

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA/UFAL**  
**ENGENHARIA AGRONÔMICA**

Primeiro relato de *Colletotrichum siamense* e *C. theobromicola* causando antracnose em  
achachairu (*Garcinia humilis*)

Rio Largo - AL

2025

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA/UFAL**  
**ENGENHARIA AGRONÔMICA**

Caio Vítor da Silva Anjos

Primeiro relato de *Colletotrichum siamense* e *C. theobromicola* causando antracnose em  
achachairu (*Garcinia humilis*)

Trabalho Acadêmico de conclusão  
de Curso Apresentado a  
Universidade Federal de Alagoas,  
como requisito para obtenção de  
grau em Engenharia Agrônômica.

Orientadora: Profa. Dra. Mayra  
Machado de Medeiros Ferro

Rio Largo - AL

2025

# FICHA CATALOGRÁFICA

## Catálogo na Fonte Universidade Federal de Alagoas

### Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias

Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

A599p Anjos, Caio Vítor da Silva.

Primeiro relato de *Colletotrichum siamense* e *C. theobromicola* causando antracnose em achachairu (*Garcinia humilis*). / Caio Vítor da Silva Anjos. – 2025.

36 f.: il.

Orientador(a): Mayra Machado de Medeiros Ferro.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Graduação em Agronomia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2025.

Inclui bibliografia

1. *Glomerellaceae*. 2. *Clusiaceae*. 3. Filogenia multilocus. 4. Abordagem polifásica. 5. Fungos. I. Título.

Caio Vítor da Silva Anjos

Primeiro relato de *Colletotrichum siamense* e *C. theobromicola* causando antracnose em achachairu (*Garcinia humilis*)

Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso Apresentado a Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção de grau em Engenharia Agrônômica.

Data da defesa: 25/02/2025

Conceito: 10,0

Documento assinado digitalmente

gov.br

MAYRA MACHADO DE MEDEIROS FERRO

Data: 21/04/2025 13:30:35-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Mayra Machado de Medeiros Ferro

Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA)

Documento assinado digitalmente

gov.br

KEVISON ROMULO DA SILVA FRANÇA

Data: 21/04/2025 13:42:02-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Kevison Romulo da Silva França

Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA)

Documento assinado digitalmente

gov.br

GESSICA JACIRA TRINDADE DE SOUZA

Data: 21/04/2025 13:49:49-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Msc. Gessica Jacira Trindade de Souza

Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA)

Rio Largo – AL

2025

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Cristiane e Diogenes, que me deram todo suporte e estrutura nos estudos.

A minha irmã Elisabete que, junto a Sandy, minha namorada, foram essenciais em todos os momentos, segurando as pontas quando eu estava aperreado e me ajudando a manter a cabeça no lugar.

Um agradecimento especial ao Dr. Kevison Romulo por todo suporte dado durante a pesquisa, ajudando com a experimentação, organização dos resultados, análises de bioinformática e elaboração do manuscrito, no qual sem ele tudo teria sido muito difícil.

A minha orientadora Profa. Dra. Mayra Ferro, que sempre esteve presente e se dispôs a me ajudar e orientar, na qual também foi essencial durante toda a pesquisa do TCC, e desde o começo quando iniciei dentro do laboratório.

A Ms. Denise e Ms. Géssica, que deram suporte à pesquisa, sempre com paciência comigo e com valiosas contribuições.

A Gabi que me ajudou muito ao longo da pesquisa, e em diversas situações.

Por fim, a todos do Laboratório de Fitopatologia Molecular que, de alguma forma, me ajudaram e contribuíram, nem que seja nas mínimas coisas para a realização do trabalho.

## RESUMO

O achachairu (*Garcinia humilis*; família *Clusiaceae*) tem um alto potencial de mercado, com fácil cultivo, desde um transporte até as aplicações farmacêuticas e alimentícias. Sua casca é utilizada como fortificantes em alimentos a base de cereais. No entanto, a cultura pode ter sua produtividade reduzida pela ocorrência de problemas fitossanitários. O gênero *Colletotrichum*, agente causal da antracnose, é um fungo cosmopolita e tem sido considerado um dos patógenos mais importantes no mundo. Sua infecção caracteriza-se por pequenas lesões necróticas e deprimidas que coalescem e formam grandes áreas na epiderme do fruto, diminuindo o tempo de vida útil. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi identificar espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em *Garcinia humilis*. Amostras de frutos e folhas foliares de achachairu foram coletadas na zona rural do município de Vitória de Santo Antão, Pernambuco, em 2024. A caracterização molecular foi realizada a partir da extração do DNA total, que foi usado como molde para amplificação dos genes *GAPDH*, *TUB2*, *APN2* e a região ApMAT e, posteriormente, sequenciados na ACTGene Análises Moleculares. A caracterização cultural foi realizada mediante a mensuração do crescimento micelial dos isolados obtidos no presente estudo e aspectos das colônias. A caracterização morfológica foi realizada através de medições de conídios e apressórios. A partir das análises de sequências multilocus, juntamente com as características morfoculturais foi possível demonstrar a ocorrência de duas espécies de *Colletotrichum* em achachairu no estado de Pernambuco: *C. siamense* e *C. theobromicola*. Este é o primeiro relato de *C. siamense* e *C. theobromicola* em achachairu no mundo.

**Palavras-chave:** *Glomerellaceae*, *Clusiaceae*, filogenia multilocus, abordagem polifásica.

## ABSTRACT

The achachairu (*Garcinia humilis*; family *Clusiaceae*) has a high market potential, with easy cultivation, from transportation to pharmaceutical and food applications. Its rind is used as a fortifier in cereal-based foods. However, the crop's productivity can be reduced by the occurrence of phytosanitary problems. The genus *Colletotrichum*, the causal agent of anthracnose, is a cosmopolitan fungus and has been considered one of the most important pathogens in the world. Its infection is characterized by small necrotic and depressed lesions that coalesce and form large areas on the epidermis of the fruit, reducing its shelf life. In this context, the aim of this study was to identify *Colletotrichum* species associated with anthracnose in *Garcinia humilis*. Samples of achachairu fruit and leaf leaves were collected in the rural area of the municipality of Vitória de Santo Antão, Pernambuco, in 2024. Molecular characterization was carried out by extracting the total DNA, which was used as a template for amplifying the *GAPDH*, *TUB2*, *APN2* genes and ApMAT region, and then sequenced at ACTGene Molecular Analyses. Cultural characterization was carried out by measuring the mycelial growth of the isolates obtained in this study and aspects of the colonies. Morphological characterization was carried out by measuring conidia and appressoria. Based on the analysis of multilocus sequences, together with the morphocultural characteristics, it was possible to demonstrate the occurrence of two species of *Colletotrichum* on achachairu in the state of Pernambuco: *C. siamense* and *C. theobromicola*. This is the first report of *C. siamense* and *C. theobromicola* on achachairu in the world.

**Keywords:** *Glomerellaceae*, *Clusiaceae*, multilocus phylogeny, polyphasic approach.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Árvore filogenética de inferência Bayesiana de isolados de *Colletotrichum* spp. em *G. humilis*. A árvore foi construída usando sequências concatenadas dos genes *apn2*, *gapdh*, *tub2* e região ApMAT. Os valores de probabilidade posterior bayesiana são indicados acima dos nós. As sequências geradas neste estudo são destacadas em negrito. *Colletotrichum truncatum* (CBS15135) foi usado como outgroup.

**Figura 2.** Sintomas de antracnose observados em folhas e frutos de *Garcinia humilis*: lesões necróticas com centros deprimidos. Sintomas naturais observados em campo (a, b). Teste de patogenicidade em folhas destacadas (c, d, e) e frutos (f, g, h) de *G. humilis* e frutos de *G. brasiliensis* (i, j, k). Frutos e folha assintomáticos (controle negativo) (e, h, k). Sintomas induzidos pelos isolados COUFAL0645 (c, f, i), COUFAL0646 (d, g, j).

**Figura 3.** Marcadores morfológicos de espécies de *Colletotrichum* isoladas a partir de folhas e frutos de achachairu (*Garcinia humilis*) com sintomas de antracnose. *Colletotrichum theobromicola* (COUFAL0645): (a) Características da colônia, (b) forma dos conídios, (c) forma dos apressórios. *Colletotrichum siamense* (COUFAL0646): (d) Características da colônia, (e) forma dos conídios (f) forma dos apressórios.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Primers e condições de termociclagem utilizadas neste estudo.

**Tabela 2.** Isolados do complexo *C. gloeosporioides* incluídos na análise de sequências multilocus, com detalhes de espécies, códigos das culturas e números de acessos do GenBank.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
<b>2.1 A cultura do achachairu</b> .....	12
<b>2.2 Antracnose</b> .....	13
<b>2.3 O gênero <i>Colletotrichum</i></b> .....	14
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	17
<b>3.1 Obtenção dos isolados de <i>Colletotrichum</i></b> .....	17
<b>3.2 Caracterização Molecular</b> .....	17
3.2.3 Análises filogenéticas .....	20
<b>3.3 Teste de patogenicidade</b> .....	24
3.3.1 Patogenicidade cruzada .....	25
<b>3.4 Caracterização morfocultural</b> .....	25
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	27
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	32
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	33

## 1. INTRODUÇÃO

*Garcinia humilis* (Vahl) C. D. Adam (Família *Clusiaceae*), popularmente conhecida como achachairu, é uma árvore frutífera nativa da Bolívia, introduzida no Brasil no século XX. É cultivada em todas as regiões do país, com safra entre novembro e janeiro (Barbosa et al. 2008; Janick; Paull, 2008). Apesar de sua ampla distribuição e facilidade de cultivo, o consumo *in natura* do fruto não é muito popular. No entanto, tem potencial de mercado, pois a casca do fruto é usada como suplemento em alimentos à base de cereais no enriquecimento do perfil nutricional humano (Ikeda et al., 2022).

No idioma guarani, achachairu significa "beijo de mel". Em seu país de origem, é um dos frutos mais apreciados por possuir um sabor agridoce único, porém, devido a sua safra curta, é pouco encontrado. O fruto possui benefícios nutricionais e antioxidantes, sugerindo o seu potencial futuro para exportação (Nunes, 2004; IBCE, 2010).

Sob condições de elevada umidade e temperatura, o achachairu pode demonstrar suscetibilidade a antracnose, doença fúngica que acomete ramos, folhas, flores e frutos da maioria das espécies frutíferas no Brasil e no mundo. Ainda não há relatos de infecções fúngicas de *Colletotrichum* em achachairuzeiro nesta cultura, porém como é um fungo com uma ampla gama de hospedeiros, os frutos desta espécie podem estar passíveis de infecção por esse agente (Sanchez et al., 2024).

Nos frutos, os sintomas se caracterizam, principalmente, por lesões de coloração marrom escura, circulares com expansão rápida e sem limite de diâmetro. Ao centro das lesões, expressa sinais por meio da formação de pequenos pontos pretos, correspondentes aos acérvulos das espécies do gênero *Colletotrichum*, principal agente causal desta doença. O gênero *Colletotrichum* ocupa a oitava posição entre fungos fitopatogênicos mais importantes em todo o mundo (Lopes; Ávila, 2003; Dean et al., 2012 Silva et al., 2017).

Portanto, tendo em vista a ausência de informações a respeito do patossistema *Colletotrichum*-achachairu, o objetivo do presente estudo foi identificar espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose em *Garcinia humilis*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura do achachairu

O achachairuzeiro (*Garcinia humilis*), pertencente à família *Clusiaceae*, é uma fruta tropical exótica nativa da Amazônia boliviana. Sua árvore é perene com altura entre 10 e 15 metros, que mantém folhas coriáceas, glabras e lustrosas na superfície superior, com comprimento variando entre 10 e 18 cm, durante todo o ano. As flores podem ser andróginas ou hermafroditas, formadas entre os meses de julho e setembro, de forma isolada ou em grupos e amadurecimento de novembro a janeiro. O tronco contém látex de coloração amarela (Barbosa *et al.*, 2008; Janick; Paull, 2008).

Seus frutos são drupas, com peso médio de 30-40 g, com formato redondo e oblongo, medindo na transversal 35,8 mm e na longitude 45,2 mm. A massa total do fruto contém cerca 47 % casca, 40 % de polpa e 13 % sementes. A casca é espessa, lisa, firme e resistente, com coloração amarelo ao laranja na parte externa, e internamente é de cor creme-claro. A polpa não adere à casca, de cor branca, de textura succulenta e mucilagínosa, com sabor doce devido ao 15° Brix e pH de 4,1, porém oxida rápido quando exposta ao ar (Duarte *et al.*, 2014; Lorenzi *et al.*, 2006; Melo *et al.*, 2017).

Cada fruto geralmente possui em média 3 sementes, porém apenas uma se desenvolve completamente, sendo viável à germinação (Janick; Paull, 2008). A maturação ocorre entre dezembro e abril, com os desenvolvimentos mais significativos começando em fevereiro. No início são menores e a casca exibe uma coloração verde, e com o avanço da maturação a cor externa altera-se do amarelo até um alaranjado. Após a colheita, os frutos se mostram resistentes ao serem transportados e se conservam bem sob refrigeração (Barbosa *et al.*, 2008).

A espécie foi introduzida no século no Brasil XX, pois se adapta com facilidade aos climas tropicais e subtropicais. Há registros de cultivos em todas as regiões do país, nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Pernambuco, Pará, Goiás e Santa Catarina (BARBOSA *et al.*, 2008). Apesar da ampla distribuição não é um fruto popular e até confundido com frutas de outras espécies. A identificação assertiva aos membros desse gênero ainda não é estabelecida devido à escassez de informações na literatura sobre características e propriedades (Barbosa *et al.*, 2008; Barbosa e Artioli, 2007; Soprano e Koller, 2008).

É de fácil cultivo, com alto potencial de mercado, desde o transporte até suas aplicações farmacêuticas e alimentícias. Em seu país nativo, é muito valorizada por suas

características sensoriais, e planejamento de aumento de produção para uso de forma industrial, além da *in natura*, visando os benefícios nutricionais e antioxidantes do produto (Nunes, 2004). É incorporada a alimentos, visando melhorar perfil nutricional, textura e vida útil, como a casca que é utilizada como fortificante em alimentos a base de cereais. Suas propriedades antioxidantes provem de compostos bioativos, principalmente fenólicos (Gomes et al., 2024).

A limitação da cultura é a sazonalidade, tendo um período de colheita curto, presente no mercado apenas entre meses de fevereiro e abril (Instituto Boliviano de Comércio Exterior, 2010).

Dentre os fatores que interferem na produção da cultura, destaca-se o ataque de pragas e patógenos. Na cultura do achachairu já foi identificado o fungo fitopatogênico *Rhizopus stolonifer*, um dos responsáveis pela podridão mole em frutas e hortaliças, que leva a grandes perdas em pós-colheita. Esse agente pode causar danos significativos nos frutos recém-colhidos, dificultando a adesão do cultivo pelos produtores (Almeida Souza, 2024). Ainda não há relatos de infecções fúngicas de *Colletotrichum* em achachairuzeiro, porém com ampla gama de hospedeiros, os frutos são passíveis de infecção (Paim Araujo, 2012).

## 2.2 Antracnose

A antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, é considerada uma das principais doenças de frutos em pós-colheita, e de importância econômica ao Nordeste brasileiro (Serra;Silva, 2004). Pode acarretar grandes prejuízos dependendo da agressividade do patógeno, suscetibilidade da planta hospedeira e das condições ambientais (Talhinhas; Baroncelli, 2021).

A antracnose é uma doença que causa a perda de produtividade em várias culturas frutíferas de grande importância econômica, como morango, citros, manga e banana (Cannon *et al.*, 2012). A infecção é caracterizada por lesões circulares com expansão rápida sem limite de diâmetro. Centralizado nas lesões, ocorre à formação de pequenos pontos pretos, que corresponde aos acérvulos. pode-se observar a formação de uma massa de coloração rósea ou alaranjada, que são os esporos do fungo produzidos juntos a uma mucilagem (Lopes; Ávila, 2003; Silva *et al.*, 2017). Um dos gêneros fúngicos causadores da doença antracnose é o *Colletotrichum*.

Em condições mais extremas de chuva, com temperatura e umidades elevadas, a doença é bem mais severa. Atingem todos os órgãos aéreos da planta como ramos,

folhas, flores e frutas. É de uma maior ocorrência nos países tropicais e subtropicais, onde contribui para redução direta da qualidade e quantidade do produto, causando um aumento nos custos de produção, devido à necessidade de controle no campo e na pós-colheita. Os sintomas da antracnose aparecem como pontos necróticos de necrose nos dois lados da folha, onde quando as lesões se agregam e formam-se áreas necrosadas, ao longo das margens das folhas. Os desenvolvimentos das lesões ocorrem com mais frequências em tecidos mais jovens, já os conídios são formados em lesões de todas as idades (Silva; Fonseca; Moreira, 2002).

### 2.3 O gênero *Colletotrichum*

O gênero *Colletotrichum* foi introduzido, inicialmente por Tode, em 1790, com a denominação de *Vermicularia Tode*. Corda, já em 1831 reclassificou com a denominação de *Colletotrichum* [teleomorfo: *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. and; von Schrenk]. Anos depois, em 1837, Corda caracterizou o gênero *Colletotrichum*, de maneira geral, como fungos que apresentam conídios hialinos, retos, fusiformes ou curvados e acérvulos com setas (Hyde et al., 2009; Sutton, 1992). De acordo com a classificação do *Dictionary of the fungi* (2008), o gênero *Colletotrichum* pertence ao grupo dos fungos Anamórficos, classe Sordariomycetes, ordem *Incertae sedis* e família *Glomerellaceae*.

Ocupa a oitava posição entre os fungos fitopatogênicos mais importantes no mundo, na perspectiva econômica, sendo causador da antracnose, uma doença que afeta uma ampla gama de hospedeiros, incluindo cereais, gramíneas, leguminosas, hortaliças, culturas perenes e árvores frutíferas (Dam et al., 2012). Além disso, o gênero possui alguns estilos de vida, sendo eles: endófitos, epífitos, saprófitos, fitopatogênicos e até patogênicos ao homem (Sutton, 1992; c 2011).

Em meio de cultura, as colônias do gênero *Colletotrichum* apresentam tonalidade variando do branco-gelo ao cinza-escuro, com quantidade variável de micélio aéreo. Em alguns casos, é possível observar a presença de esclerócios e/ou de microesclerócios (Sutton, 1992).

Possuem esporos assexuais (conídios) hialinos, curvos ou fusiformes, produzidos por um acérvulo setoso. As células conidiogênicas, que desenvolvem os conídios, podem ser formadas em ramificações laterais do micélio (Jayawardena et al., 2021). Os acérvulos (corpos de frutificação) abrigam-se na epiderme do hospedeiro onde podem variar de forma (crosta, lentilha ou pústula) e tamanho (1 mm a 40 mm) em

uma mesma espécie. Fatores ambientais interferem a sua produção, então, a presença ou ausência não é utilizada como um caráter de valor taxonômico para separação de *taxa* (Menezes, 2002; Pereira, 2016).

Durante o processo de infecção, o conídio de *Colletotrichum* se adere e germina na superfície da planta hospedeira, na qual emite o tubo germinativo. Em sua extremidade se forma o apressório, que vai germinar, dando início ao peg (hifa) de penetração, adentrando diretamente na superfície do tecido hospedeiro. Por fim, sob a cutícula e sob a epiderme, o fungo penetra e cresce (Bailey et al., 1992; Liao et al., 2012; Perfect et al., 1999).

Na maioria dos casos, o patógeno entra na fase biotrófica, com tecidos infectados, no qual permanecem, por um a três dias, externamente assintomáticos (O'connell et al., 2000) ou prolongando, eventualmente, uma dormência (Prusky; Plumbley, 1992). Após esses processos, o fungo entra na fase necrotrófica, que resulta em morte significativa das células vegetais, apresentando sintomas visíveis (Prusky; Plumbley, 1992).

Inicialmente, o gênero *Colletotrichum* foi classificado em 11 *taxas*, de acordo com aspectos relacionados à morfologia dos indivíduos (Von Arx, 1957). Porém, estudos posteriores demonstraram que fatores ambientais exercem influências sobre características morfológicas em fungos. Com a classificação proposta por Sutton, em 1992, o número de espécies foi alterado para 40 e, em 2009, com a primeira visão abrangente do gênero, Hyde propôs 66 espécies. Assim, destacando a necessidade de revisar as classificações usando métodos moleculares (Jayawardena et al., 2021).

Nas últimas décadas, os avanços nos estudos filogenéticos, especialmente por meio da análise multigênica, têm desempenhado um papel fundamental na taxonomia do gênero *Colletotrichum*. Hoje, são reconhecidas aproximadamente 344 espécies, organizadas em 20 complexos distintos, a saber: orbiculare (8 espécies), magnum (11), orchidearum (12), dracaenophilum (14), gigasporum (13), truncatum (5), agaves (6), boninense (34), citri-medicae (3), gloeosporioides (79), dematium (18), coccodes (3), destructivum (20), bambusicola (5), spaethianum (12), tibetense (6), graminicola (20), caudatum (11), trichellum (3) e acutatum (52). Além desses, também foram identificadas 9 espécies isoladas (singleton), que não pertencem a nenhum dos complexos citados (Talhinhas & Baroncelli, 2023).

A utilização de múltiplos marcadores filogenéticos, como actina (ACT), quitina sintetase (*CHS-1*),  $\beta$ -tubulina (*TUB2*), calmodulina (*CAL*), gliceraldeído-3-fosfato

desidrogenase (*GAPDH*), histona-3 (*HIS3*), glutamina sintetase (*GS*), DNA lyase (*APN2*), região intergênica de *APN2* e mating-type *MAT1-2-1* (*ApMat*), tem aprimorado a compreensão sobre a diversidade e a evolução das espécies de *Colletotrichum* (Vieira et al., 2020). A combinação dessas análises com dados morfológicos e testes de patogenicidade tem possibilitado a identificação de novas espécies dentro do gênero (Costa et al., 2018).

Esse avanço tem contribuído significativamente para a correta delimitação de espécies, associação com hospedeiros específicos e desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes da antracnose, a partir do entendimento aprofundado das causas e da distribuição da doença (Talhinhas & Baroncelli, 2023).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção dos isolados de *Colletotrichum*

Amostras de folhas e frutos de *G. humilis*, apresentando lesões necróticas e deprimidas, foram coletadas em um pomar localizado na zona rural de Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil. O material vegetal foi transportado para o Laboratório de Bioquímica e Fitopatologia, do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), lavado superficialmente com detergente neutro e água corrente, secos em papel toalha e mantidos a 28°C.

Para o isolamento fúngico, foram retirados fragmentos da região de transição entre o tecido doente e o sadio. Em câmara de fluxo laminar foi realizada a desinfestação superficial destes fragmentos na seguinte sequência: álcool a 70% por 30 segundos, solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% por um minuto e lavagem em água destilada esterilizada (ADE) por 30 segundos. Os fragmentos foram, então, secos, cultivados em meio batata dextrose ágar (BDA) e incubados a 28°C por dois dias.

Após o crescimento do patógeno, foram retirados discos de 5 mm de diâmetro das bordas das colônias. Em seguida, esses discos foram transferidos para novas placas de Petri contendo meio de cultura BDA, onde permaneceram à temperatura ambiente por dez dias. Para todos os isolados foram realizadas preparações microscópicas para prévia determinação de gênero *Colletotrichum*, baseado na morfologia dos conídios (Sutton, 1980).

Por fim, para obtenção da cultura pura, a ponta da hifa foi transferida para novas placa de Petri contendo meio BDA e mantido por sete dias em temperatura ambiente. Os isolados foram preservados pelo método Castellani (1967) e depositados na Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos da Universidade Federal de Alagoas (COUFAL).

#### 3.2 Caracterização Molecular

##### 3.2.1 Extração de DNA, amplificação por PCR e sequenciamento

O DNA genômico total foi extraído a partir do micélio aéreo dos isolados de *Colletotrichum* com sete dias de crescimento, usando o método CTAB (Doyle & Doyle, 1987). Para a identificação preliminar dos isolados, as sequências alvo do gene da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) foram amplificadas utilizando a reação

em cadeia da polimerase (PCR) com o par de iniciadores GDF1/GDR1 (Templeton et al., 1992). Para a análise multilocus, as sequências parciais dos genes  $\beta$ -tubulina (*TUB2*), DNA *lyase* (*APN2*) e espaço intergênico *mating type* MAT1-2-1 (ApMAT) foram amplificadas com os pares de iniciadores bt2a/bt2b (Glass; Donaldson, 1995; Gardes; Bruns, 1993), CoIDL-F3/CgDL-R1 e CgDLF6/CgMAT1F2 (Rojas et al., 2010), respectivamente. As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 30  $\mu$ L, contendo 3,0  $\mu$ L de tampão 10  $\times$  (100 mM KCl, 100 mM Tris-HCl pH 9,0, 1% Triton-X), 2,4  $\mu$ L de 2.5 mM de dNTPs, 0,9  $\mu$ L de 50 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2  $\mu$ L de Taq DNA polimerase, 2,0  $\mu$ L de cada oligonucleotídeo (10  $\mu$ M), 1,0  $\mu$ L (50 ng) de DNA total, completando-se o volume com H<sub>2</sub>O ultrapura. As condições de termociclagem para cada um dos genes estão descritas na Tabela 1. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%, corados com brometo de etídio e observados sobre luz UV. Posteriormente, foram purificados e sequenciados pela empresa ACTgene (<http://www.actgene.com.br>; Alvorada-RS, Brasil).

**Tabela 1.** Primers e condições de termociclagem utilizadas neste estudo.

Gene (nome do primer)	Beta-tubulina (Bt2a/Bt2b)	APN2 (ColDL-F3/CgDL-R1)	GAPDH (GDF/GDR)	ApMAT (CgDL_F6/CgMAT1_F2)
Sequência (5'-3')	AACATGCGTGAGATTGTAAGT ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC	GGGAGAAGCGAACATACCA GCCCCGACGAGCAGAGGACGTAGTC	GCCGTCAACGACCCCTTCATTGA GGGTGGAGTCGTA CTTGAGCATGT	AGTGGAGGGCGGGACGTT TGATGTATCCCCGACTACCG
Ciclos	30 Ciclos	35 Ciclos	35 ciclos	35 ciclos
Desnaturação inicial	95°C por 3 minutos	95°C por 5 minutos	95°C por 5 minutos	95°C por 3 minutos
Desnaturação	95°C por 30 segundos	95°C por 30 segundos	95°C por 30 segundos	95°C por 30 segundos
Anelamento	55°C por 30 segundos	56°C por 1 minuto	58°C por 30 segundos	62°C por 40 segundos
Extensão	72°C por 1 minuto	72°C por 1 minuto e 30 segundos	72°C por 1 minuto e 30 segundos	72°C por 1 minuto
Ciclo Final	72°C por 10 minutos	72°C por 10 minutos	72°C por 10 minutos	72°C por 10 minutos

Fonte: (Autor, 2025)

### 3.2.3 Análises filogenéticas

As sequências de *APN2*, *ApMAT*, *GAPDH* e *TUB2* obtidas foram montadas e editadas utilizando o programa *CodonCode Aligner* v. 4.1.1 ([www.codoncode.com](http://www.codoncode.com)), e analisadas com o algoritmo *BLASTn* e o banco de dados de nucleotídeos não-redundante GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), para identificar as sequências com as quais elas compartilharam maior identidade. Em seguida, as sequências estreitamente relacionadas de *Colletotrichum* foram recuperadas do GenBank com base nos resultados do *BLASTn* e publicações relevantes (Tabela 2; Talhinhos; Baroncelli, 2021). Cada *locus* foi alinhado pelo programa online MAFFT, do Instituto Europeu de Bioinformática (Kato; Rozewicki; Yamada, 2019) com o método progressivo G-INS-1 e ajustados manualmente quando necessário.

**Tabela 2.** Isolados do complexo *C. gloeosporioides* incluídos na análise de sequências multilocus, com detalhes de espécies, número de acesso das culturas e números de acessos do GenBank.

Espécie	Código da Cultura	Hospedeiro	País	Códigos de Acesso do GenBank			
				APN2	ApMAT	GAPDH	TUB2
<i>C. siamense</i>	CMM4079	<i>Musa</i> sp.	Brazil	KX093998	KX094307	KX094167	KX094271
<i>C. siamense</i>	CMM4081	<i>Musa</i> sp.	Brazil	KX093999	KX094310	KX094166	KX094272
<i>C. siamense</i>	CMM4084	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	KX093999	KX094310	KX094166	KX094272
<i>C. siamense</i>	CMM4244	<i>Musa</i> sp.	Brazil	KX094014	KX094315	KX094172	KX094299
<i>C. siamense</i>	LM902	<i>Etilingera elatior</i>	Brazil	MZ264110	MZ264126	MZ264094	-
<i>C. siamense</i>	CBS130417*	<i>Coffea arabica</i>	Thailand	-	JQ899289	JX009924	JX010404
<i>C. siamense</i>	CMM4247	<i>Musa</i> sp.	Brazil	KX094009	KX094301	KX094155	KX094261
<i>C. siamense</i>	CMM4248	<i>Mangifera indica</i>	Brazil	KX093992	KX094314	KX094154	KX094300
<i>C. siamense</i>	KF19	<i>Coffea</i> sp.	China	-	MW142171	MT430825	MT430765
<i>C. siamense</i>	HNBL44	-	China	-	MK935407	MK935449	MK935492
<i>C. siamense</i>	COUFAL0646	<i>Garcinia humilis</i>	Brazil	PV021406	PV021404	PV007188	PV021402
<i>C. salsolae</i>	CBS119296	<i>Glycine max</i>	Hungary	-	-	JX009917	-
<i>C. salsolae</i>	CMP19051*	<i>Salsola tragus</i>	Hungary	-	KC888925	JX009916	JX010403
<i>C. tainanense</i>	CBS143666*	<i>Capsicum annuum</i>	Taiwan	-	MH728836	MH728823	MH846558
<i>C. tainanense</i>	UOM1119	<i>Capsicum annuum</i>	Taiwan	-	MH728824	MH728819	MH846570
<i>C. fruticola</i>	1087	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	GU994409	GU994438	KX094174	KX094279
<i>C. fruticola</i>	LM925	<i>Etilingera elatior</i>	Brazil	-	-	MZ229424	MZ270519
<i>C. fruticola</i>	CBS125397*	<i>Tetragastris panamensis</i>	Panama	GU994412	JQ807839		JX010409
<i>C. chrysophilum</i>	8395	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	GU994415	GU994444	KX094176	GU994473
<i>C. chrysophilum</i>	CMM4268*	<i>Musa</i> sp.	Brazil	KX094018	KX094325	KX094183	KX094285

<i>C. nupharicola</i>	CBS47296*	<i>Nuphar polysepala</i>	USA	JX145276	JX145320	JX010031	JX010399
<i>C. nupharicola</i>	CBS47096	<i>Nymphaea odorata</i>	USA	JX145275	JX145319	JX009936	JX010397
<i>C. hystricis</i>	CBS142411*	<i>Citrus hystrix</i>	Italy	-	-	KY856274	KY856532
<i>C. hystricis</i>	CBS14212	<i>Citrus hystrix</i>	Italy	-	-	KY856275	KY856533
<i>C. noveboracense</i>	AFKH423	<i>Malus domestica</i>	Columbia/NY	MN701186	MN701184	MN741085	MN701194
<i>C. noveboracense</i>	AFKH109*	<i>Malus domestica</i>	Adams/PA	MN910262	MN640564	MN640567	MN640569
<i>C. perseae</i>	CBS141365*	<i>Persea americana</i>	Israel	-	KX620177	KX620242	KX620341
<i>C. perseae</i>	GA039	<i>Persea americana</i>	Israel	-	KX620172	KX620236	KX620335
<i>C. musae</i>	CBS116870*	<i>Musa sp.</i>	USA	-	KC888926	JX010050	HQ596280
<i>C. musae</i>	ICMP17817	<i>Musa sp.</i>	Kenya	-	-	JX010015	JX010395
<i>C. asianum</i>	CBS130418*	<i>Coffea arabica</i>	Thailand	-	FR718814	JX010053	JX010406
<i>C. asianum</i>	Coll38	<i>Mangifera indica</i>	USA	JX145253	JX145308	-	JX145201
<i>C. tropicale</i>	CBS124949*	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	GU994396	GU994425	JX010007	GU994454
<i>C. tropicale</i>	CMM4243	<i>Musa sp.</i>	Brazil	KU213598	KU213597	KU213601	KU213604
<i>C. makassarensis</i>	CBS143664*	<i>Capsicum spp.</i>	Indonesia	-	MH728831	MH728820	MH846563
<i>C. makassarensis</i>	CPC28555	<i>Capsicum annum</i>	Indonesia	-	MH728834	MH728822	MH846560
<i>C. queenslandicum</i>	ICMP1778*	<i>Carica papaya</i>	Australia	-	KC888928	JX009934	JX010414
<i>C. viniferum</i>	GZZAS508601	<i>Vitis vinifera cv. Shuijing</i>	China	-	-	JN412798	JN412813
<i>C. viniferum</i>	GZAAS508608*	<i>Vitis vinifera cv. Shuijing</i>	China	-	-	JN412800	JN412811
<i>C. aeshynomenes</i>	ICMP17673*	<i>Aeshynomene virginica</i>	USA	-	KM360145	JX009930	JX010392
<i>C. conoides</i>	CGMCC317615	<i>Capsicum spp</i>	China	-	MG198007	KY995340	KY995473
<i>C. floscerae</i>	LM891	<i>Etilingera elatior</i>	Brazil	MZ264108	MZ264124	MZ264092	MZ270515
<i>C. floscerae</i>	LM916*	<i>Etilingera elatior</i>	Brazil	MZ264115	MZ264131	MZ264099	MZ270518
<i>C. zingibericola</i>	LM937	<i>Etilingera elatior</i>	Brazil	MZ264122	MZ264138	MZ264106	MZ270522

<i>C. zingibericola</i>	LM942*	<i>Etilingera elatior</i>	Brazil	MZ264120	MZ264136	MZ264104	MZ270520
<i>C. atlanticum</i>	LM898	<i>Etilingera elatior</i>	Brazil	MZ264109	MZ264125	MZ264093	MZ270516
<i>C. atlanticum</i>	LM938*	<i>Etilingera elatior</i>	Brazil	MZ264123	MZ264139	MZ264107	MZ270523
<i>C. gloeosporioides</i>	CBS112999*	<i>Citrus sinensis</i>	Italy	GU994416	JQ807843	JX010056	JX010445
<i>C. gloeosporioides</i>	CMM3279	<i>Anacardium occidentale</i>	Brazil	MF110709	-	MF110864	MF111056
<i>C. grevilae</i>	CBS132879*	<i>Grevillea</i> sp.	Italy	-	-	KC297010	KC297102
<i>C. grossum</i>	CGMCC317614*	<i>Capsicum</i> spp.	China	-	-	KP890159	KP890171
<i>C. xanthorrhoeae</i>	CBS127831*		Australia	-	KC790689	JX009927	JX010448
<i>C. horii</i>	ICMP10492*		Japan	-	JQ807840	GQ329681	JX010450
<i>C. alatae</i>	CBS30467*	<i>Dioscorea alata</i>	India	-	KC888932	JX009990	JX010383
<i>C. alatae</i>	ICMP18122	<i>Dioscorea alata</i>	Nigeria	-	-	JX010011	JX010449
<i>C. proteae</i>	CBS132882*	<i>Protea</i> sp.	South Africa	-	-	KC297009	KC297101
<i>C. proteae</i>	CBS134301	<i>Protea</i> sp.	South Africa	-	-	KC842379	KC842387
<i>C. theobromicola</i>	COUFAL0645	<i>Garcinia humilis</i>	Brazil	PV021405	PV021403	PV007187	PV021401
<i>C. theobromicola</i>	Bra5	<i>Coffea</i> sp.	Brazil	FR719136	FR718801	-	FR719885
<i>C. theobromicola</i>	Bra8	<i>Coffea</i> sp.	Brazil	FR719137	FR718802	-	FR719886
<i>C. theobromicola</i>	CMM4242	<i>Musa</i> sp.	Brazil	KX094320.1	-	KX094173	KX094278
<i>C. theobromicola</i>	CMP17099	<i>Fragaria × ananassa</i>	USA	-	-	JX009957	-
<i>C. theobromicola</i>	CBS124945*	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	GU994419	KC790726	JX010006	JX010447
<i>C. theobromicola</i>	GJS0843	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	GU994418	GU994447	-	GU994476
<i>C. theobromicola</i>	GJS0848	<i>Annona diversifolia</i>	Mexico	-	-	JX010057	JX010382
<i>C. truncatum</i>	CBS15135*	-	Taiwan	-	-	GU228254	GU228156

\*Ex-tipo. *Tub2*: β-tubulin; *gapdh*: glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase; ApMAT: locus mating type MAT1-2-1; *apn2*: DNA lyase

As árvores de inferência Bayesiana foram construídas com as sequências do gene *GAPDH* e dados concatenados (*GAPDH*, *ApMAT*, *APN2* e *TUB2*) empregando o método da cadeia de Markov Monte Carlo, no portal web do CIPRES (Miller *et al.*, 2010), utilizando o MrBayes v. 3.2.3 (Ronquist *et al.*, 2012). Os melhores modelos de substituição nucleotídica foram determinados para os dados de cada região genômica utilizando o MrModeltest 2.3 (Posada; Buckley, 2004) de acordo com o Critério de Informação de Akaike (AIC), implementado no PAUP v.4.0b10. As análises foram efetuadas ao longo de 10 milhões de gerações utilizando quatro cadeias e amostradas a cada 1.000 gerações, para um total de 10.000 árvores. As primeiras 2.500 árvores foram descartadas na fase de queima. As probabilidades subsequentes (Rannala;Yang, 1996) foram determinadas a partir de uma árvore de consenso de regra de maioria gerada com as 7.500 árvores restantes. As árvores foram visualizadas e editadas usando FigTree v.1.4 ([ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree](http://ztree.bio.ed.ac.uk/software/figtree)) e Adobe Illustrator v.25.4.1.

### 3.3 Teste de patogenicidade

Os isolados obtidos no presente estudo foram submetidos aos testes de patogenicidade em frutos e mudas de *G. humilis*. Os frutos foram higienizados com detergente e água corrente, desinfetados superficialmente em hipoclorito de sódio a 1% por 3 minutos e lavados em água destilada esterilizada (ADE). Após a secagem, o epicarpo de cada fruto foi perfurado na região central até a profundidade de 3mm, com auxílio de agulhas esterilizadas. Posteriormente, para cada isolado, 20µL de uma suspensão de conídios ajustada a  $1 \times 10^6$  conídios/mL, foi depositada na superfície dos ferimentos. O controle negativo consistiu em frutos inoculados com ADE.

Após a inoculação, os frutos foram acondicionados em bandejas forradas com papel toalha umedecido em ADE, cobertos com sacos plásticos, para manter a umidade relativa elevada, e mantidos por 48 horas a 27°C. Após esse período, a câmara úmida foi retirada e os frutos foram mantidos por até o sétimo dia a 27 °C. O experimento foi conduzido com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um fruto. Sete dias após a inoculação, a patogenicidade foi determinada ao observar presença ou ausência de sintomas.

As mudas utilizadas no teste de patogenicidade foram adquiridas em Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil. Inicialmente, as folhas foram higienizadas em água e, posteriormente, desinfestadas com hipoclorito de sódio 1% e lavadas com ADE. Após a secagem, a folha foi perfurada com auxílio de agulhas esterilizadas. A inoculação foi

realizada conforme descrito anteriormente. O controle negativo consistiu em folhas inoculados com ADE.

Após a inoculação, foram utilizados sacos plásticos para cobrir as mudas, onde permaneceram em câmara úmida por 72 horas, a 27 °C. A câmara úmida foi retirada e as mudas foram mantidas por até sete dias a 27 °C. O experimento foi conduzido com duas mudas, porém utilizado cinco repetições nas folhas por isolados, além do controle negativo. Sete dias após a inoculação, a patogenicidade foi determinada ao observar presença ou ausência de sintomas.

Para cumprir os postulados de Koch, os agentes causais foram re-isolados das lesões e comparados com os isolados originais utilizados no processo de inoculação.

### 3.3.1 Patogenicidade cruzada

Para a patogenicidade cruzada dos isolados de *Colletotrichum*, foram utilizados frutos sadios de bacupari mirim (*Garcinia brasiliensis*), obtidos em Rio Largo, Alagoas, no Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA/UFAL).

O material foi desinfestado conforme descrito anteriormente. Para as inoculações foram utilizadas 20µL de suspensão de conídios ( $1 \times 10^6$  conídios/ml), sobre os ferimentos em pontos equidistantes, com duas repetições para cada isolado. Como controle, foi utilizada água destilada esterilizada (ADE).

Posteriormente, os frutos foram acondicionados em bandejas forradas com papel toalha umedecido em ADE, cobertos com sacos plásticos, para manter a umidade relativa elevada, e mantidos por 48 horas a 27°C. Após esse período, a câmara úmida foi retirada e os frutos foram mantidos por até o sétimo dia a 27 °C. O experimento foi conduzido com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por um fruto. Sete dias após a inoculação, a patogenicidade foi determinada ao observar presença ou ausência de sintomas.

## 3.4 Caracterização morfocultural

A caracterização cultural consistiu na obtenção da taxa de crescimento micelial (IVMC) dos isolados. Um disco de meio BDA contendo o micélio do patógeno foi retirado da borda de colônias cultivadas por sete dias e, posteriormente, transferidos individualmente para o centro de novas placas de Petri contendo meio BDA sintético. O diâmetro das colônias (cm) foi avaliado diariamente tomado no reverso das placas, através da mensuração, em dois sentidos, dos diâmetros perpendiculares, com o auxílio

de um paquímetro digital. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada isolado, sendo cada repetição constituída por uma placa de Petri. Após sete dias, também foi observada a coloração das colônias no anverso e reverso de cada placa.

A caracterização morfológica baseou-se na avaliação da forma e tamanho de 50 conídios e apressórios. As medidas de comprimento e largura das estruturas foram obtidas por meio de imagens capturadas por câmera digital Olympus SC30 acoplada ao microscópio de luz (Olympus CKX41), utilizando o software *Cellsenses Standard*.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de dois isolados foi obtido a partir de frutos e folhas sintomáticos de achachairu, coletadas em Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil.

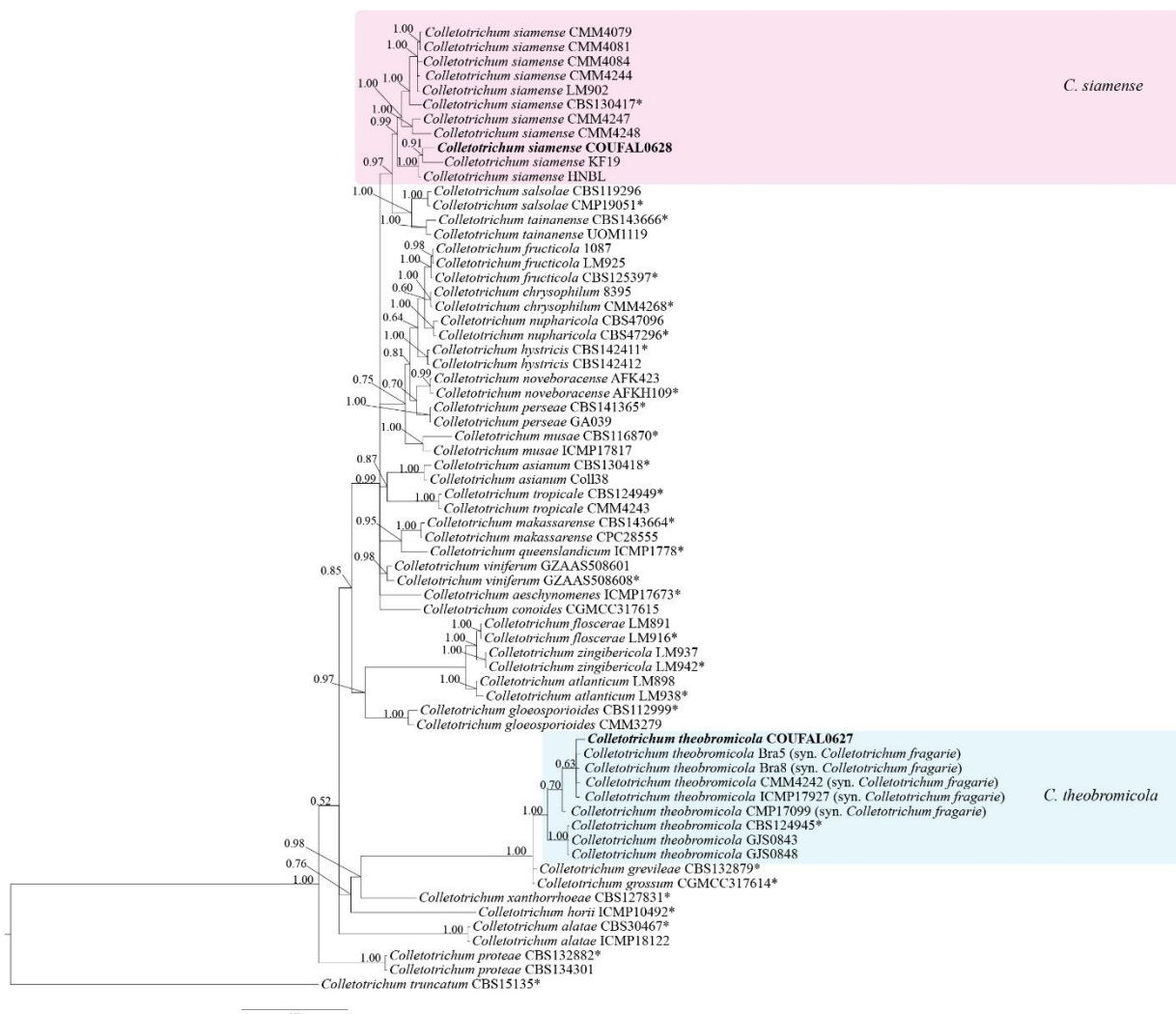
### 4.1 Análise filogenética

A análise filogenética dos isolados obtidos no presente estudo, amplificados com o gene *GAPDH*, mostrou a delimitação de espécies de *Colletotrichum* pertencentes a ao complexo *gloeosporioides*. Os dados concatenados com os genes *gapdh*, *apn2*, *tub2* e a região ApMAT mostraram que os isolados A1 (COUFAL0645) e A2 (COUFAL0646) agruparam-se em dois clados com as espécies *Colletotrichum theobromicola* e *Colletotrichum siamense*, com um nível de suporte de 1,00 e 0,99, respectivamente (Figura 1).

Este é o primeiro relato da associação de *C. siamense* e *C. theobromicola* à antracnose com frutos de achachairu no mundo. *C. siamense* foi originalmente descrita causando antracnose em grãos de café, na Tailândia (Prihastuti et al., 2009). No Brasil, o patógeno foi associado à antracnose em frutíferas (Capobianco et al., 2016; Soares et al., 2021; Batista et al., 2023), plantas ornamentais (Duarte et al., 2022; Rocha et al., 2024), hortaliças (Oliveira et al., 2017) e plantas espontâneas (Sousa et al., 2021).

Já a espécie *C. theobromicola* foi relatada pela primeira vez em frutos de cacauero no Panamá (Rojas et al., 2010). Este patógeno é encontrado predominantemente em regiões tropicais e subtropicais, com uma gama crescente de hospedeiros (Talhinhas; Baroncelli, 2021). No Brasil, a espécie foi associada à acerola (Bragança et al., 2014), romã (Silva-Cabral et al., 2020), atemoia (Santos et al., 2024), caju (Ramos et al., 2024), cambuci (Santos et al., 2017), cebola (Lopes et al., 2021) e mandioca (Oliveira et al., 2018).

**Figura 1.** Árvore filogenética Bayesiana de isolados de *Colletotrichum* spp. em *G. humilis*. A árvore foi construída usando sequências concatenadas dos genes *APN2*, *GAPDH*, *TUB2* e região ApMAT. Os valores de probabilidade posterior bayesiana são indicados acima dos nós. As sequências geradas neste estudo são destacadas em negrito. *Colletotrichum truncatum* foi usado como outgroup.



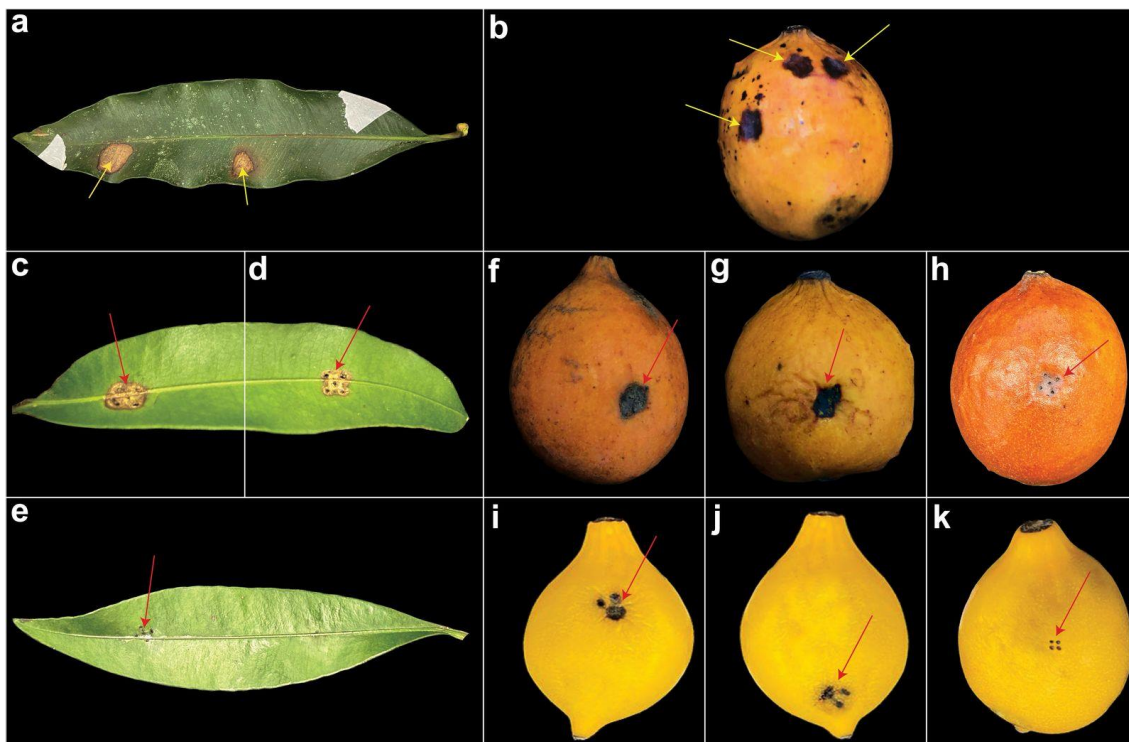
Fonte: (Autor, 2025)

## 4.2 Teste de Patogenicidade e patogenicidade cruzada

Todos os isolados foram patogênicos a frutos e mudas de *G. humilis* (Figura 2 c-h) e frutos de *Garcinia brasiliensis* (Figura 2 i-k), induzindo sintomas sete dias após a inoculação. Os isolados de *Colletotrichum* induziram lesões necróticas e deprimidas na superfície dos frutos e folhas com fermento (Figura 2). Nenhum sintoma foi observado nos tratamentos controle. Estes resultados demonstram a inespecificidade de espécies de *Colletotrichum* em relação ao hospedeiro. Esse comportamento evidencia a necessidade de uma exploração mais aprofundada da interação patógeno-hospedeiro, especialmente em relação ao gênero, uma vez que pode estar relacionado tanto a particularidades dos

isolados quanto aos frutos inoculados (níveis de suscetibilidade do hospedeiro e densidade do inóculo) (Lima et al., 2015; Yang et al., 2011).

**Figura 2.** Sintomas observados em folhas e frutos (lesões necróticas e deprimidas) de *Garcinia humilis* no campo (a, b). Teste de patogenicidade conduzido em folhas destacadas (c, d, e) e frutos (f, g, h) de *G. humilis* e frutos de *G. brasiliensis* (i, j, k). Fruto e folha assintomáticos (controle negativo) (e, h, k). Sintomas induzidos pelos isolados COUFAL0645 (c, f, i), COUFAL0646 (d, g, j).



Fonte: (Autor, 2025)

### 4.3 Caracterização morfológica e cultural

Os isolados das espécies de *Colletotrichum* apresentaram-se heterogêneos quanto a coloração (Figura 3 a, d). O isolado A1 (*C. theobromicola*), apresentou cor da colônia verde oliva no anverso e preto no reverso. Já o isolado A2 (*C. siamense*), apresentou uma coloração branco acinzentada no anverso e creme no reverso. A análise da coloração das colônias é um critério subjetivo e pode gerar diferentes interpretações, o que compromete a precisão dos resultados. Fatores como temperatura, luminosidade e o meio de cultura influenciam diretamente o aspecto e a estabilidade das colônias (Menezes, 2002). De acordo com Damm et al. (2012), a identificação de espécies do gênero *Colletotrichum* torna-se limitada quando baseada exclusivamente em

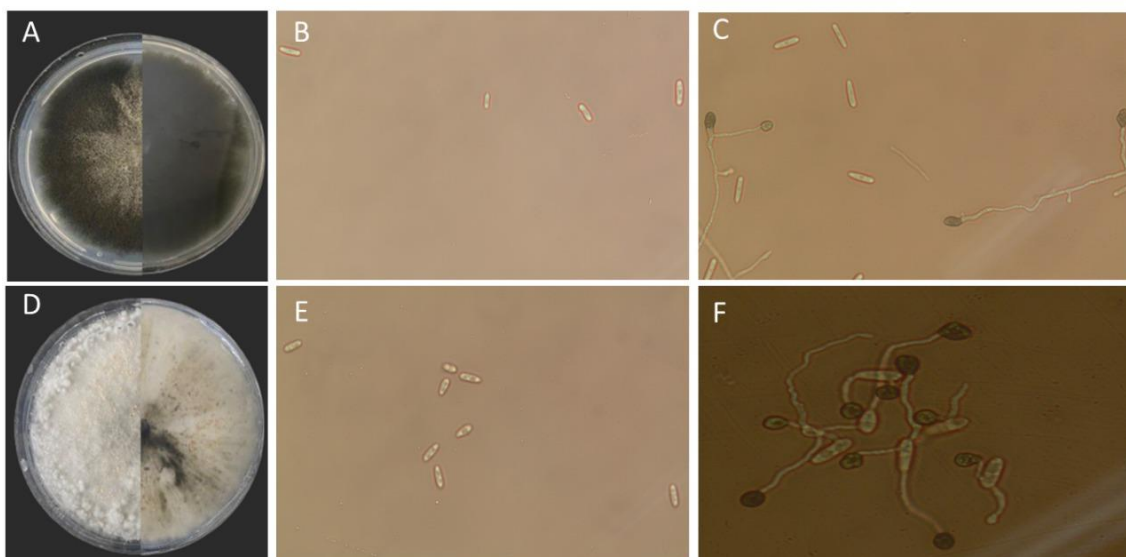
características morfoculturais, sendo necessário o uso de ferramentas complementares, como a análise molecular.

Foi observado, durante um período de sete dias, o crescimento dos isolados de *Colletotrichum*. O isolado A1 (*C. theobromicola*) teve uma média geral de crescimento de 8,03 mm, a qual foi menor que a média do isolado A2 (*C. siamense*), com 8,56 mm.

De um modo geral, os conídios foram hialinos, unicelulares, cilíndricos e alongados, com extremidades arredondadas (Figura 3 b, e). A espécie *C. theobromicola* apresentou conídios com comprimento variando de 9,63  $\mu\text{m}$  a 29,22  $\mu\text{m}$  e largura variando de 2,95  $\mu\text{m}$  a 8,92  $\mu\text{m}$  (n=50). *C. siamense* teve um comprimento que variou de 12,61  $\mu\text{m}$  a 21,50  $\mu\text{m}$  e largura variando de 4,32  $\mu\text{m}$  a 7,12  $\mu\text{m}$  (n=50).

Os apressórios apresentaram formatos irregulares, com coloração variável de marrom claro a marrom escuro (Figura 3 c, f). Após a medição das estruturas, observou-se que *C. theobromicola* apresentou comprimento variando entre 7,64  $\mu\text{m}$  e 14,56  $\mu\text{m}$ , e sua largura de 5,83  $\mu\text{m}$  a 9,76  $\mu\text{m}$  (n=50). *C. siamense* obteve um comprimento variando entre 8,60 e 22,20  $\mu\text{m}$  e sua largura de 5,36  $\mu\text{m}$  a 10,96  $\mu\text{m}$  (n=50).

**Figura 3.** Marcadores morfológicos dos isolados de *Colletotrichum* obtidos no presente estudo. Isolados COUFAL0645 (a-c), COUFAL0646 (d-f). Características da colônia (a, d), conídios (b, e) e apressórios (c, f).



Fonte: (Autor, 2025)

O conhecimento da morfologia de conídios e apressórios são dados relevantes para a caracterização de espécies de *Colletotrichum*. Os apressórios desempenham uma importante função no processo de colonização do hospedeiro, realizando a penetração do patógeno nos tecidos dos hospedeiros, no entanto, não pode ser considerada como o único parâmetro na identificação. O patógeno pode sofrer influências externas, como o ambiente e, com isso, apresentar plasticidade fenotípica. Portanto, é necessária a utilização de técnicas moleculares associadas à caracterização morfológica e cultural (Kamei, et. al., 2014).

O presente estudo demonstrou o grande potencial de *Colletotrichum* spp. causarem antracnose em achachairu. No entanto, estudos adicionais, como a ampliação da área de amostragem, são necessários para revelar a verdadeira diversidade de espécies associadas à cultura. A correta identificação de *Colletotrichum* spp., com a aplicação de estudos filogenéticos, contribui para o desenvolvimento de estratégias de controle mais efetivas no campo.

## 5. CONCLUSÕES

- As espécies *Colletotrichum theobromicola* e *Colletotrichum siamense* estão associadas à antracnose em frutos de *Garcinia humilis* no estado de Pernambuco;
- Este é o primeiro relato de *C. siamense* e *C. theobromicola* em achachairu no mundo.

## REFERÊNCIAS

- BAILEY, J. A. et al. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford: CAB International, 1992. p. 88-120.
- BARBOSA, W. *A fruta achachairú*. 2007. Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2007\\_1/achachairu/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/achachairu/index.htm). Acesso em: 18 dez. 2021.
- BARBOSA, W.; ARTIOLI, F. A. Germinação de sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de achachairu. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 30, n. 1, p. 263-266, 2008.
- BATISTA, D. D. C. et al. First report of *Colletotrichum siamense* causing grape ripe rot in Brazil. *Plant Disease*, v. 107, n. 9, p. 2881, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-22-2589-PDN>.
- BRAGANÇA, C. A. D. et al. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum theobromicola* on Barbados cherry (*Malpighia emarginata*) in Brazil. *Plant Disease*, v. 98, n. 9, p. 1272, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-14-0099-PDN>.
- CANNON, P. F. et al. *Colletotrichum*: current status and future directions. *Studies in Mycology*, v. 73, p. 181-213, 2012.
- CAPOBIANGO, N. P. et al. Anthracnose on strawberry fruits caused by *Colletotrichum siamense* in Brazil. *Plant Disease*, v. 100, n. 4, p. 859, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-15-1121-PDN>.
- CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile distilled water. Further researches. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 70, n. 8, p. 181+, 1967.
- DEAN, R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, v. 13, p. 414–430, 2012.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, v. 19, p. 11-15, 1987.
- DUARTE, I. G. et al. *Colletotrichum siamense* causing anthracnose on *Etlingera elatior*. *Crop Protection*, v. 162, p. 106092, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.106092>.
- DUARTE, O.; PAULL, R.; MORTON, J. F. *Fruits of warm climates*. Miami: Creative Resource Systems, Inc., 2014.
- FRAC – Fungicide Resistance Action Committee. 2015. Disponível em: <http://www.frac.info/home>. Acesso em: 10 jul. 2021.

GLASS, N.; DONALDSON, G. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, p. 1323-1330, 1995.

HYDE, K. D. et al. *Colletotrichum* – names in current use. *Fungal Diversity*, v. 39, p. 147-183, 2009.

IKEDA, M. et al. Bibliometric review of achachairu (*Garcinia humilis*): a promising agent for health and future food applications. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 25, p. e2022060, 2022.

INSTITUTO BOLIVIANO DE COMÉRCIO EXTERIOR – IBCE. *Perfil de mercado: Copoazú y Achachairú*. 2010. Disponível em: <http://www.ibce.org.bo>. Acesso em: 16 dez. 2021.

JANICK, J.; PAULL, R. E. *Rheedia laterifolia* – Achachairú. In: JANICK, J.; PAULL, R. E. (Eds.). *The Encyclopedia of Fruit & Nuts*. Cambridge: CABI, 2008. p. 272-273.

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics*, v. 20, n. 4, p. 1160-1166, 2019.

LIAO, C. Y. et al. Characterization of three *Colletotrichum acutatum* isolates from *Capsicum* spp. *European Journal of Plant Pathology*, v. 133, p. 599-608, 2012.

LIMA, N. B. et al. Comparative epidemiology of *Colletotrichum* species from mango in northeastern Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, v. 141, n. 4, p. 679-688, apr. 2015.

LOPES, L. H. R. et al. Diversity of *Colletotrichum* species causing onion anthracnose in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 159, 339-357, 2021.

LORENZI, H.; LACERDA, M. *Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)*. São Paulo: Instituto Plantarum, 2006.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 27, p. 23-24, 2002.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, New Orleans, LA, USA, 2010. 8 p.

NUNES, J. S. *Propagación del achachairú (Rheedia achachairu Rusby) por estacas*. 2004. Monografía – Carrera de Ciencia y Producción Agropecuária, Zamorano.

OLIVEIRA, C. V. S. et al. Identification of *Colletotrichum* isolates from *Capsicum chinense* in Amazon. *Genetics and Molecular Research*, v. 16, n. 2, 2017. DOI: <https://doi.org/10.4238/gmr16-029601>.

OLIVEIRA, S. A. S. et al. First report of *Colletotrichum theobromicola* and *C. siamense* causing anthracnose on cultivated and wild cassava species in Brazil. *Plant Disease*, v. 102, n. 4, p. 819, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1502-PDN>.

PERFECT, S. E. et al. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. *Fungal Genetics and Biology*, v. 27, p. 186-198, 1999.

POSADA, D.; BUCKLEY, T. R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*, v. 53, p. 793-808, 2004.

PRUSKY, D.; PLUMBLEY, R. A. Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford: CAB International, 1992. p. 289-307.

RAMOS, D. G. B. et al. Endophytic species of *Colletotrichum* associated with cashew tree in northeastern Brazil. *Fungal Biology*, 128(3), 1780-1789, 2024.

RANNALA, B.; YANG, Z. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. *Journal of Molecular Evolution*, v. 43, p. 304-311, 1996.

ROJAS, E. I. et al. *Colletotrichum gloeosporioides* s.l. associated with *Theobroma cacao* and other plants in Panamá: multilocus phylogenies distinguish host-associated pathogens from asymptomatic endophytes. *Mycologia*, v. 102, n. 6, p. 1318-1338, 2010.

RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, v. 61, n. 3, p. 539-542, 2012.

SANCHEZ, F. W. et al. Achachairú (*Garcinia humilis*) Fruit Trees: Botany and Commercial Cultivation in South Florida: HS1480, 3/2024. EDIS, v. 2024, n. 2, 2024.

SANTOS, J. M. C. et al. *Colletotrichum* species associated with ate moya anthracnose in northeast Brazil. *Comunicata Scientiae*, v. 15, e4111, 2024. DOI: <https://doi.org/10.14295/cs.v15.4111>.

SANTOS, R. F. et al. First report of *Colletotrichum theobromicola* causing anthracnose leaf and twig spot in Cambuci (*Campomanesia phaea*) in Brazil. *Plant Disease*, v. 101, n. 3, p. 506, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-16-1196-PDN>.

SANDRA, T. M. et al. Evaluation of the potential of achachairu peel (*Garcinia humilis*) for the fortification of cereal-based foods. *The Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.13818>.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S. Caracterização morfofisiológica de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* agentes de antracnose em frutíferas no Maranhão. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 30, p. 475-480, 2004.

SILVA, C.; FONSECA, E.; MOREIRA, M. *Acultura da mangueira*. Documento. Universidade Federal de Lavras, 2002. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/upload/boletim/extensao-tmp/boletim-extensao-024.pdf>. Acesso em: 2013.

SOARES, M. G. *Colletotrichum siamense* is the main aetiological agent of anthracnose of avocado in south-eastern Brazil. *Plant Pathology*, v. 70, n. 1, p. 154-166, 2021.

SOPRANO, E.; KOLLER, O. L. Avaliação de frutos de espécies frutíferas tropicais com potencial para cultivo em Santa Catarina. In: *XX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 53rd Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture*, Vitória: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2008.

SOUSA, E.S. et al. First report of anthracnose on *Spigelia anthelmia* caused by *Colletotrichum karstii* and *Colletotrichum siamense* in Brazil. *J. Plant. Dis. Prot.* 128, 875–880, 2021.

SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford: CAB International, 1992. p. 1-26.

TALHINHAS, P.; BARONCELLI, R. *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. *Fungal Diversity*, v. 110, p. 109-198, 2021.

TEMPLETON, M. D. et al. Cloning and molecular characterization of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene and cDNA from the plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. *Gene*, v. 122, n. 1, p. 225-230, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(92\)90055-T](https://doi.org/10.1016/0378-1119(92)90055-T).

VON ARX, J. A. Revision der zu *Gloeosporium* gestellten Pilze. *Verhandelingen der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, Tweede Sectie, v. 51, n. 3, p. 1-153, 1957. YANG, Y. L. et al. *Colletotrichum* species on Orchidaceae in southwest China. *Cryptogamie, Mycologie*, v. 32, p. 229-253, 2011.