas, o fruto recém-formado apresenta coloração amarelo pálido e cai, mas para a maioria das variedades o cálice permanece retido ao ramo, o que diferencia a PFC da queda fisiológica de frutos (Timmer e 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 cinco dias (Agostini et al., 1992; Zulfiqar et al., 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 darão origem a novos conídios, responsáveis pelas infecções dos órgãos florais (Agostini e Timmer, 1994; Zulfiqar et al., 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 e 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 et al., 1996; Timmer e Peres, 2015).

Epidemias graves de PFC são relatadas quando períodos prolongados de chuva ocorrem em pomares de citros durante a floração (Timmer e Zitko, 1993). No entanto, como a disseminação dos conídios ocorre tipicamente por respingos de chuva, a capacidade desse patógeno de espalhar a longa distância é limitada (Bailey e Jeger, 1992).

2.4. Métodos de Controle

O controle da PFC fundamenta-se basicamente em pulverização de fungicidas nas fases iniciais de florescimento das plantas (Denham, 1979; Fagan, 1984b). No passado, Metil-benzimidazol-carbamato - (MBC) (benomyl, tiofanato metílico e carbendazim), inibidores de desmetilação de esteróis (DMI) (por exemplo, difenoconazol) e fungicidas de múltiplos locais (por exemplo, folpet) eram usados para controlar a Podridão Floral do Citrus (PFC) no Brasil (Goes et al., 2008, Peres et al., 2004a). Cintra (2009), verificou-se que os fungicidas benzimidazóis, assim como folpet e piraclostrobina quando aplicados em órgãos florais nos estádios ‘cabeça-de-fósforo’ e ‘cotonete’ não diferiram entre si, exibindo eficiência no controle do patógeno causal. Entretanto, nos anos seguintes, os fungicidas benzimidazóis e folpet foram excluídos da lista PIC (Produção Integrada de Citros – Citros Brasil) (<http://www.citrusbr.com/download/ProteCitrusPT-31.01.20.pdf>).

No Brasil e em diversos países da América do Sul e América do Norte o controle da PFC é feito mediante pulverizações com fungicidas triazóis, responsáveis pelos inibidores da desmetilação (DMI), associados com fungicidas inibidores da quinona externa (QoI), que correspondem às estrobilurinas (Silva-Junior et al., 2014). Os fungicidas DMI impactam negativamente no núcleo de síntese de ergosterol, um importante componente da membrana plasmática de fungos, com consequente extravasamento do protoplasma celular (Juliatti, 2005). Fungicidas do grupo das estrobilurinas atuam na cadeia de transporte de elétrons, prejudicando o metabolismo energético dos fungos atingidos (Bortolini e Gheller, 2012).

O controle da PFC deve ser realizado mediante aplicações preventivas de fungicidas a partir das fases iniciais de florescimento das plantas, no estágio R1, estendendo-se até R6 (Cintra, 2009). Em áreas com histórico da doença, quando da

ocorrência de condições favoráveis ao desenvolvimento dos sintomas, deverão ser realizadas aplicações que possibilitem boa proteção da florada.

Associado à PFC, no estado de São Paulo, é relativamente comum a ocorrência da pinta preta dos frutos, cujo controle deve ser alicerçado principalmente no uso de fungicidas do grupo das estrobilurinas, praticamente o único grupo disponível para o controle do patógeno, *P. citricarpa*. Dessa feita, coincidentemente este grupo de fungicida é utilizado no controle de ambos os grupos de agentes causais, elevando significativamente o nível de exposição patógenos-fungicidas, aumentando a vulnerabilidade à seleção de linhagens resistentes dos patógenos (Brent e Hollomon, 2007). Pese-se ao apontado o fato de que, devido ao potencial destrutivo da PFC, o uso de fungicidas é por vezes realizados desnecessariamente, ampliando os riscos apontados. Acresce-se, ainda, que dado a elevada distribuição geográfica de inóculo dos agentes causais, associado à falta de descontinuidade espaço-temporal de pomares cítricos, e à falta de opções de produtos químicos que pudessem viabilizar a redução do número de aplicações, e consequente rodízio de grupos químicos, como indicado para o manejo da resistência (Brent e Hollomon, 2007), o nível de exposição vem sendo mantido elevado, muito embora em momentos estratégicos seja preconizado o uso de fungicidas cúpricos. A resistência de patógenos ao fungicidas tornou-se uma preocupação recorrente devido à substituição de fungicidas múltiplo-sítio (Folpet) para fungicidas de sitio-específico (MBC, QoI e DMI). Uma vez fungicida que a resistência é estabelecida, põe em risco o controle eficiente das doenças das plantas (Brent e Hollomon, 2007). Embora indivíduos resistentes consistam em uma pequena porcentagem do total inicial de uma população de patógenos, essa porcentagem pode aumentar quando isolados sensíveis são eliminados por aplicações de fungicidas (Brent e Hollomon, 2007; Ma e Michailides, 2005).

Estratégias de gerenciamento anti resistência podem ser adotadas para reduzir a seleção pressão por resistência (Brent e Hollomon, 2007). Isso inclui restringir as aplicações de fungicidas nos períodos críticos de infecção por patógenos, usando diferentes ingredientes ativos com modos de ações distintos em misturas ou em alternância e monitoramento da sensibilidade a fungicidas em populações de patógenos no campo (Dekker, 1982; Leadbeater et al., 2019).

A estratégias de alternar fungicidas ou usar misturas para controlar o PFC foram adotadas em Brasil nas últimas duas décadas, com o intuito de não estabelecer uma resistência. Não há relatos de resistência prática a fungicidas, no entanto, surtos de PFC foram observados em estações favoráveis, mesmo quando esses controles estratégias foram adotadas. Portanto, a eficácia de tais estratégias para reduzir a seleção de isolados resistentes de *C. acutatum* ao longo dos anos é desconhecida. (Gama et al., 2020).

2.4.1. Triazóis

Os fungicidas pertencentes a esse grupo são orgânicos, formados pela adição de diferentes radicais a uma molécula de 1,2,4-triazol. À exceção do bitertanol, os fungicidas deste grupo são sistêmicos, absorvidos e translocados pela planta de forma acropetal. A depender da aplicação, podem atuar como protetores ou curativos. Apresentam elevada fungitoxicidade, rápida penetração e translocação nos tecidos vegetais. Possuem ação curativa e elevado poder residual. Agem, também, como protetores, com ação tóxica à germinação dos esporos e à formação do tubo germinativo e do apressório. Entretanto, esta proteção é parcial, já que o patógeno pode penetrar em tecidos tratados. Como curativo, ocorre a inibição do desenvolvimento do haustório e/ou do crescimento micelial, no interior do tecido do hospedeiro (Ehr e Kemmitt, 2002; Forcelini, 1994).

Os triazóis são fungicidas que agem inibindo a biossíntese de ergosterol pela inibição da desmetilação do carbono na posição 14 (C14). As células fúngicas quando entram em contato com fungicidas desse grupo acumulam esteróis, como o 4,4-dimetil e o 4 α -metil, ambos com radical 14 α -metil, promovendo, por sua vez, a inativação do processo de desmetilação do lanosterol, até compostos intermediários, precursores do ergosterol. Este fato deve-se à ocupação pelo fungicida de sítios ativos destinados à ligação da enzima 14 α -demetilase ao citocromo P-450, catalisador da reação de oxidação de 14 α -metil até 14 α -hidroximetil, primeiro passo no processo de demetilação. A ausência do ergosterol e o aumento de compostos intermediários promovem uma desorganização da estrutura celular, induzindo a formação de membranas alternativas. A adição de ergosterol nestas células não reverte o

processo, visto que as posições a ele destinadas são ocupadas por outros esteróis. Com doses elevadas de fungicida, observa-se dano direto sobre a membrana assim como alterações morfológicas. Estas alterações se caracterizam por inchamento das células, vacuolização excessiva, septação incompleta, aparecimento de vesículas entre a membrana e a parede celular e a formação de inclusões membranosas (Forcelini, 1994; Tomlin, 2002).

Com relação ao desenvolvimento de resistência pelos fungos a esse grupo, é necessário considerar que existe uma grande diferença no espectro de ação dos diferentes fungicidas deste grupo. Existem relatos de resistência conhecida em várias espécies de fungos. Assim, é prudente considerar que a resistência cruzada pode ocorrer entre ativos dos fungicidas inibidores de desmetilação (DMI) utilizados contra o mesmo fungo (Rodrigues, 2006), como foi o caso da constante exposição destes fungicidas à *P. pachyrhizi*. Tal fato, portanto, a considerar os fatos de que os citros são hospedeiros perenes, existe baixa variabilidade genética entre os materiais genéticos adotados, conta-se, às vezes, com longos períodos de suscetibilidade dos tecidos vegetais, e à existência de condições favoráveis a diversos patógenos naturalmente expostos quando do seu uso nos pomares, existe a possibilidade da seleção de linhagens de fungos resistentes, o que culminaria no comprometimento das ferramentas disponíveis, com consequente prejuízos.

Dentre os fungicidas registrados para a cultura dos citros, no Brasil, tem-se o difenoconazole e o tebuconazole (MAPA, 2021).

2.4.2. Estrobilurinas

As estrobilurinas foram biossintetizadas a partir de um metabólito secundário produzido pelo fungo *Strobilurus tenacellus* e, por isso, são assim chamadas. Este grupo começou a ser comercializado como fungicida em 1996, sendo amplamente usado de forma isolada e em mistura com os triazóis (Rodrigues, 2006).

As estrobilurinas agem inibindo a respiração mitocondrial, bloqueando a transferência de elétrons entre o citocromo *b* e o citocromo *c*₁, no sítio Q_o, interferindo na produção de ATP. O ciclo da coenzima Q (CoQ) ocorre em duas etapas: na primeira, sua forma reduzida ubiquinol (QH₂) libera dois H⁺ e um elétron, que passa

para um centro ferro-enxofre (Fe-S), gerando semiquinona ($Q^{\cdot-}$). Este elétron flui do Fe-S para o citocromo c_1 , que o encaminha ao complexo IV, através do citocromo c solúvel. $Q^{\cdot-}$ transfere seu elétron para o citocromo b_{566} , formando CoQ, que migra para o lado da MMI voltado para a matriz. O citocromo b_{566} transfere o elétron para b_{560} que, por sua vez, o devolve à coenzima Q, regenerando $Q^{\cdot-}$. Na segunda etapa uma nova molécula de QH_2 chega ao complexo III, o mesmo processo se repete até a liberação da CoQ. O elétron que permanece no complexo III reage com a $Q^{\cdot-}$ do ciclo anterior e 2 H^+ da matriz, regenerando QH_2 . O ciclo ocorre na forma de dismutação, em que duas moléculas de QH_2 são transformadas em Q e QH_2 , tendo $Q^{\cdot-}$ como intermediária. Deste modo, a CoQ existe em três formas: QH_2 , Q e $Q^{\cdot-}$, sendo as duas primeiras solúveis, podendo se moverem através da membrana, e a última não lipossúvel fica imóvel, presa próximo à fase aquosa da matriz (Oliveira, 2016).

Os inibidores da ubiquinona bloqueiam sua redução pelo citocromo b nas duas etapas, impedindo desta forma esta reação (Gutierrez-Cirlos e Trumpower, 2002). A seletividade das estrobilurinas não parece estar baseada nas diferenças de sítios mitocondriais dos organismos alvos, mas sim sobre diferenças estruturais de membranas celulares na penetração e degradação de fungos vegetais e animais. O ingrediente ativo atua em doses que não atingem as mitocôndrias em células de plantas e animais, evitando riscos ao meio ambiente e a saúde (Venancio et al., 1999).

Os fungicidas deste grupo atuam preventivamente, inibindo a germinação dos esporos, com alguma ação curativa e erradicante, inibindo também o desenvolvimento de fungos nos estágios iniciais de pós-germinação, com atividade antiesporulante. As moléculas são absorvidas pelas folhas de forma gradual e constante, conferindo uma proteção por mais tempo e difundindo-se pela folha. As moléculas deste grupo apresentam difusão translaminar. São eficientes contra um grande número de fitopatógenos, em todas as classes de fungos, a baixas concentrações, permitindo um maior intervalo entre as aplicações (Venancio et al., 1999).

A resistência de fungos à estrobilurina é conhecida em várias espécies de fungos. Os sítios alvo para mutação são G143A (substituição de guanina por adenina na posição 143) e F129L (fenilalanina por leucina na posição 129) (Pasche et al., 2005), e existem ainda mecanismos adicionais como a rota alternativa na respiração

mitocondrial. A oxidase alternativa catalisa uma redução de quatro elétrons do oxigênio para a água e é especificamente inibida por vários compostos. Quando os elétrons passam para a rota alternativa a partir da ubiquinona, dois sítios de conservação de energia (complexo III e IV) são desviados, e não há formação de ATP. Não há sítio de conservação de energia na rota alternativa entre a ubiquinona e o oxigênio, a energia que seria armazenada na forma de ATP (Trifosfato de Adenosina) é perdida por calor quando os elétrons são desviados a partir da rota alternativa (Rodrigues, 2006).

Dentre os fungicidas registrados para a cultura dos citros, no Brasil, encontram-se a azoxistrobina, piraclostrobina e trifloxistrobina (MAPA, 2021).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia, do Departamento de Ciências da Produção Agrícola, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Campus de Jaboticabal.

3.1. Obtenção dos isolados

Os isolados das espécies de *Colletotrichum* spp. foram obtidos de folhas e flores cítricas assintomáticas, frutos cítricos sintomáticos e assintomáticos, e flores com sintomas da podridão floral dos citros, de cinco municípios (Tabela 1), localizados no estado de São Paulo.

Tabela 1. Localidade, hospedeiro, variedade de laranja doce, tecido vegetal, sintoma e identificação dos isolados de *Colletotrichum* utilizados neste estudo.

Município	Variedade	Tecido Vegetal	Sintoma ¹	Sigla ²	Espécies ³
Olímpia (O)	Valência	Folha	A	OO1.11	Glo
		Flores	A	OO2.9	Abs
		Fruto	S	OO3.20	Glo
Santa Cruz do Rio Pardo (S)	Pera	Flores	A	SO2.6	Glo
Matão (M)	Valência	Folhas	A	MON1.5	Glo
	Lima Verde	Fruto	A	TO1.3.6	Glo
Taquaritinga (T)	Folha Murcha	Fruto	A	TO2.3.10	K
				TO2.3.11	Glo
Bebedouro (B)	Natal	Folha	A	BO1.5	K

¹ A (tecido assintomático) e S (tecido sintomático).

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

³Espécies de *Colletotrichum* (Abs: *C. abscissum*; Glo: *C. gloeosporioides* stricto sensu e K: *C. karstii*).

Para isolamento de *Colletotrichum*, fragmentos de tecidos vegetais, sintomáticos e assintomáticos, com cerca de 5 mm 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 meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA), contido em placas de Petri, 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, a colônia foi recoberta com óleo mineral estéril para a paralisação do metabolismo e preservação das culturas.

A taxonomia dos isolados utilizados nesse trabalho foi determinada previamente por Carboni (2018), sendo caracterizado por *C. gloeosporioides* sensu stricto, *C. abscissum* e *C. karstii*, empregando análises de sequência multilocus.

3.2. Avaliação da inibição micelial das espécies de *Colletotrichum* a fungicidas

Os fungicidas utilizados foram tebuconazol (Tebufort BR 200 EC® UPL – Campinas, SP), difenoconazol (Score 250 EC® Syngenta – São Paulo, SP), trifloxistrobina + tebuconazol (Nativo 200 SC® Bayer S.A. – São Paulo, SP), e azoxistrobina + difenoconazol (Priori Top 200 SC® Syngenta – São Paulo, SP). Tebuconazol e difenoconazol são pertencentes ao grupo dos inibidores da desmetilação (DMI), e as trifloxistrobina e azoxistrobina são pertencentes ao grupo inibidores de quinona externa (QoI) (Frac, 2016). Para o preparo do meio de cultura com fungicida foi adotada metodologia semelhante à descritas por Fischer et al. (2012) e Espinoza-Altamirano et al. (2017). Para tal, uma alíquota do ingrediente ativo difenoconazol foi previamente diluída em água destilada estéril (1:10), e a partir desta, uma solução estoque de $125.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi preparada. Os demais ingredientes ativos foram diluídos em água destilada estéril (1:10), e a partir desta, uma solução estoque de $100.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi preparada. Posteriormente, foram realizadas diluições para a obtenção das concentrações 0,01; 0,10; 1; 10 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ para os fungicidas.

A suspensão e/ou solução dos fungicidas foram adicionadas ao meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) fundente (45-50 °C), sendo levemente agitados para a sua mistura e homogeneização, e posteriormente vertidos 20 mL em cada placa de Petri. Após 24 horas, discos de colônias (5 mm), obtidos da periferia de colônias com crescimento ativo foram removidos e justapostos na superfície de meio de cultura BDA, com fungicidas. Posteriormente, as culturas foram incubadas em estufa do tipo BOD a 25 °C ± 1 °C, e fotoperíodo de 12 h, por um período de seis dias.

O delineamento experimental adotado foi o de bloco inteiramente casualizados (DIC), em esquema fatorial de 9x4x5, correspondente a nove isolados (*Colletotrichum* spp.), com quatro fungicidas e cinco concentrações dos fungicidas (0,01; 0,10; 1; 10 e 100 µg mL⁻¹), e testemunha (crescimento micelial somente em meio BDA), em três repetições, para cada fungicida. A avaliação foi realizada com base na determinação do efeito inibitório dos fungicidas no tamanho das colônias.

A inibição do tamanho das colônias foi determinada mediante mensuração do crescimento micelial, em dois sentidos perpendiculares entre si. A partir dos dados do diâmetro das colônias foi determinada a porcentagem de inibição de crescimento (PIC), comparando-se o diâmetro médio, em centímetros, entre as colônias nos tratamentos com fungicida e a testemunha, após seis dias de incubação (Edgington et al., 1971):

$$PIC = \left(\frac{\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro da testemunha}} \right) .100$$

Para análise de variância foi adotada programa AgroEstat (Barbosa e Maldonato-Junior, 2015). Posteriormente, as médias dos tratamentos foram separadas pelo método Scott-Knott em nível de 5 % de probabilidade. Os dados do crescimento micelial foram previamente transformados em x+k, sendo k = 0,5, e quando significativos foi realizada, a análise de regressão.

O índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) foi determinado pela equação descrita por Oliveira (1991):

$$IVCM = \sum \frac{(D - D_a)}{N}$$

Onde: D: diâmetro médio atual da colônia;

Da: diâmetro médio atual da colônia do dia anterior e

N: número de dias após a inoculação

A CE₅₀ (concentração efetiva para inibição do crescimento micelial em 50%) foi determinada por meio das médias de inibição do crescimento micelial e o logaritmo da concentração do fungicida. Para classificação do nível de sensibilidade dos isolados foi adotada escala semelhante a empregada por Joshi et al. (2013), em que os padrões de sensibilidade foram estabelecidos conforme:

< 100 µg mL ⁻¹	Altamente Sensível	AS
101 ≥ 200 µg mL ⁻¹	Sensível	S
201 ≥ 300 µg mL ⁻¹	Moderadamente Insensível	MI
301 ≥ 400 µg mL ⁻¹	Insensível	I
> 400 µg mL ⁻¹	Altamente Ansensível	AI

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espécie de *Colletotrichum gloeosporioides*, segundo o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), obteve um maior crescimento quando comparada com as espécies *C. karstii* e *C. abscissum* (Figura 1),

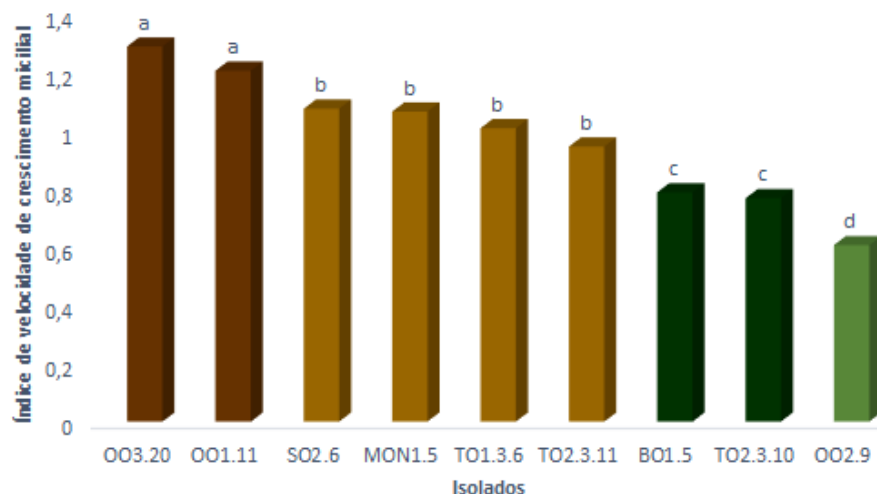


Figura 1. Índice de crescimento micelial das espécies de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum karstii* e *Colletotrichum abscissum*.

Com base na porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC), foi constatado que com exceção de um dos isolados de *C. karstii* (TO2.3.10), todos os demais isolados de *C. gloeosporioides*, *C. abscissum* e *C. karstii* foram inibidos quando expostos a meio de cultura contendo tebuconazol a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 2).

Os isolados TO2.3.10 e BO1.5, correspondentes ao *Colletotrichum karstii*, apresentaram inibição do crescimento micelial a partir das concentrações de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Tais resultados mostraram-se convergentes a os obtidos por Oliveira (2018), o qual observou que isolados de *C. karstii* foram totalmente inibidos a $5 \mu\text{g mL}^{-1}$, sendo, pois, a dosagem efetiva do crescimento micelial.

Tabela 2. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de isolados *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum abscissum* e *Colletotrichum karstii* em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do fungicida tebuconazol *in vitro*.

Espécies ¹	Isolados	Tebuconazol ($\mu\text{g mL}^{-1}$)				
		0,01	0,10	1,0	10	100
Glo	OO1.11	5,109 aC	4,024 aD	7,779 aB	8,941 aA	9,673 aA
Abs	OO2.9	2,481 bC	1,769 cC	7,832 aB	9,078 aA	9,078 aA
Glo	OO3.20	2,943 bD	4,838 aC	6,939 bB	8,994 aA	9,488 aA
Glo	SO2.6	2,439 bC	3,211 bC	7,062 bB	8,720 aA	9,648 aA
Glo	MON1.5	1,985 cC	1,796 cC	7,486 aB	9,006 aA	9,630 aA
Glo	TO1.3.6	2,790 bC	3,572 bC	7,698 aB	9,410 aA	9,668 aA
K	TO2.3.10	1,434 cC	2,943 bB	8,453 aA	9,164 aA	9,518 aA
Glo	TO2.3.11	1,521 cD	4,103 aC	7,037 bB	8,531 aA	9,056 aA
K	BO1.5	1,485 cD	3,499 bC	7,781 aB	8,964 aA	9,500 aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

¹ Espécies de *Colletotrichum* (Abs: *C. abscissum*; Glo: *C. gloeosporioides* stricto sensu e K: *C. karstii*).

Em relação a difenoconazol, foram constatados dois grupos de isolados de *Colletotrichum* spp., sendo um deles inibidos a $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ e um segundo, onde inibição deu-se a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. No primeiro grupo incluiu-se os isolados OO2.9, MON1.5, TO1,3,6 e TO2.3.10 e no segundo OO1.11, OO3.20, SO2.6, TO2.3.11 e BO1.5 (Tabela 3). Dos quatro isolados pertencentes ao grupo 1, observou-se que apenas o isolado OO2.9, correspondente ao *Colletotrichum abscissum*, apresentou inibição micelial na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, confirmando a eficiência deste ingrediente ativo em baixas concentrações.

Tabela 3. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de isolados *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum abscissum* e *Colletotrichum karstii* em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do fungicida difenoconazol *in vitro*.

Espécies ¹	Isolados	Difenoconazol ($\mu\text{g mL}^{-1}$)				
		0,01	0,10	1,0	10	100
Glo	OO1.11	3,170 cE	6,499 cD	7,949 bC	9,004 aB	9,727 aA
Abs	OO2.9	5,649 aC	8,277 aB	9,306 aA	9,515 aA	9,533 aA
Glo	OO3.20	3,136 cE	6,014 dD	7,612 bC	8,466 bA	9,543 aA
Glo	SO2.6	2,863 cE	6,266 cD	7,811 bC	8,721 bB	9,220 aA
Glo	MON1.5	3,294 cD	6,284 cC	7,679 bB	9,032 aA	9,252 aA
Glo	TO1.3.6	3,400 cD	5,590 dC	8,177 bB	9,225 aA	9,680 aA
K	TO2.3.10	4,284 bD	6,040 dC	7,951 bB	9,205 aA	9,560 aA
Glo	TO2.3.11	4,199 bD	7,097 bC	7,540 bC	8,811 bB	9,669 aA
K	BO1.5	4,118 bE	6,617 cD	7,563 bC	8,827 bB	9,557 aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

¹ Espécies de *Colletotrichum* (Abs: *C. abscissum*; Glo: *C. gloeosporioides* stricto sensu e K: *C. karstii*).

Com relação a mistura (trifloxistrobina + tebuconazol), 56% dos isolados *Colletotrichum* spp. foram inibidos quando exposto a concentração de 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os demais isolados, foram inibidos a concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 4). Os isolados pertencentes à espécie *C. gloeosporioides* (OO1.11, OO3.20, SO2.6 e TO2.3.11), 67% apresentaram inibição micelial na concentração 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Lopes (2015) trabalhando com isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, provenientes de caqui, iuca e antúrio, demonstrou que a combinação dos fungicidas trifloxistrobina + tebuconazol resultou em uma inibição do crescimento micelial diretamente proporcional à dosagem. O uso da mistura trifloxistrobina + tebuconazol é comumente adotado pelos produtores brasileiros, e se mostrou mais eficiente que o carbendazim no controle da PFC (Silva-Junior et al., 2014), produto que era considerado de elevada eficiência no controle da doença.

Tabela 4. Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de isolados *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum abscissum* e *Colletotrichum karstii* em diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do fungicida trifloxistrobina + tebuconazol *in vitro*.

Especies ¹	Isolados	Trifloxistrobina + Tebuconazol ($\mu\text{g mL}^{-1}$)				
		0,01	0,10	1,0	10	100
Glo	OO1.11	6,489 aD	7,908 aC	8,888 bB	8,784 bB	9,369 aA
Abs	OO2.9	6,305 aC	8,021 aB	9,078 aA	9,078 bA	9,078 aA
Glo	OO3.20	6,433 aD	7,375 bC	8,510 bB	8,588 bB	9,298 aA
Glo	SO2.6	4,582 cD	7,183 bC	8,505 bB	8,388 bB	9,203 aA
Glo	MON1.5	5,565 bC	8,116 aB	9,427 aA	9,630 aA	9,630 aA
Glo	TO1.3.6	6,601 aC	8,157 aB	9,310 aA	9,372 aA	9,668 aA
K	TO2.3.10	5,672 bC	8,530 aB	9,518 aA	9,518 aA	9,518 aA
Glo	TO2.3.11	3,715 dC	7,013 bB	8,587 bA	8,643 bA	9,056 aA
K	BO1.5	5,703 bC	7,826 aB	9,002 aA	8,983 bA	9,500 aA

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na coluna e minúscula na linha, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

¹ Espécies de *Colletotrichum* (Abs: *C. abscissum*; Glo: *C. gloeosporioides* stricto sensu e K: *C. karstii*).

Não foi constatada interação significativa entre as concentrações da mistura azoxistrobina + difenoconazol e os isolados, pelo teste de Scott & Knott (dados não mostrados).

O R^2 das regressões tiveram resultados satisfatórios, acima de 0,70 o que implica em uma regressão acurada (Tabela 5 e Figuras 2 a 4). Os demais gráficos utilizados na estimativa de R^2 aparecem nos Anexos 1 a 3.

Tabela 5. Equações de regressão, R^2 , CE_{50} e sensibilidade de isolados *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum abscissum* e *Colletotrichum karstii* associados à sintomas de podridão floral dos citros expostos a diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos fungicida.

Isolados	Equações, valores de R^2 , CE_{50} e resposta quanto à Sensibilidade											
	Tebuconazol				Difenoconazol				Trifloxistrobina + Tebucconazol			
	Equação de regressão	R^2	CE_{50}^*	Sensib.**	Equação de regressão	R^2	CE_{50}^*	Sensib.**	Equação de regressão	R^2	CE_{50}^*	Sensib.**
OO1.11	$y = -1,4217x + 3,2433$	0,887	1,483	AS	$y = -1,7867x + 3,61$	0,9696	0,7	AS	$y = -0,7483x + 2,2033$	0,8807	1,522	AS
OO2.9	$y = -0,6383x + 1,4733$	0,852	1,607	AS	$y = -0,4583x + 1,0233$	0,7192	0,35	AS	$y = -0,2833x + 0,8333$	0,7605	1	AS
OO3.20	$y = -1,6467x + 3,76$	0,975	1,578	AS	$y = -1,6833x + 4,0033$	0,9879	1,23	AS	$y = -0,8183x + 2,6033$	0,9519	3,038	AS
SO2.6	$y = -1,5917x + 3,5567$	0,969	1,736	AS	$y = -1,4133x + 3,46$	0,9515	1,06	AS	$y = -0,9833x + 2,73$	0,8688	1,137	AS
MON1.5	$y = -1,6367x + 3,4067$	0,921	1,521	AS	$y = -1,3467x + 3,18$	0,9542	1,05	AS	$y = -0,97x + 1,6933$	0,7965	0,272	AS
TO1.3.6	$y = -1,7433x + 3,4067$	0,924	1,203	AS	$y = -1,6033x + 3,1467$	0,959	0,84	AS	$y = -0,8617x + 1,77$	0,8628	0,505	AS
TO2.3.10	$y = -1,2733x + 2,48$	0,877	0,993	AS	$y = -1,0533x + 2,2933$	0,9601	1,08	AS	$y = -0,68x + 1,27$	0,7062	0,214	AS
TO2.3.11	$y = -1,1217x + 2,9133$	0,971	2,072	AS	$y = -0,955x + 3,2733$	0,819	2,14	AS	$y = -0,84x + 2,18$	0,8395	0,825	AS
BO1.5	$y = -1,1917x + 2,5067$	0,938	1,228	AS	$y = -0,9083x + 2,0833$	0,9801	2,08	AS	$y = -0,6583x + 1,53$	0,8571	0,638	AS

* CE_{50} = Concentração mínima necessária para inibição de 50% do crescimento de colônias.

**Classificação em função da CE_{50} , onde: $CE_{50} < 100 \mu\text{g mL}^{-1}$ - altamente sensível (AS); $101 \geq 200 \mu\text{g mL}^{-1}$ – sensível (S); $201 \geq 300 \mu\text{g mL}^{-1}$ - moderadamente insensível (MI); $301 \geq 400 \mu\text{g mL}^{-1}$ – insensível (I) e $> 400 \mu\text{g mL}^{-1}$ – altamente insensível (AI)

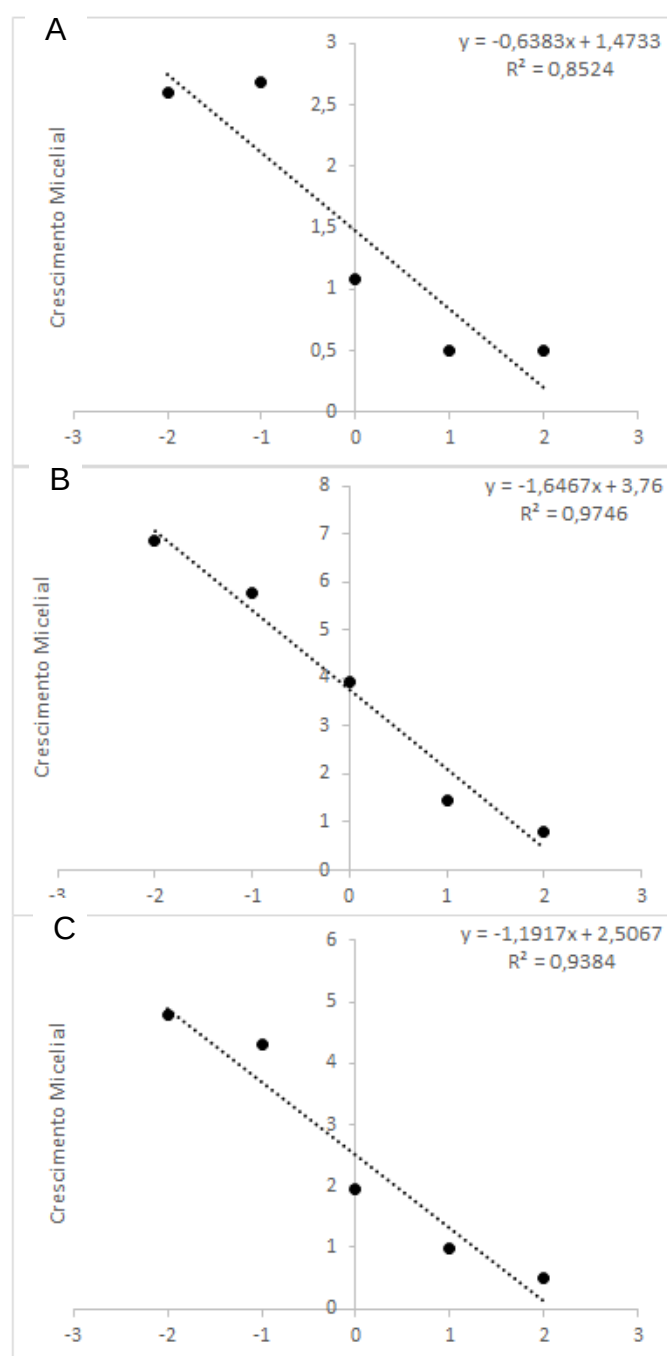


Figura 2. Inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum abscissum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida tebuconazol com os isolados OO2.9 (*C. abscissum*) (A), OO3.20 (*C. gloeosporioides*) (B) e BO1.5 (*C. karstii*) (C).

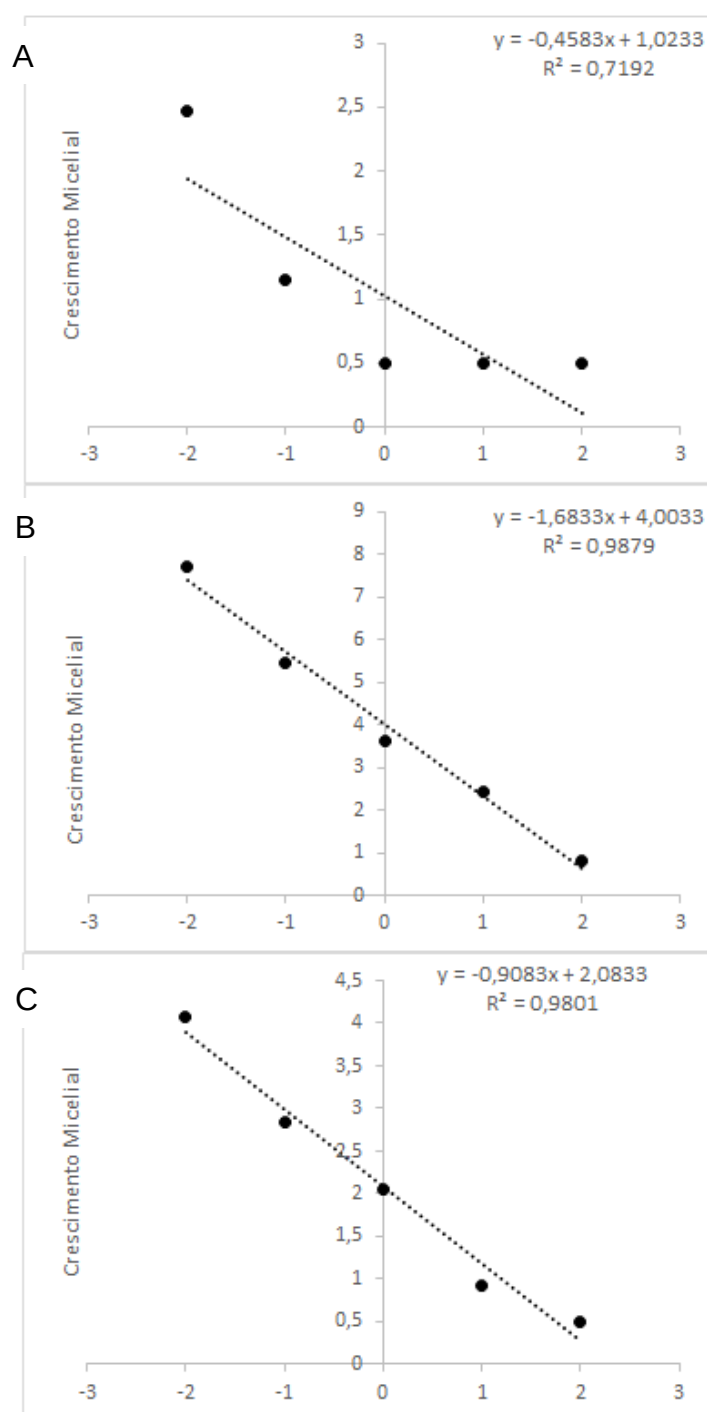


Figura 3. Inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum abscissum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida difenoconazol com os isolados OO2.9 (*C. abscissum*) (A), OO3.20 (*C. gloeosporioides*) (B) e BO1 (*C. karstii*) (C).

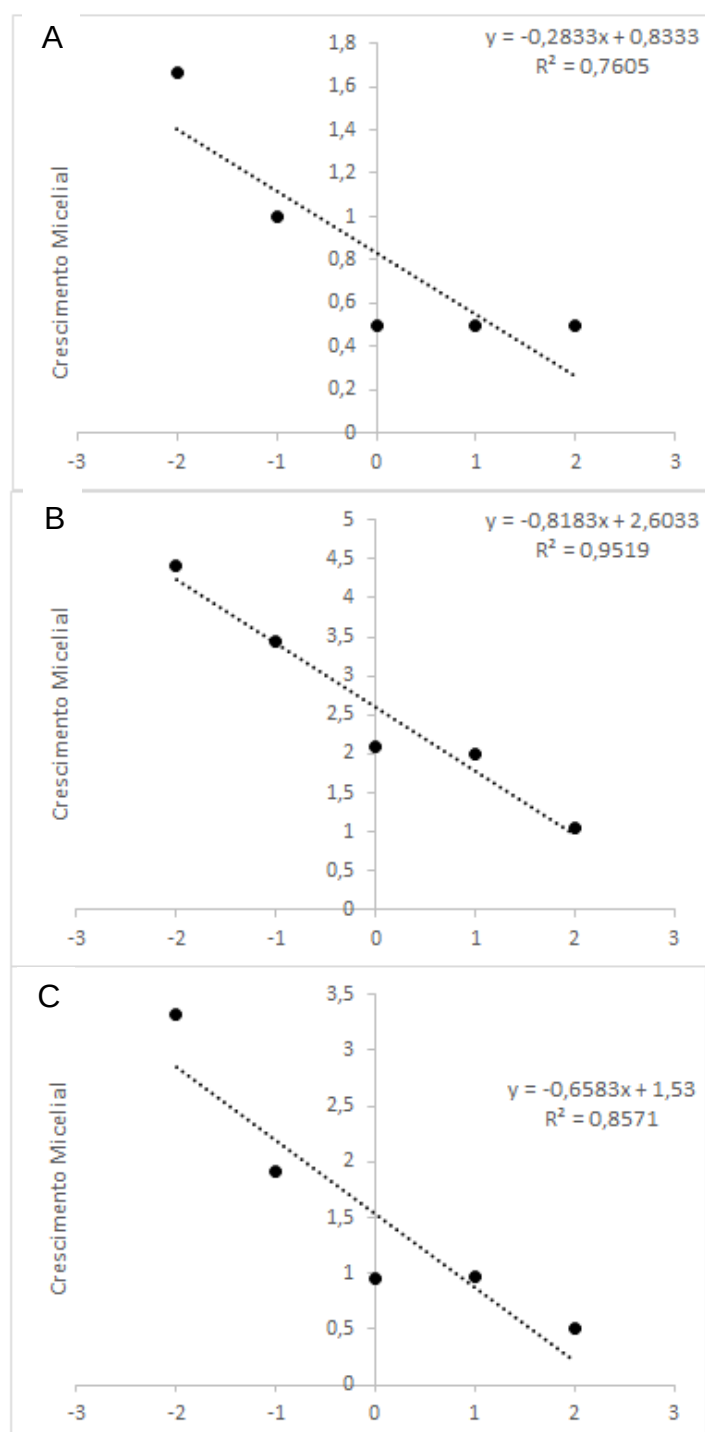


Figura 4. Inibição micelial dos isolados de *Colletotrichum abscissum*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida trifloxistrobina + tebuconazol com os isolados OO2.9 (*C. abscissum*) (A), OO3.20 (*C. gloeosporioides*) (B) e BO1.5 (*C. karstii*) (C).

De acordo com a CE_{50} (concentração efetiva para inibição do crescimento micelial em 50%), *C. karstii* se enquadrou na classificação como altamente sensível, com médias de $1,110 \mu\text{g mL}^{-1}$, $1,581 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,426 \mu\text{g mL}^{-1}$ para os fungicidas tebuconazol, difenoconazol e trifloxistrobina + tebuconazol, respectivamente (Tabela 5). Observou que a CE_{50} variou de $0,21 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,63 \mu\text{g mL}^{-1}$, para os isolados TO2.3.10 e BO1.5, respectivamente para o fungicida trifloxistrobina + tebuconazol. Resultados semelhantes foram encontrados para isolados de *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*, em citros, sensíveis a Qols, inibindo de forma efetiva o crescimento do patógeno *in vitro* (Gama, 2017). Na cultura do morangueiro, estudo semelhante foi encontrado para isolados de *C. acutatum* sensíveis a Qols, na qual a CE_{50} foi de $0,22 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Forcelini et al., 2016). Já para a espécie *C. karstii*, um estudo realizado com pinha e graviola mostrou variação na CE_{50} , para os fungicidas azoxistrobina, tebuconazol, difenoconazol e azoxistrobina + difenoconazol com valores de $0,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0,0353 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0,0366 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,0072 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, sendo altamente sensíveis e convergentes com este estudo.

De acordo com os valores de CE_{50} obtidos para a espécie *C. abscissum*, enquadrou como altamente sensível aos fungicidas tebuconazol, difenoconazol e trifloxistrobina + tebuconazol, com valores $1,607 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0,348 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (Tabela 5). Gama (2017) comprovou a eficiência na sensibilidade do complexo *Colletotrichum acutatum*, causadores da podridão floral dos citros, ao fungicida tebuconazol.

Os valores de CE_{50} obtidos para os isolados pertencentes a espécie *C. gloeosporioides*, permitiu enquadrá-los como altamente sensíveis a todos os fungicidas, indicando que houve uniformidade na sensibilidade dos isolados. No meio de cultura com adição de tebuconazol, a CE_{50} média, mínima e máxima de todos os isolados foi de $1,598$, $1,203$ e $2,072 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente. Tavares e Souza (2005) em testes *in vitro* com tebuconazol, observaram a inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em plantas de citros da variedade Natal. Resultados semelhantes foram registrados para *Colletotrichum gloeosporioides* em citros (Goes, 1995) e em mamão (Tavares e Souza, 2005). Para a mistura de trifloxistrobina + tebuconazol a CE_{50} média, mínima e máxima

de todos os isolados foi de 1,216, 0,272 e 3,038 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (Tabela 5), classificando os isolados como altamente sensíveis.

Rinaldo (2010) testou a combinação do fungicida trifloxistrobina + tebuconazol aplicando no florescimento das plantas cítricas, onde mostrou-se que o tratamento foi eficiente no controle da PFC.

Estudo realizado por Mendonça (2014) mostrou que formulações comerciais resultantes das misturas de fungicidas do grupo das estrobilurinas e triazóis, quando aplicados preventivamente em plantas de citros, a partir das fases iniciais de florescimento, estendendo-se até a queda das pétalas, são eficientes no controle de *C. acutatum* e *C. gloeosporioides*, agentes causais da PFC, com reflexos positivos em aumento da produção. A mistura trifloxistrobina + tebuconazol é utilizada para o controle de outras doenças, em um estudo realizado por Galli (2003), o fungicida foi eficiente para o controle da pinta preta (*Phyllosticta citricarpa*) em citros em diferentes dosagens.

Em condições de campo, de um modo geral são necessárias diversas aplicações de fungicidas visando ao controle preventivo de PFC, cujos resultados são exitosos na maioria das situações. Entretanto, possíveis adversidades em termos de respostas aos tratamentos advêm mais apropriadamente às condições técnicas de uso dos fungicidas que, obviamente, à eficiência dos ingredientes ativos.

Para o caso do estado de São Paulo, o florescimento das plantas ocorre no período de primavera, após estresse resultante de horas acumuladas com temperatura inferior a 16 °C, ou por déficit hídrico. Todavia, na região sudoeste do estado, o florescimento às vezes se inicia em meses do inverno e, dado a temperatura mais amena, com média em torno de 18 °C, o período de florescimento mostra-se mais longo, estendendo por cerca de 90 dias. Nestes locais, devido tais condições ambientais, quando acompanhados por chuvas, são necessárias mais de uma dezena de aplicações de fungicidas e, mesmo nestas circunstâncias com prejuízos significativos.

Nos Brasil, o uso da mistura dos triazois e estrobilurinas vem sendo eficaz no ontrele dos patógenos associados a podridão floral do citros. No presente estudo observou-se que a mistura de trifloxistrobina + tebuconazol apresentou maior eficiência quando comparada aos triazois isoladamente. Segundo Gama

(2017), não foi encontrado isolados dos complexos *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* resistentes aos fungicidas DMIs ou a Qols. Entretanto, a utilização de ingredientes ativos aplicados em mistura pode ser uma ferramenta importante no manejo da resistência (Brent e Hollomon, 2007). Mesmo que haja a presença de populações resistentes a um dos fungicidas da mistura, o outro ingrediente ativo de modo de ação distinto pode ser suficiente para inibir o crescimento da população resistente (Fao, 2016).

Neste estudo, embora a eficiência de tebuconazol tenha sido evidenciada e comparável à sua combinação com fungicidas Qol, esta prática deve ser mantida uma vez que, ao lado da sua eficiência verificada em condições práticas, também se constitui em alternativa para a minimização dos riscos de perda de sensibilidade e seleção de linhagens de *Colletotrichum* resistentes aos fungicidas DMI e Qol.

5. CONCLUSÃO

In vitro, as espécies *C. abscissum*, *C. gloeosporioides* e *C. karstii* associadas a laranjeiras doces são altamente sensíveis aos fungicidas tebuconazol, difenoconazol e à formulação comercial de trifloxistrobina + tebuconazol;

A combinação trifloxistrobina + tebuconazol se mostrou mais eficiente que tebuconazol e difenoconazol avaliados isoladamente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abang MM, Winter S, Mignouna HD, Green KR, Asiedu R (2003) yMolecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. **African Journal of Biotechnology** 486-496.

Agostini JP, Timmer LW (1994) Population dynamics and survival of strains of *Colletotrichum gloeosporioides* on citrus in Florida. **Phytopathologym** 84:420-425.

Agostini JP, Timmer LW, Mitchell DJ (1992) Morphological and pathological characteristics of strains of *Colletotrichum gloeosporioides* from citrus. **Phytopathology** 82:1377-1382.

Aiello D, Carrieri R, Guarnaccia V, Vitale A, Lahoz E, Polizzi G (2015) Characterization and Pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. karstii* Causing Preharvest Disease on *Citrus sinensis* in Italy. **Journal of Phytopathology** 163:168-177.

Bailey JÁ, Jeger MJ (Ed.). (1992) *Colletotrichum: Biology, Pathology, and Control*. Wallingford: CAB International 388.

Barbosa AC, Schadeck RJG, Do Carmo AE, Graf IV, Tomás R, De Souza CF, Mendes J, Randi MAF, Buchi ID (2006) Morphology, lipid body and vacuole dynamics during secondary conidia formation in *colletotrichum acutatum*: laser scanning confocal analysis. **Canadian journal of microbiology** 52:117-124.

Barbosa JC, Maldonato Junior W (2015). Experimentação agrônômica e AgroEstat: sistemas para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal: **Gráfica Multipress Ltda** 396.

Bragança CA, Damm U, Baroncelli R, Júnior NSM, Crous PW (2016) Species of the *Colletotrichum acutatum* complex associated with anthracnose diseases of fruit in Brazil. **Fungal Biology** 120:547–561.

Brasil é o maior produtor e exportador de suco de laranja. **Citrus BR** (2019) Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/noticias/?id=312708>>. Acessado em: 15 de jul. 2020.

Brent KJ, Hollomon DW (2007) Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? FRAC Monograph 1. 2nd Ed. Brussels, **Crop Life International**, Brussels: 55.

Brown AE, Sreenivasaprasad S, Timmer LW (1996) Molecular characterization of slow-growing orange and Key lime anthracnose strains of *Colletotrichum* from citrus as *C. acutatum*. **Phytopathology** 86:523- 527.

Bortolini AMM, Gheller JÁ (2012) Aplicação de diferentes fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do milho em relação à produtividade. **Revista Brasileira de Energias Renováveis** 1:109-121.

Cannon PF, Damm U, Johnston PR, Weir BS (2012) *Colletotrichum* – current status and future directions. **Studies in Mycology** 73:181–213.

Carboni RCD (2018) **Complexos de espécies de *Colletotrichum* associados aos citros e a outras frutíferas no Brasil**.107f. Tese de Doutorado – Unesp, Jaboticabal.

Cintra GS (2009) **Podridão floral dos citros: variabilidade, sobrevivência e controle do agente causal, *colletotrichum acutatum***. 120f. Tese de Doutorado – Unesp, Jaboticabal.

Crouch JA, Beirn LA (2009) Anthracnose of cereals and grasses. **Fungal Diversity** 39:19–44.

Crous PW, Wingfield MJ, et al. (2015) Fungal Planet description sheets: 236-237. **Persoonia** 34:167-266.

Damm U, Cannon PF, Woudenberg JHC, Johnston PR, Weir BS, Tan YP, Shivas RG, Crous PW (2012b) The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology** 73:1–36.

Damm U, Cannon PF, Woudenberg JHC, Crous P W (2012a) The *Colletotrichum acutatum* species complex. **Studies in Mycology** 73:37–113.

Damm U, Woudenberg JHC, Cannon PF, Crous P W (2009) *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity** 39:45–87.

Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J, Foster GD (2012) The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology** 13:414 – 430.

Dekker J (1982) Countermeasures for avoiding fungicide resistance. In: Dekker, J., Georgopoulos, G. Fungicide Resistance in crop protection. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, Netherlands. 177-186.

Denham TG (1979) Citrus production and premature fruit drop disease in Belize. **Pans** 25:30-36.

Douanla-Meli C, Unger JG (2017) 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** 121:858-868.

Edgington LV, Knew KL, Barron GL (1971) Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology** 61:42-44.

Ehr RJ, Kemmitt G (2002) **Periodic table of the fungicides**. Indianapolis: Dow Agrosciences.

Erpen L, Muniz FR, Moraes TS, Tavano ECR (2018). Análise do cultivo da laranja no Estado de São Paulo de 2001 a 2015. **Revista iPecege** 4:33-43.

Espinoza-Altamirano D, Silva-Rojas HV, Leyva-Mir SG, Marbán-Mendoza N, Rebollar-Alviter A (2017) Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* isolates obtained from strawberry to thiophanate-methyl and azoxystrobin fungicides. **Revista Mexicana de Fitopatología** 35:186-203.

Fagan HJ (1979) Postbloom fruit drop, a new disease of citrus associated with a form of *Colletotrichum gloeosporioides*. **Annals of Applied Biology** 91:13–20.

Fagan HJ (1984a) Postbloom fruit drop of citrus in Belize: I. **Disease Epidemiology** 34:173-177.

Fagan HJ (1984b) Postbloom fruit drop of citrus in Belize: II. **Disease control by aerial and ground spraying** 34:179-186.

Fao: **Food and Agriculture Organization of The United Nations** (2017). Citrus Fruit - Fresh and Processed Statistical Bulletin 2016.

Farr D, Rossman AY (2017) **Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory**, ARS, USDA.

Feichtenberger E (1991) Queda dos frutos jovens de citros, doença induzida por uma raça virulenta do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. *Laranja* 12:513–521.

Feichtenberger E (1994) Podridão floral dos citros: histórico, sintomatologia, etiologia e epidemiologia. *Laranja* 15(2):109–128.

Fischer IH, Silva BL, Soares AR, Arruda MC, Parisi MCM, Amorim L (2012) Efeito de fungicidas e produtos alternativos no controle da antracnose e da pinta preta da goiaba. **Ciências Agrárias** 33:2753-276.

Forcelini BB, Seijo TE, Amiri A, Peres NA (2016) Resistance in Strawberry Isolates of *Colletotrichum acutatum* from Florida to Quinone Outside Inhibitor Fungicides. **Plant Disease** 100:2050-2056.

Forcelini CA (1994) **Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I. triazoles. RAPP** 2:335-355.

Fundecitrus. Reestimativa da safra de laranja 2020/21 do cinturão citrícola de são paulo e triângulo/sudoeste mineiro. Disponível em: <[https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/0221_Reestimativa_da_Safr a_de_Laranja.pdf](https://www.fundecitrus.com.br/pdf/pes_relatorios/0221_Reestimativa_da_Safr_a_de_Laranja.pdf)>. Acesso em: 14 de jan de 2020.

Fungicide resistance action committee (jo). FRAC code list (2016): fungicides sorted by mode of action (including FRAC code numbering) <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2016.pdf?sfvrsn=2.2016>.

Futch SH, Hebb JW, Sonoda RM (1989) Effect of removal of persistent calyxes from navel orange trees affected by postbloom fruit drop. **Florida State Horticultural Society** 4-5.

Galli MA, Paradelo AL, Dario GJA, Fonseca HB, Salvo S (2003) Avaliação de fungicidas no controle da pinta preta (*Phyllosticta citricarpa*) em citros (*Citrus sp.*) Var. Pêra. **Revista Ecosistema** 28:1-4.

Gama AB (2017) **Podridão floral dos citros: definição do limiar de ação para controle químico e monitoramento da sensibilidade de isolados a tebuconazol e trifloxistrobina**. 101f. Dissertação de Mestrado - USP, Piracicaba.

Gama AB, Baggio JS, Suginoshita CR, Lourenço AS, Gasparoto MCG, Silva-Junior GJ, Peres NA, Amorim L. (2020) Sensitivity of *Colletotrichum acutatum* isolates from citrus to carbendazim, difenoconazole, tebuconazole, and trifloxystrobin. **Plant Disease** 00:00-00.

Goes A, Kupper KC (2002) Controle das doenças causadas por fungos e bactérias na cultura dos citros L. Zambolim (Ed.), Manejo Integrado: Fruteiras Tropicais - Doenças e Pragas, Viçosa, Brasil 353-412.

Goes A (1995) **Queda prematura de *Citrus*: caracterização do agente causal, *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ [Senso ARX, 1957, e controle da doença]**. 16 f. Tese de Doutorado - USP, Piracicaba.

Goes A, Garrido RBO, Reis RF Baldassari RB, Soares MA (2008) Evaluation of fungicide applications to sweet orange at different flowering stages for control of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum*. **Crop Protection** 27:71-76.

Guarnaccia V, Groenewald JZ, Polizzi G, Crous PW (2017) High species diversity in *Colletotrichum* associated with citrus diseases in Europe. **Persoonia** 39:32–50.

Gutierrez-Cirlos EB, Trupower BL (2002) Inhibitory analogs of ubiquinol act anticooperatively on the yeast cytochrome bc1 complex. **The Journal of Biological Chemistry** 277:1195-202

Huang F, Chen GQ, Hou X, Fu YS, Cai L, Hyde KD, Li HY (2013) *Colletotrichum* species associated with cultivated citrus in China. **Fungal Diversity** 61:61–74.

Hunupolagama DM, Wijesundera RLC, Chandrasekharan NV, Wijesundera WS S, Kathriarachchi HS, Fernando THPS (2015) Characterization of *Colletotrichum* isolates causing avocado anthracnose and first report of *C. gigasporum* infecting avocado in Sri Lanka. **Plant Pathology & Quarantine** 5:132–143.

Hyde KD, Nilsson RH, et al. (2014) One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I. **Fungal Diversity** 67:21–125.

Hyde KD, Cai L, Cannon PF, Crouch JÁ, Crous PW, Damm U, Goodwin PH, Chen H, Johnston PR, Jones EBG, Liu ZY, Mckenzie EHC, Moriwaki J, Noireung P, Pennycook SR, Pfenning LH, Prihastuti H, Sato T, Shivas RG, Tan YP, Taylor PWJ, Weir BS, Yang YL, Zhang JZ (2009b) *Colletotrichum* - names in current use. **Fungal Diversity** 39:147–182.

Jayawardena RS, Hyde KD, et al. (2016b) Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. **Mycosphere** 7:1192–1260.

Jayawardena RS, Hyde KD, Jeewon R, Liu XH, Liu M, Yan JY (2016a) Why it is important to correctly name *Colletotrichum* species? **Mycosphere** 7: 1076–1092.

Joshi MS, Sawant DM, Gaikwad AP (2013) Variation in fungi toxicant sensitivity of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates infecting fruit crops. **ISABB Journal of Food and Agriculture Science** 3:6-8.

Juliatti FC (2021) Modo de ação dos fungicidas sobre plantas e fungos. Simpósio sobre Relação entre Nutrição Mineral e Incidência de Doença de Plantas [Internet], 2005. Disponível em: <[http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf/1c678d0ba742019483256e19004af5b8/4d4c7e5503f5a2c503256fdd004c4a8f/\\$FILE/Anais%20Fernando%20Juliatti.pdf](http://www.ipni.net/ppiweb/pbrazil.nsf/1c678d0ba742019483256e19004af5b8/4d4c7e5503f5a2c503256fdd004c4a8f/$FILE/Anais%20Fernando%20Juliatti.pdf)> Acesso em: 19 fev. de 2021.

Kunta M, Park JW, Vedasharan P, Dagraca J, Terry MD (2017) 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>.

Leadbeater A, Mcgrath M, Wyenandt CA, Stevenson KL (2019) An overview of fungicide resistance and resistance management: history and future trends. Page 12. In: **Fungicide resistance in North America**. Stevenson KL, McGrath MT, Wyenandt CA.

Lima WG, Spósito MB, Amorim L, Gonçalves FP, De Filho PAM (2011) *Colletotrichum gloeosporioides*, a new causal agent of citrus post-bloom fruit drop. **European Journal of Plant Pathology** 131:157-165.

Liu F, Wang M, Damm U, Crous PW, Cai L (2016b) Species boundaries in plant pathogenic fungi: a *Colletotrichum* case study. **BMC Evolutionary Biology** 16:1-14.

Lopes LNS, Silva AS, Pereira CCO, Menezes IPP, Malafaia G, Lima MLP (2015) Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal** 1:106-114.

Lopez AMQ, Lucas JA (2010) *Colletotrichum* Isolates Related to Anthracnose of Cashew Trees in Brazil: Morphological and Molecular Description Using LSU rDNA Sequences. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 53:741-752.

Ma Z, Michailides TJ (2005) Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. **Crop Prot.** 24:853-863.

Mackenzie SJ, Peres NA, Barquero MP, Arauz LF, Timmer LW (2009) Host range and genetic relatedness of *Colletotrichum acutatum* isolates from fruit crops and leatherleaf fern in Florida. **Phytopathology** 99:620-631.

Maharaj A, Rampersad SN (2012) 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** 50:237-249.

Marques JPR, Amorim L, Spósito MB, Appezzato-Da-Glória B (2013) Histopathology of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum* in citrus flowers. **European Journal of Plant Pathology** 135:783-790.

Mapa - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2021) Ingredientes ativos. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 18 fev. 2021.

Mendonça LBP (2014) **Podridão floral dos citros: controle preventivo mediante fungicidas, biorreguladores e fertilizantes químicos**. 67f. Dissertação de Mestrado – Unesp, Jaboticabal.

Moreno-Moran M, Burbano-Figuero (2017) O Dynamics of cotton ramulosis epidemics caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* in Colombia. **European Journal of Plant Pathology** 149:443-454.

Oliveira G (2016) Cadeia respiratória e fosforilação oxidativa – geração de ATP. 2016

Oliveira JA (1991) **Efeito do tombamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 111 f. Dissertação – UFLA, Lavras.

Oliveira MEFS (2018) **Sensibilidade de espécies de *Colletotrichum* a fungicidas e influência de períodos de permanência em câmara úmida sobre a severidade da antracnose em anonáceas**. 71f. Tese de Doutorado – UFAL, Rio Largo.

Pardo-De La Hoz CJ, Calderon C, Rincon AM, Cárdenas M, Daniesa G, López-Kleineb L, Restrepo S, Jiménez P (2016) Species from the *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum boninense* and *Colletotrichum gloeosporioides* species complexes associated with tree tomato and mango crops in Colombia. **Plant Pathology** 65:227-237.

Pasche JS, Piche LM, Gudmestad NC (2005) Effect of the F129L mutation in *Alternaria solani* on fungicides affecting mitochondrial respiration. **Plant Disease** 89:269-78.

Peng L, Yang Y L, Hyde KD, Bahkali AH, Liu ZY (2012) *Colletotrichum* species on Citrus leaves in Guizhou and Yunnan provinces, China. **Cryptogamie Mycologie** 33:267–283.

Peres NAR, Souza NL, Timmer LW (2000) Postbloom fruit drop in Brazil and Florida: occurrence and control by fungicides. In: Int Soc Citriculture, 9., Orlando. Proceedings... Orlando: International Society Citriculture 1051–1052.

Peres NA, Mackenzie SJ, Peever TL, Timmer LW (2008) Postbloom fruit drop of citrus and Key lime anthracnose are caused by distinct phylogenetic lineages of *Colletotrichum acutatum*. **Phytopathology** 98:345-352.

Peres NA, Timmer LW, Adaskaveg JE, Correll JC (2005) Life styles of *Colletotrichum acutatum*. **Plant Disease** 89:784–796.

Prusky D, Alkan N, Mengiste T, Fluhr R (2013) Quiescent and necrotrophic lifestyle choice during postharvest disease development. **Annual Review of Phytopathology** 51:155–176.

Peres NAR, Souza NL, Furtado EL, Timmer LW (2004a) Evaluation of systems for timing of fungicide sprays for control of postbloom fruit drop of citrus in Brazil. **Plant Disease**. 99:731-735.

Perfect SE, Hughes HB, O'connell RJ, Green JR (1999) *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology** 27:186 – 198.

Perrone G, Magistà D, Ismail, A M (2016) First report of *Colletotrichum kahawae* subsp. *ciggaro* on mandarin in Italy. **Journal of Plant Pathology** 98:12.

Pinto PM, Jacomino A. P (2013) The Postharvest of Tropical Fruits in Brazil. **Food Quality, Safety and Technology** 77-87.

Porto OM, Rossetti V, Dornelles CMM (1979) Queda de frutos jovens de citros, causada por *Colletotrichum* sp. no Rio Grande do Sul. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 5, Pelotas. Proceedings Pelotas: Sociedade Brasileira de fruticultura 681-692.

Ramos AP, Talhinhos P, Sreenivasaprasad S, Oliveira H (2016) 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** 44: 549-561.

Rinaldo D (2010) **Controle químico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos**. 45f. Dissertação de Mestrado – Unesp, Jaboticabal.

Rodrigues MAT (2006) **Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC**. 249f. Tese de Doutorado) – Unesp, Botucatu.

Rogério F, Ciampi-Guillardi M, Barbieri MC, Bragança CA, Seixas CD, Almeida AM, Massola Jr NS (2017) Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Journal of Applied Microbiology** 122:402-415.

Rossetti V, Carvalho MLV, Vechiato MH, Batista FAZ (1981) Estudos sobre a queda prematura de frutos cítricos. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 6, Recife. Anais Recife: Sociedade Brasileira de Fruticultura 641–654.

Schena L, Mosca S, Cacciola SO, Faedda R, Sanzani SM, Agosteo GE, Sergeev AV, Magnano Di San Lio G (2014) Species of the *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. boninense* complexes associated with olive anthracnose. **Plant Pathology** 63:437–446.

Sharma G, Gryzenhout M, Hyde KD, Pinnaka AK, Shenoy BD (2015) First report of *Colletotrichum asianum* causing mango anthracnose in South Africa. **Plant Disease** 99:725.

Silva AO, Savi DC, Gomes FB, Gos FMWR, Silva Jr G J, Glienke C (2017) Identification of *Colletotrichum* species associated with postbloom fruit drop in Brazil through GAPDH sequencing analysis and multiplex PCR. **European Journal Plant Pathology** 147:731–748.

Silva-Junior GJ, Spósito MB, Marin DR, Amorim L (2014) Efficacy and timing of application of fungicides for control of citrus Postbloom fruit drop. **Crop Protection** 59:51-56.

Soares-Colletti AR, Alvares CA, Sentelhas PC (2016) An agro-climatic approach to determine citrus postbloom fruit drop risk in Southern Brazil. **International Journal of Biometeorology** 60:891-905.

Souza A, Carboni RCD, Wickert E, Lemos EGM, Goes A (2013) Lack of host specificity of *Colletotrichum* spp. isolates associated with anthracnose symptoms on mango in Brazil. **Plant Pathology** 62:1038-1047.

Tavares GM, Souza PE (2005) Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotécnica** 29:52-59.

Than PP, Prihastuti H, Phoulivong S, Taylor PW, Hyde KD (2008) Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. **Journal of Zhejiang University Scienceb** 9:764–778.

Timmer LW, Agostini JP, Zitko SE, Zulfiqar M (1994) Postbloom fruit drop of citrus, an increasingly prevalent disease of citrus in the Americas. **Plant Disease** 78:329-334.

Timmer LW, Brown GE (2000). Biology and control of anthracnose diseases of citrus. In D Prusky, S Freeman, MB Dickman (Eds.), *Colletotrichum*. Host Specificity, Pathology, and Host-Pathogen Interaction (300–316). Saint Paul: APS.

Timmer LW, Peres NA (2015) Where have all the flowers gone? Postbloom fruit drop of citrus in the Americas. **Journal of Citrus Pathology** 1–6.

Timmer LW (1990) Status of postbloom fruit drop in Florida Citrus. **The Citrus Industry** 71:30-33.

Timmer LW, Zitko SE (1996) Evaluation of a model for prediction of postbloom fruitdrop of citrus. **Plant Disease** 80:380-383.

Timmer LW, Zitko SE (1993) Relationships of environmental factors and inoculum levels to the incidence of postbloom fruit drop of citrus. **Plant Disease** 77:501-504.

Tomlin CDS (2002) **The pesticide manual**: a world compendium. 12 ed. Surrey, United Kingdom: British Crop Protection Council, 2002. CD-ROM.

Udayanga D, Manamgoda DS, Liu X, Chukeatirote E, Hyde KD (2013) What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits? **Fungal Diversity** 61:165 - 179.

USDA: **United States Department of Agriculture** (2017) Citrus: World Markets and Trade 1-12.

Venancio WS, Zagonel J, Furtado EL, Souza NL (1999) Novos fungicidas - produtos naturais e derivados sintéticos: estrobilurinas e fenilpirroles. **Revisão anual de patologia de plantas** 7:103-155.

Weir BS, Johnston PR, Damm U (2012) The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology** 73:115 - 180.

Yan J, Jayawardena MMRS, Goonasekara ID, Wang Y, Zhang W, Liu M, Huang J, Wang Z, Shang J, Peng Y, Bahkali A, Hyde KD, Li X (2015) Diverse species of *Colletotrichum* associated with grapevine anthracnose in China. **Fungal Diversity** 71:233–246.

Yang YL, Cai L, Yu ZN, Liu ZY Hyde, K.D (2011) *Colletotrichum* species on Orchidaceae in southwest China. **Cryptogamie Mycologie** 32:229-253.

Zakaria L, Sahak S, Zakaria M, Salleh B (2009) Characterisation of *Colletotrichum* Species Associated with Anthracnose of Banana. **Tropical Life Sciences Research** 20:119–125.

Zulfiqar M, Brlansky RH, Timmer LW (1996) Infection of flower and vegetative tissues of citrus by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides*. **Mycologia** 88:121-128.

Zulian A, Dörr A C, Almeida S C (2013) Citricultura e agronegócio cooperativo no Brasil. **Revista Eletrônica em Gestão. Educação e Tecnológica Ambiental** 11:2290-2306.

APÊNDICE

Anexo 1 - Gráficos de crescimento micelial em doses crescentes de tebuconazol.

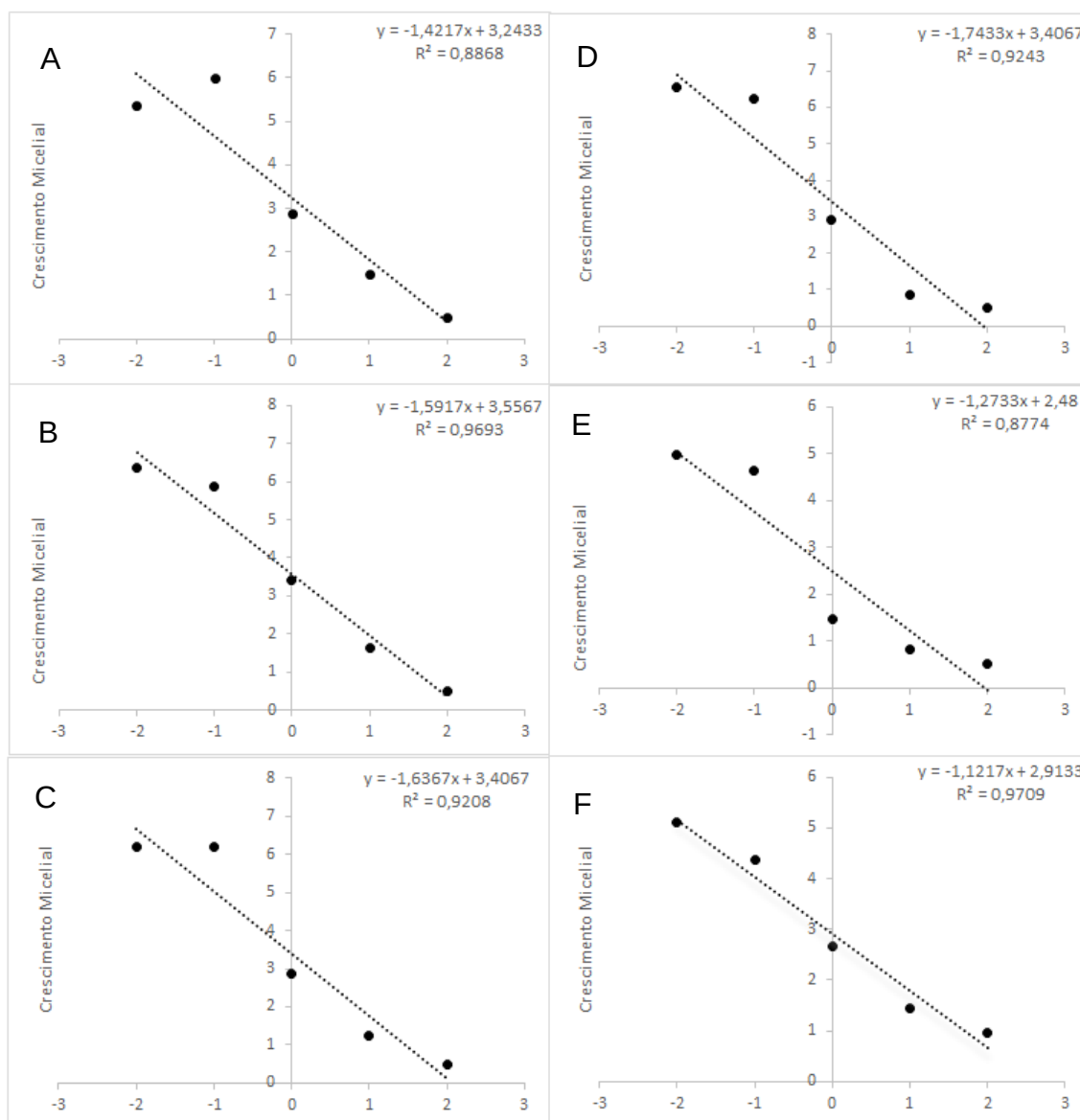


Figura 5. Inibição micelial dos isolados de *C. gloeosporioides* e *C. karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida tebuconazol, com os isolados OO1.11(*C. gloeosporioides*) (A), SO2.6 (*C. gloeosporioides*) (B), MON1.5 (*C. gloeosporioides*) (C), TO1.3.6 (*C. gloeosporioides*) (D), TO2.3.10 (*C. karstii*) (E) e TO2.3.11(*C. gloeosporioides*) (F).

Anexo 2 - Gráficos de crescimento micelial em doses crescentes de difeconazol.

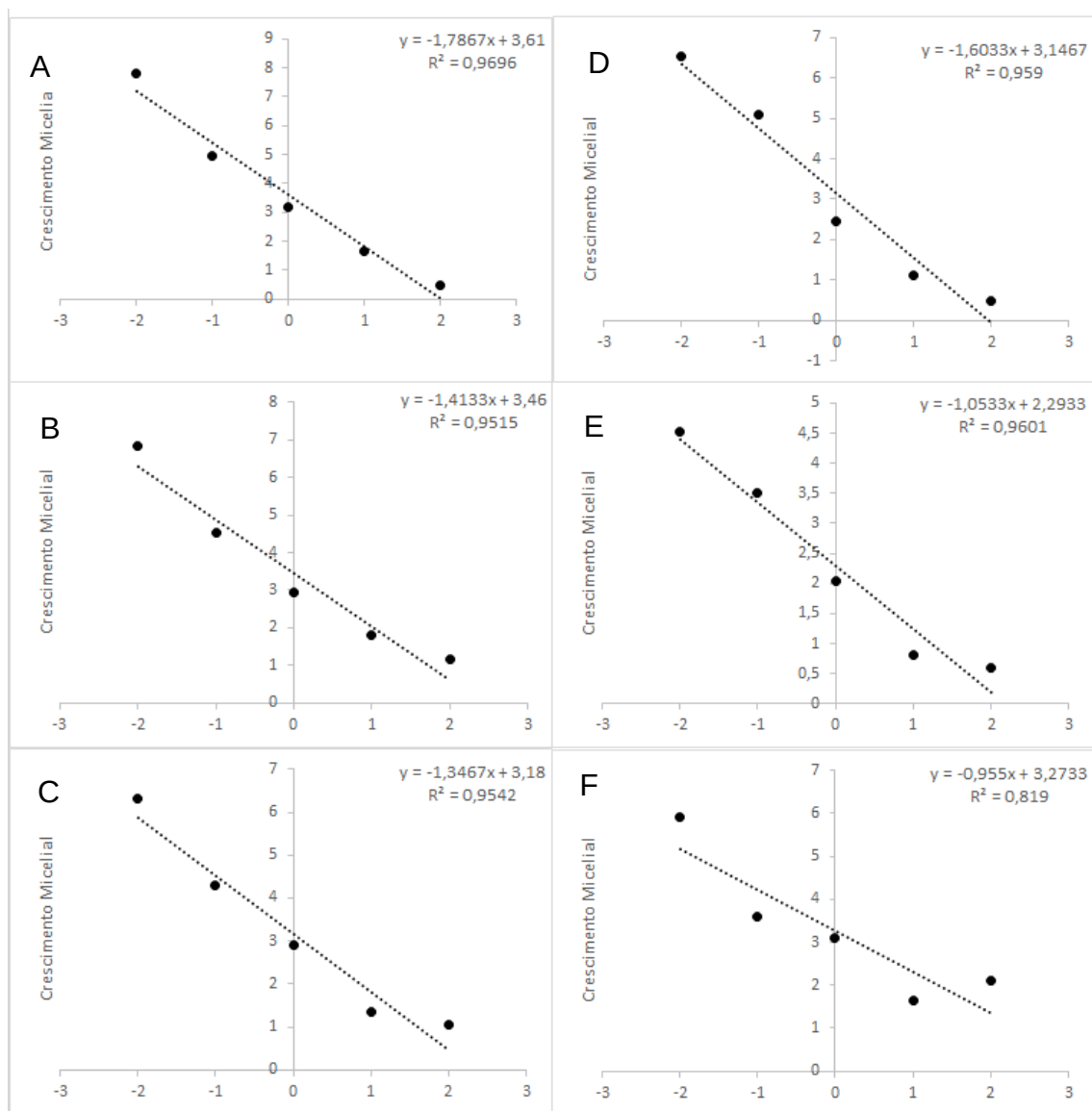


Figura 6. Inibição micelial dos isolados de *C. gloeosporioides* e *C. karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida difeconazol, com os isolados OO1.11(*C. gloeosporioides*) (A), SO2.6 (*C. gloeosporioides*) (B), MON1.5 (*C. gloeosporioides*) (C), TO1.3.6 (*C. gloeosporioides*) (D), TO2.3.10 (*C. karstii*) (E) e TO2.3.11(*C. gloeosporioides*) (F).

Anexo 3 - Gráficos de crescimento micelial em doses crescentes de trifloxistrobina + tebuconazol.

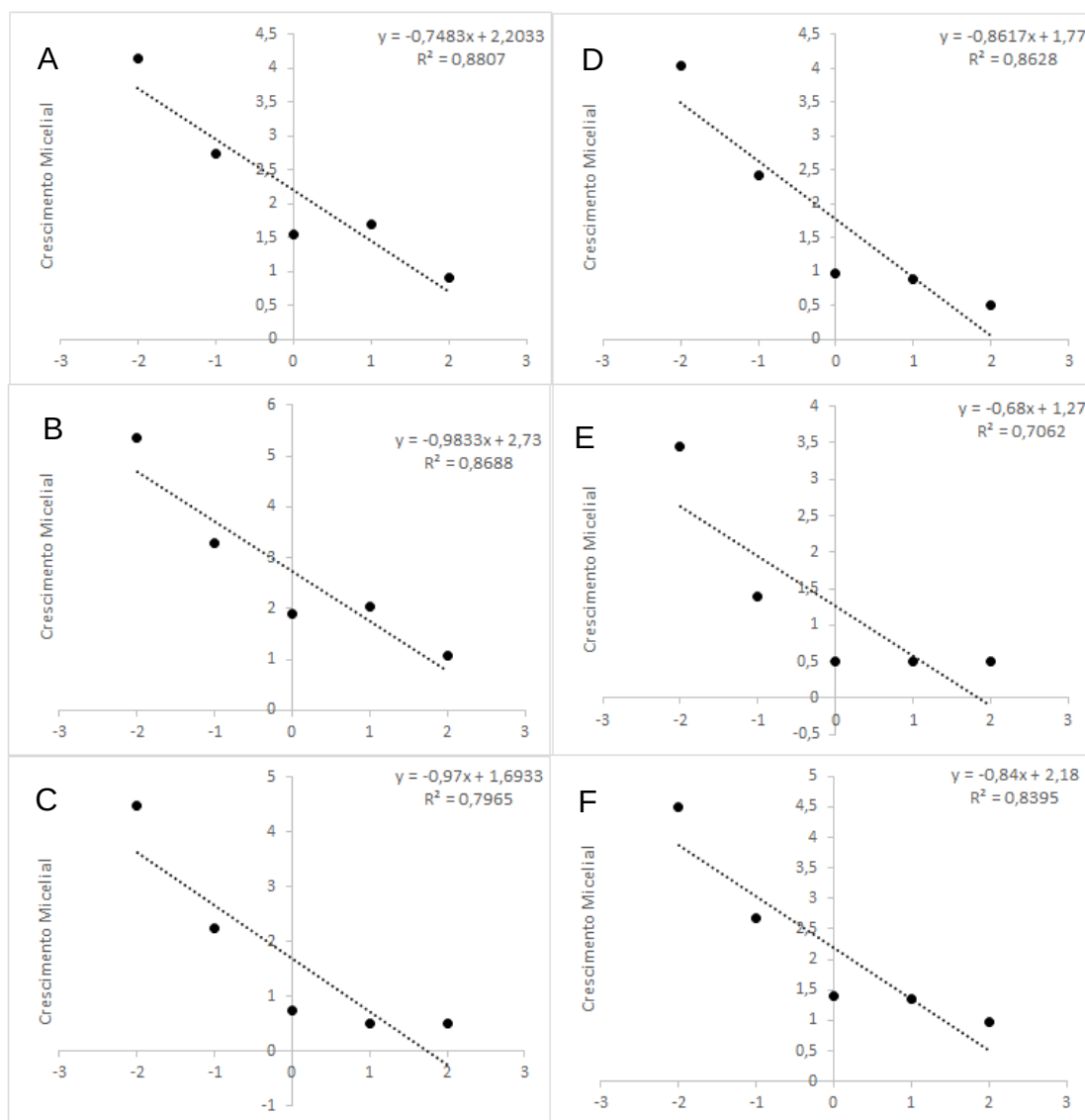


Figura 7. Inibição micelial dos isolados de *C. gloeosporioides* e *C. karstii*, sob diferentes concentrações do fungicida trifloxistrobina + tebuconazol, com os isolados OO1.11(*C. gloeosporioides*) (A), SO2.6 (*C. gloeosporioides*) (B), MON1.5 (*C. gloeosporioides*) (C), TO1.3.6 (*C. gloeosporioides*) (D), TO2.3.10 (*C. karstii*) (E) e TO2.3.11(*C. gloeosporioides*) (F).